

Александров В.В.¹, Фомина М.А.², Назирова Э.Р.³, Тушакова Н.Ш.⁴

¹кандидат биологических наук; ²старший научный сотрудник; ³младший научный сотрудник; ⁴аспирант лаборатории радиационной биохимии и цитологии Института биохимии АН РУз, Ташкент

РАСШИРЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТЕЙ СОВРЕМЕННЫХ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ АНАЛИЗАТОРОВ: АНАЛИЗ ГИСТОГРАММ

Аннотация

Рассмотрены принципы работы современных автоматических гематологических анализаторов и подходы к получению дополнительной информации из гистограмм распределения клеток по объёму. Для работы с XML-файлами данных анализатора «Abacus Junior», Австрия, разработана программа ABC - «Analyse Blood Cells», которая по алгоритму, основанному на предположении о нормальном (гауссовом) распределении клеток по объёму, с заданной степенью точности в автоматическом или ручном режиме раскладывает изучаемую гистограмму на составляющие. Работа программы показана на примере восстановления уровня гемоглобина при лечении анемии пептидным препаратом Тортезин из крови черепахи. Делается вывод, что математическое разделение интегральных гистограмм на субпопуляции даёт важную дополнительную информацию для врачей и исследователей.

Ключевые слова: гематологический анализатор, Abacus Junior, гистограмма, анемия, тортезин. haematological analyser, Abacus Junior, histogram, anaemia, tortezin.

За последние годы созданы высокотехнологические системы анализа крови, которые вытесняют ручные и полуавтоматические методы исследования. Преимуществами автоматического анализа крови являются: высокая производительность, небольшой объем крови, оценка более 20 показателей (вместо 10-12 при обычном анализе крови), графическое представление распределения клеток (гистограммы, скетограммы), а главное - высокая точность исследования, так как подсчету подвергаются несколько десятков и даже сотен тысяч клеток одной пробы [1-3].

Работа гематологических анализаторов, основанная на кондуктометрическом методе, позволяет подсчитать количество клеток и охарактеризовать объем каждой клетки. В современных анализаторах этот метод сочетается с использованием других методов, что позволяет оценивать до 30 параметров крови, включая практически полный анализ лейкоцитарной формулы и подсчет ретикулоцитов.

Эритроцитарные индексы (MCV, MCH, MCHC) характеризуют сами клетки, а не их количество, вследствие чего являются достаточно стабильными параметрами. Измерение MCV - среднего объема эритроцита в кубических микрометрах (мкм³) или фемтолитрах (фл), - проводится одновременно с подсчетом эритроцитов по амплитуде импульсов, возникающих при прохождении клетки через апертуру, а обобщенные результаты отражаются в виде гистограммы распределения эритроцитов по их объему. В равной степени это относится к лейкоцитарной и тромбоцитарной гистограммам.

Существующая практика анализа гистограмм состоит в их визуальном изучении, и фактически исключает количественную оценку, т.е. не затрагивает вклад отдельных популяций в общую картину. Так, в работе [4] рассматривается диагностическая значимость показателя анизоцитоза эритроцитов RDW для мониторинга железодефицитной анемии (ЖДА), и приводятся многочисленные примеры. Цитируем: «За счет появления в крови популяции нормальных и молодых форм (полихромафилов) RDW продолжает возрастать, основание эритроцитарной гистограммы сдвигается вправо, а сама кривая имеет два пика, один из которых располагается в области

микроэритроцитов, а другой – в зоне макроэритроцитов. Постепенно пики на эритроцитарной гистограмме стираются, основание ее сужается и гистограмма принимает нормальную форму. Динамика восстановления показателей крови при ЖДА проиллюстрирована на рис. А-В.» (рис.1).

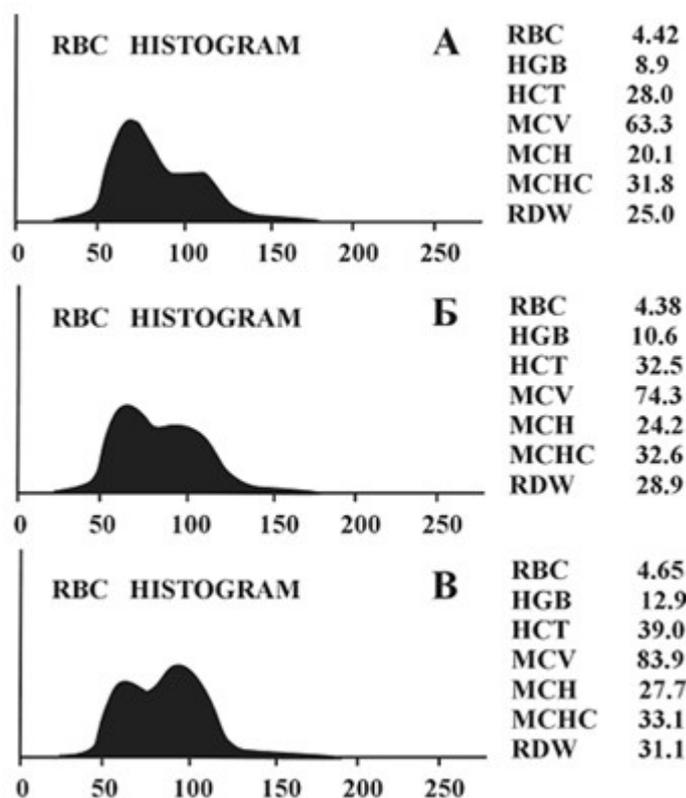


Рис. 1. Динамика показателей красной крови у больной железодефицитной анемией в процессе лечения [4].

Нельзя ли извлечь из гистограмм дополнительную информацию и количественно оценить вклад разных субпопуляций эритроцитов в «общий профиль», т.е. провести расслоение (стратификацию) данных? Это вполне возможно. Так, можно измерить высоту пиков непосредственно на гистограмме и таким образом приблизительно оценить их соотношение [5]. Однако этот способ не является универсальным, и для близко расположенных пиков явно непригоден.

Можно также отсканировать гистограмму, поместить рисунок в специальную программу, которая преобразует график в функцию, разложит функцию на составляющие и произведет необходимые вычисления. Такой подход требует углубленного знания математических методов, и для врачей-клиницистов имеет ограниченное применение.

Мы использовали следующий подход. Огромная исходная матрица данных, содержащая по каждому образцу сотни тысяч и даже миллионы значений, существует в памяти анализатора короткое время до завершения текущего анализа. Затем она обрабатывается и стирается, а небольшой файл данных с результатами обработки сохраняется в памяти неопределенно долго [6]. Описание гистограммы также находится в этом файле. Для имеющегося у нас гематологического анализатора «Abacus Junior», Австрия, эти XML-файлы данных создает программа DiaLab, v.1.3, входящая в комплект поставки [7].

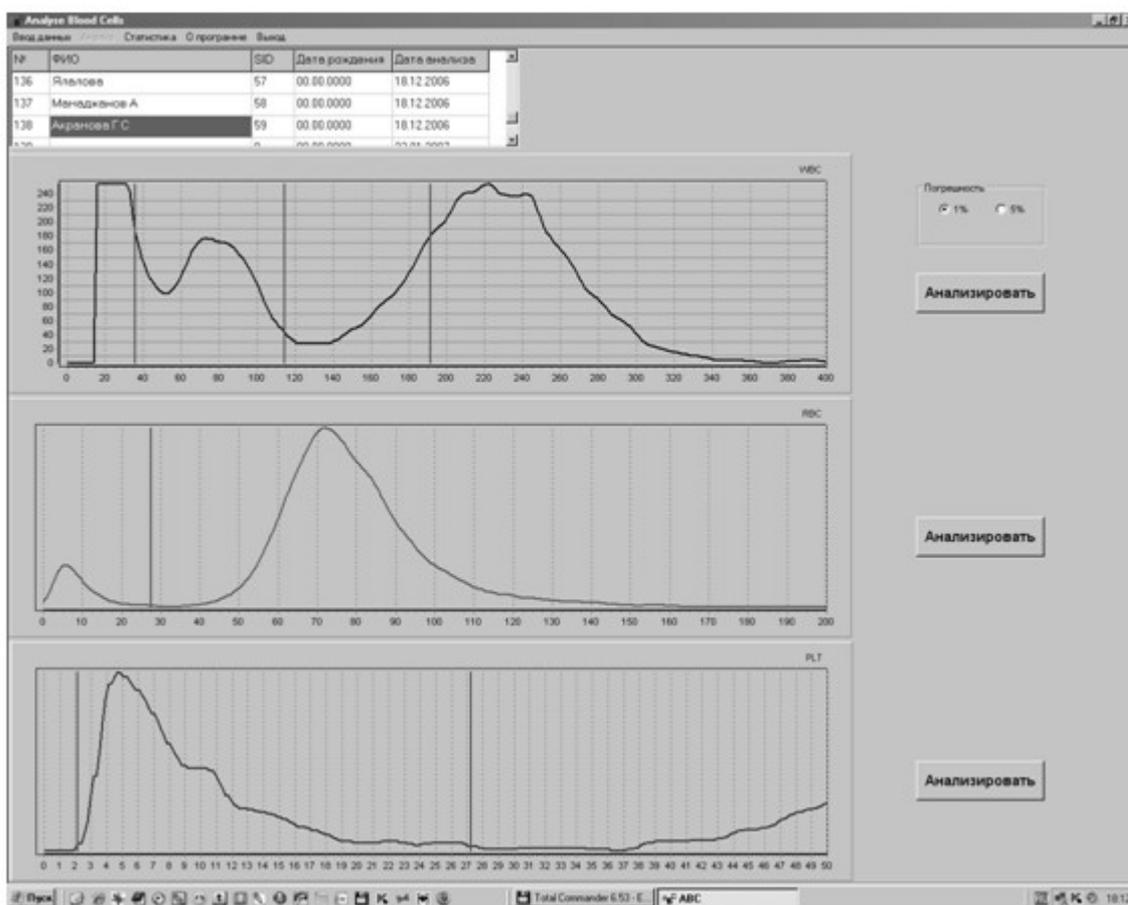


Рис. 2. Скриншот окна программы ABC.

Мы разработали программу ABC («Analyze Blood Cells», v.1.14), которая самостоятельно находит в .XML-файле «описание» эритро-, лейко- и тромбоцитарной гистограммы (рис.2). По алгоритму, основанному на предположении о нормальном (гауссовом) распределении клеток по объему, программа ABC с заданной степенью точности в автоматическом или ручном режиме раскладывает изучаемую гистограмму на составляющие. Результаты выводятся на экран в табличном и графическом виде. При желании любую из этих составляющих или их комбинацию можно представить «в цвете».

Поскольку нашей целью было исследование уровня гемоглобина при лечении анемии, анализ лейко- и тромбоцитарных гистограмм в настоящей работе не рассматривается. К этим гистограммам в целом также применим данный метод, с учетом того, что тромбоциты подчиняются распределению Пуансона и рассчитываются по соответствующей формуле.

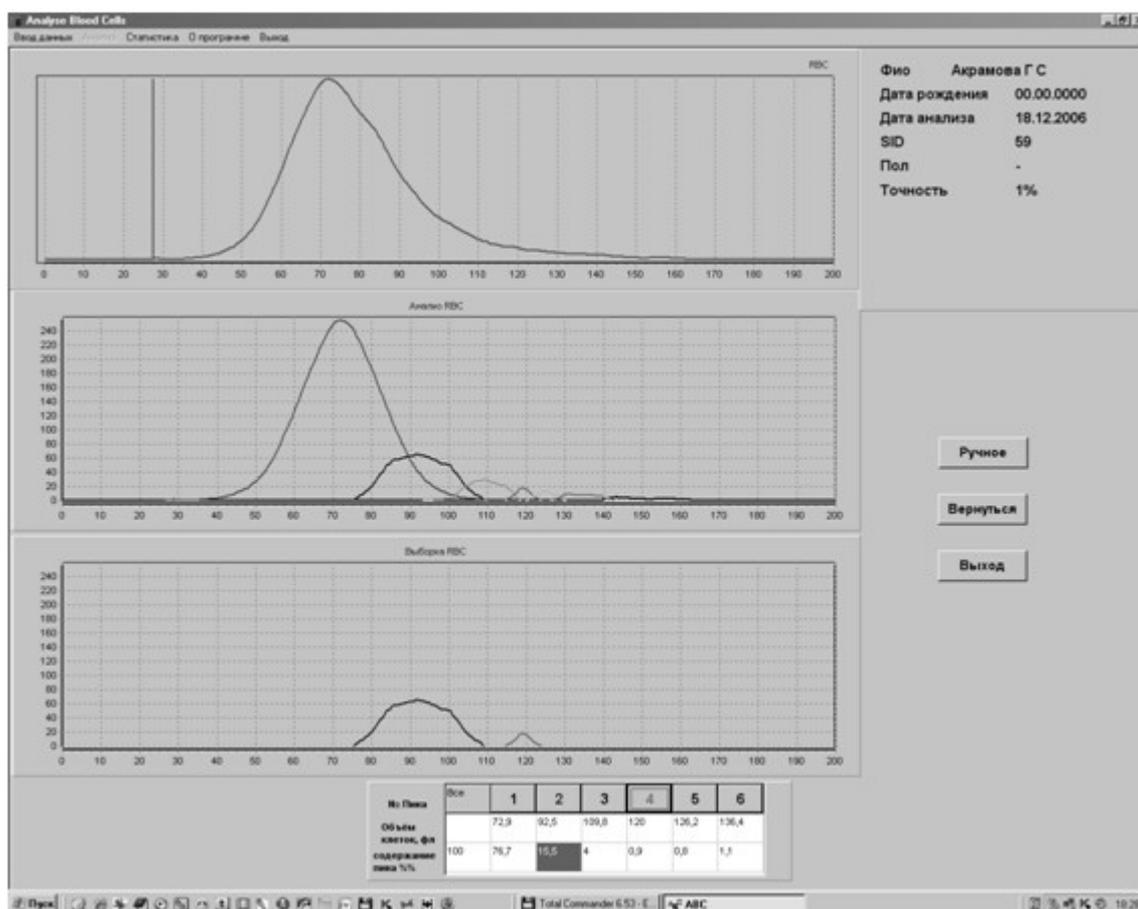


Рис. 3. Пример разложения гистограммы эритроцитов программой ABC: сверху – общая гистограмма; в центре – разложение на субпопуляции; внизу – выделены 2-я и 4-я субпопуляции.

Мы изучали влияние разработанного в Узбекистане полифункционального пептидного препарата Тортезин из крови черепахи на динамику восстановления уровня гемоглобина добровольцев при лечении анемии [8].

Таблица 1 и рис. 4 иллюстрируют влияние Тортезина на гемопоэз добровольцев, получивших препарат. Как видно из гистограмм, до инъекции в крови этого пациента присутствовали 2 типа эритроцитов. Средний объём эритроцитов составлял 63 фл. Через 1 месяц после инъекции средний объём вырос до 69 фл, а через 2 месяца – до 76 фл за счет появления молодых форм эритроцитов. Это хорошо видно на интегральных гистограммах рис.4, 1-й столбец. Общее количество эритроцитов, уровень гемоглобина и количество гемоглобина в одном эритроците также возросли.

↓ Гистограмма распределения эритроцитов по объёму до эксперимента: ↓

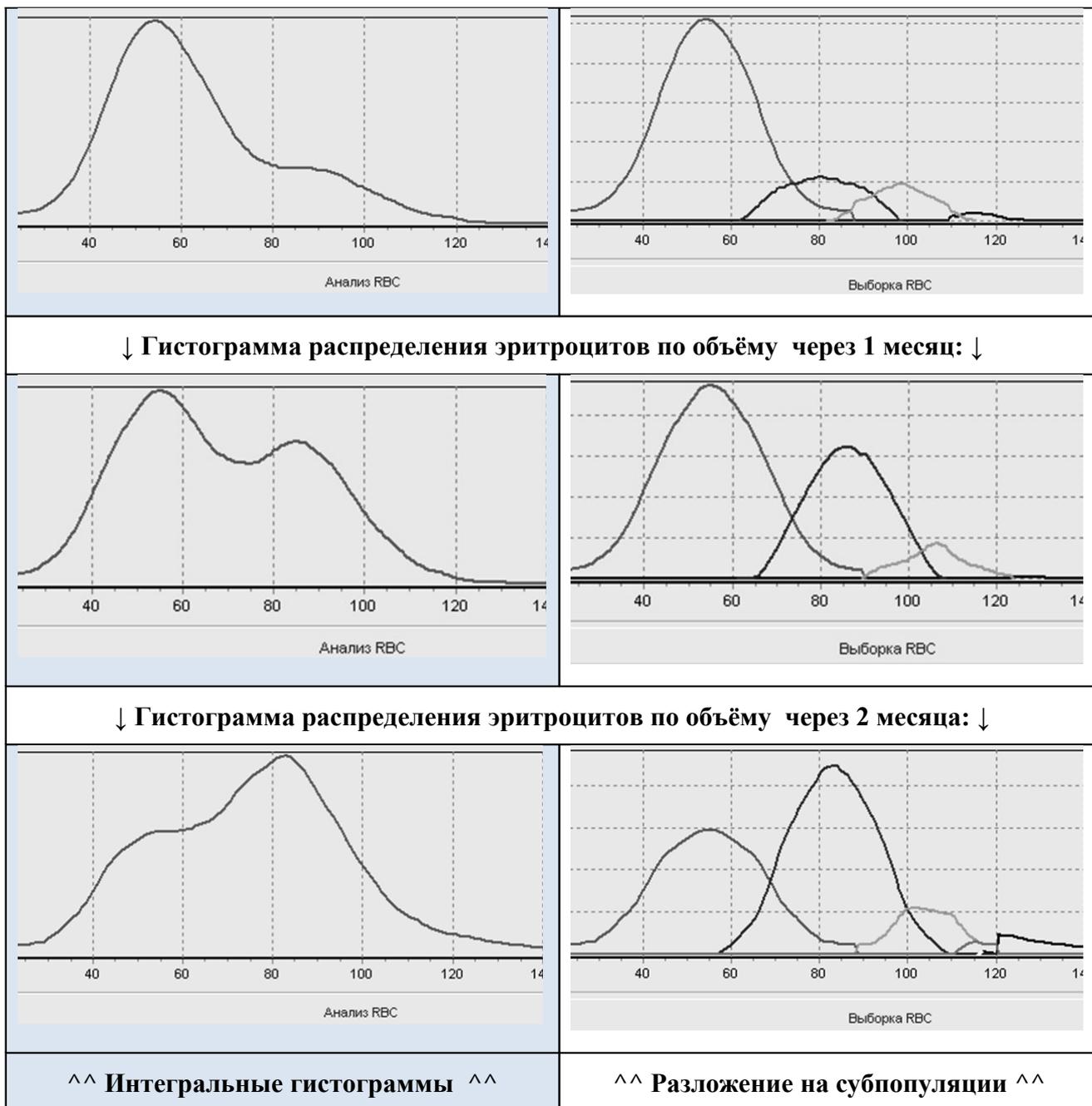


Рис.4. Гистограммы распределения эритроцитов одного из пациентов при лечении анемии Тортезином

До лечения популяция эритроцитов состояла из клеток двух типов – объёмом 56 и 86 фл; после лечения клеток новых типов не появилось, но изменилось соотношение между ними. Доля старых клеток снизилась с 75% до 40%; доля молодых возросла с 14% до 47% к концу второго месяца (две нижние строки в табл.1). Эту ценную информацию можно получить только расчетным способом, с помощью программы ABC.

Таблица 1.

Некоторые показатели крови до и после применения Тортезина.

Показатели	До эксперимента	Через 1 месяц	Через 2 месяца
------------	-----------------	---------------	----------------

Гемоглобин	83	114	115
Эритроциты, млн/мкл	4,43	5,29	5,20
Гемоглобина в 1 эритроците, пг	18,7	21,5	22,2
Средний объём эритроцита, фл	63	69	76
Клетки объёмом 56 фл, %	75,7	61,4	39,7
Клетки объёмом 86 фл, %	14,1	32,5	47,4

Таким образом, применение дополнительных расчетных методов к уже имеющимся данным позволяет расширить возможности современных гематологических анализаторов автоматического типа и получить ценную дополнительную информацию об относительном содержании клеточных субпопуляций. В нашем случае это помогло по каждому пациенту в динамике оценить эффективность лечения.

Метод не требует переделки анализатора или его программного обеспечения. Мы считаем, что подобное математическое разделение суммарных, интегральных гистограмм на субпопуляции полезно, даёт важную дополнительную информацию для исследователей и врачей, и в принципе может иметь коммерческое применение.

Литература

1. Гематологические анализаторы. Интерпретация анализа крови. Методические рекомендации. - Москва, 2007. 36 с.
2. Пуговская С.А. - Что могут гематологические анализаторы.- <http://www.clinlab.ru/win/LIBRARY/JOURNLAB/lab5/j5ct2.htm>
3. Козинец Г.И., Погорелов В.М., Шмаров Д.А. и др. - Клетки крови - современные технологии их анализа. – Москва - "Триада-Фарм", 2002, с. 4-27.
4. Куриляк О.А. - Клиническая интерпретация некоторых показателей гематологических анализаторов. - Из архива газеты "Новости А/О Юнимед" - <http://www.unimedao.ru/articles/6826/9671/item/90>
5. Антонов В.С., Богомолова Н.В., Волков А.С. - Автоматизация гематологического анализа. Интерпретация показателей гемограммы. - Саратов - Изд-во Саратов. мед. ун-та - 2008 - 194 с.
6. Wang F., Morikawa T., Biwa S. et all. - Monitoring Hematopoietic Stem and Progenitor Cells with SYSMEX Automated Haematology Analysers. -Labor. Hematology – 2002 - v. 8 - p. 119-125.
7. Guide to using DiatronLab with Abacus. – <http://www.diatronltd.com>
8. Пулатов Д.А., Ж.Н.Каххаров, Н.Б.Равшанова, К.А.Саидова, Н.Ш.Тушакова, Э.Р.Назирова, М.А.Фомина, В.В.Александров. - Исследование клинической эффективности и переносимости Тортезина при полихимиотерапии и лучевой терапии у больных с неходжкинскими лимфомами и опухолями малого таза. // Медицинский журнал Узбекистана – 2010 - № 2 - С. 16-19.