

**Некоторые аспекты
лабораторной диагностики
анемии**

Железодефицитные состояния

- По данным ВОЗ
дефицит железа - 1,8 млрд.
латентный дефицит железа - 3,6 млрд.
железодефицит у беременных 80–90 %
- По данным МЗ РФ, частота ЖДА увеличилась за последние 10 лет более чем в 6 раз
- Среди школьников дефицит железа обнаружен у 17,5% и у до 30–60% у детей раннего возраста

Раннее обнаружение дефицита железа, для предупреждения системных осложнений ЖДА, идентификация манифестной ЖДА

Основные причины ЖДА

1. Связанные с патологией желудочно-кишечного тракта:
кровотечение, эзофагит, варикоз вен пищевода, грыжа пищеводного отверстия диафрагмы, пептические язвы, воспалительные заболевания кишечника, геморрой, карцинома желудка или прямой кишки, геморрагическая наследственная ангиодисплазия
мальабсорбция: целиакия, атрофический гастрит
2. Физиологические: бурный рост, беременность
3. Обусловленные диетой: вегетарианство, старческий возраст
4. Связанные с патологией мочеполовой системы: маточные кровотечения, гематурия

Клинические проявления ЖДА

- **АНЕМИЧЕСКИЙ СИНДРОМ**
 - **ДЕФИЦИТ ГЕМОГЛОБИНА**
- **СИДЕРОПЕНИЧЕСКИЙ СИНДРОМ (ГИПОСИДЕРОЗ)**
 - **ДЕФИЦИТ ЖЕЛЕЗА**

Потери железа при беременности

- Железо для ребенка 500 мг
- 9 месяц беременности 300 мг
- Железо в крови плаценты 200 мг
- Железо в молоке 400 мг

- Итого 1400 мг

- 1,5-2 года на восстановление потери железа

Осложнения беременности, вызванные железодефицитной анемией:

- Во время беременности:
 - гестоз 40-50%
 - преждевременные роды 11-42%
 - слабость родовой деятельности 10-15%
 - токсикоз 92%
- В послеродовой период:
 - гнойно-септические заболевания 12%
 - гипогалактия 38%

Диагностические критерии анемии

- У мужчин:
- число эритроцитов $< 4,0$ млн/мкл,
- НЬ < 130 г/л,
- Ht $< 40\%$;

У женщин:

- число эритроцитов $< 3,8$ млн/мкл,
- НЬ < 120 г/л,
- Ht $< 36\%$.

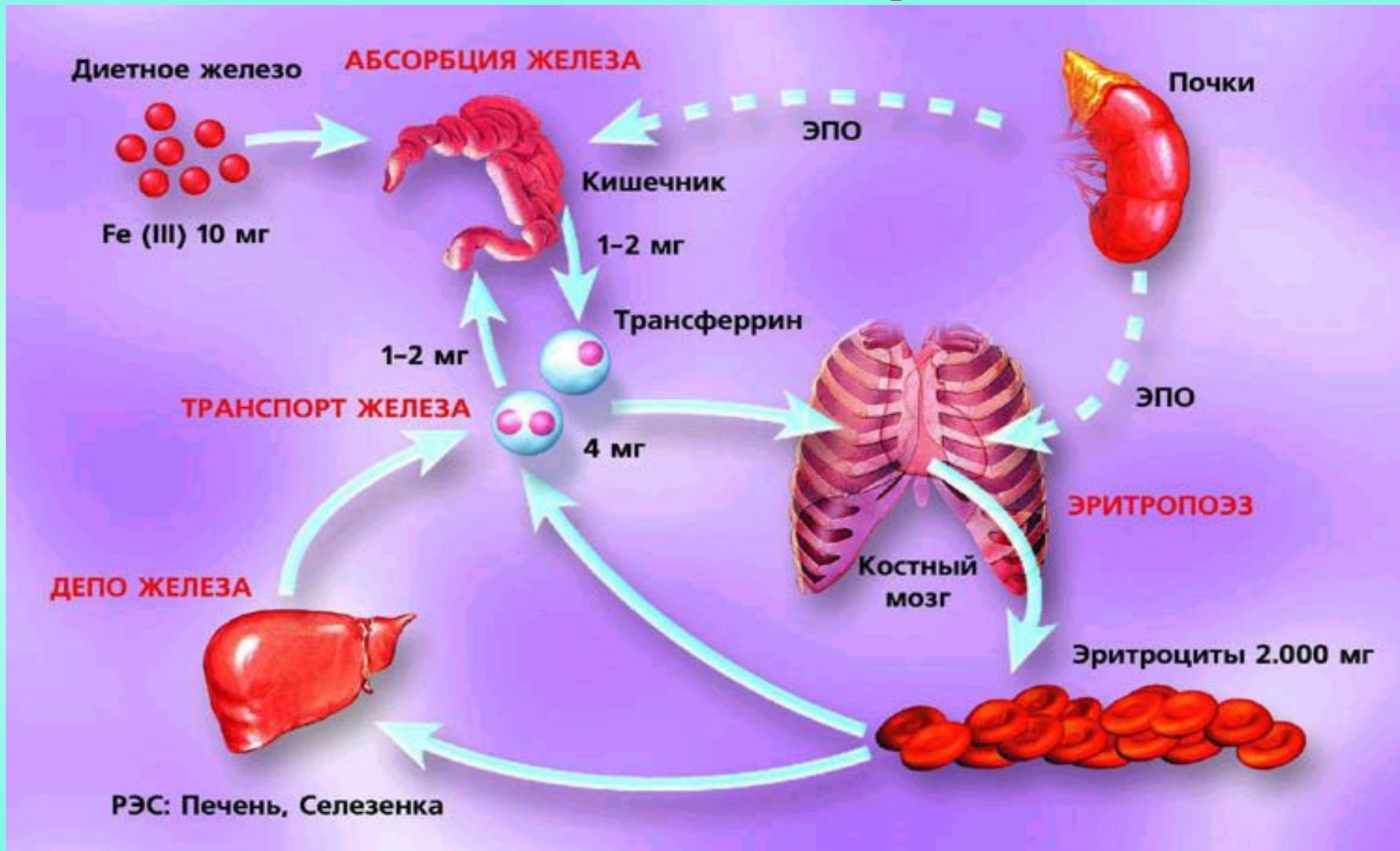
КОНЦЕНТРАЦИЯ ЖЕЛЕЗА В СЫВОРОТКЕ

Сывороточное железо в норме	М	9 - 32 мкмоль/л
	Ж	7,5 - 26 мкмоль/л

**Концентрация железа (мкмоль/л)
в сыворотке крови здоровых доноров при
ежедневном определении ($CV_i = 26.6$, $CV_g = 23.3$)**

Дата	Донор №1	Донор №2	Донор №3	Донор №4
1	8	19	11	10
2	18	9	16	25
3	14	23	23	15
4	22	17	19	20
5	10	20	27	14
6	16	27	21	18

Обмен железа в организме



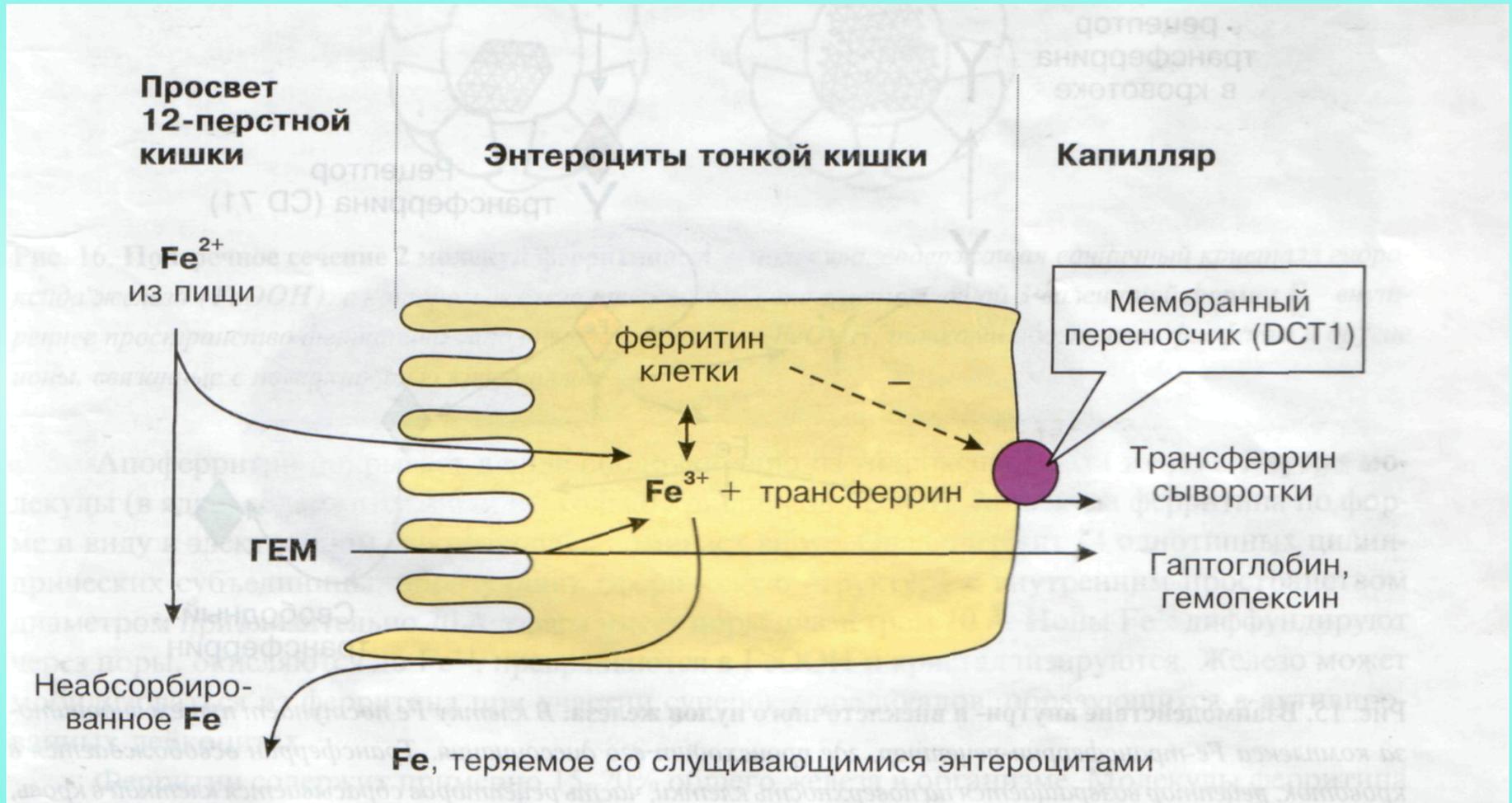
ЖЕЛЕЗО В ОРГАНИЗМЕ

Мужчины	4 - 5 г
Женщины	3,5 - 5 г

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЖЕЛЕЗА

- Гемоглобин **60 - 65%**
- Функциональное железо (железосодержащие ферменты, миоглобин) **11 - 14%**
- Депонированное железо (ферритин, гемосидерин) **25 - 30%**
- Сывороточное железо (связанное с трансферрином) **0,1- 0,2%**

Всасывание железа



ТРАНСПОРТ ЖЕЛЕЗА

ТРАНСФЕРРИН

СТРУКТУРА и ЛОКАЛИЗАЦИЯ

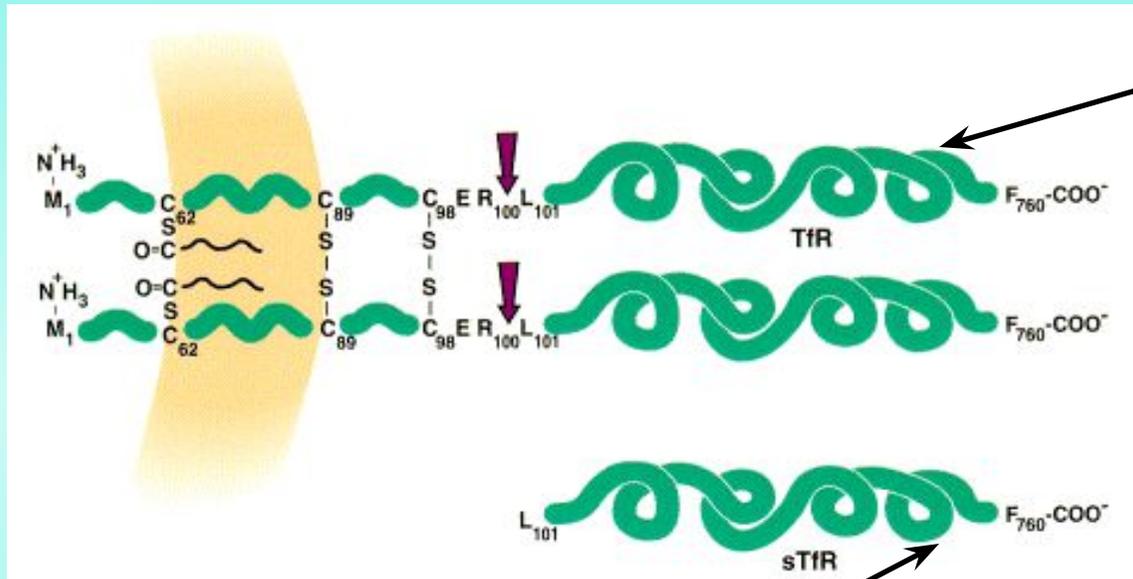
- Гликопротеин
- Синтезируется в печени
- Каждая молекула ТФ связывает 2 атома железа Fe^{3+}

ФУНКЦИЯ

Главный плазменный белок – переносчик железа

- Основной донор железа для продукции гемоглобина
- 1 мг ТФ связывает 1,25 мкг железа
- В физиологических условиях ТФ насыщен железом примерно на 30%

РЕЦЕПТОР ТРАНСФЕРРИНА И РАСТВОРИМЫЙ РЕЦЕПТОР ТРАНСФЕРРИНА

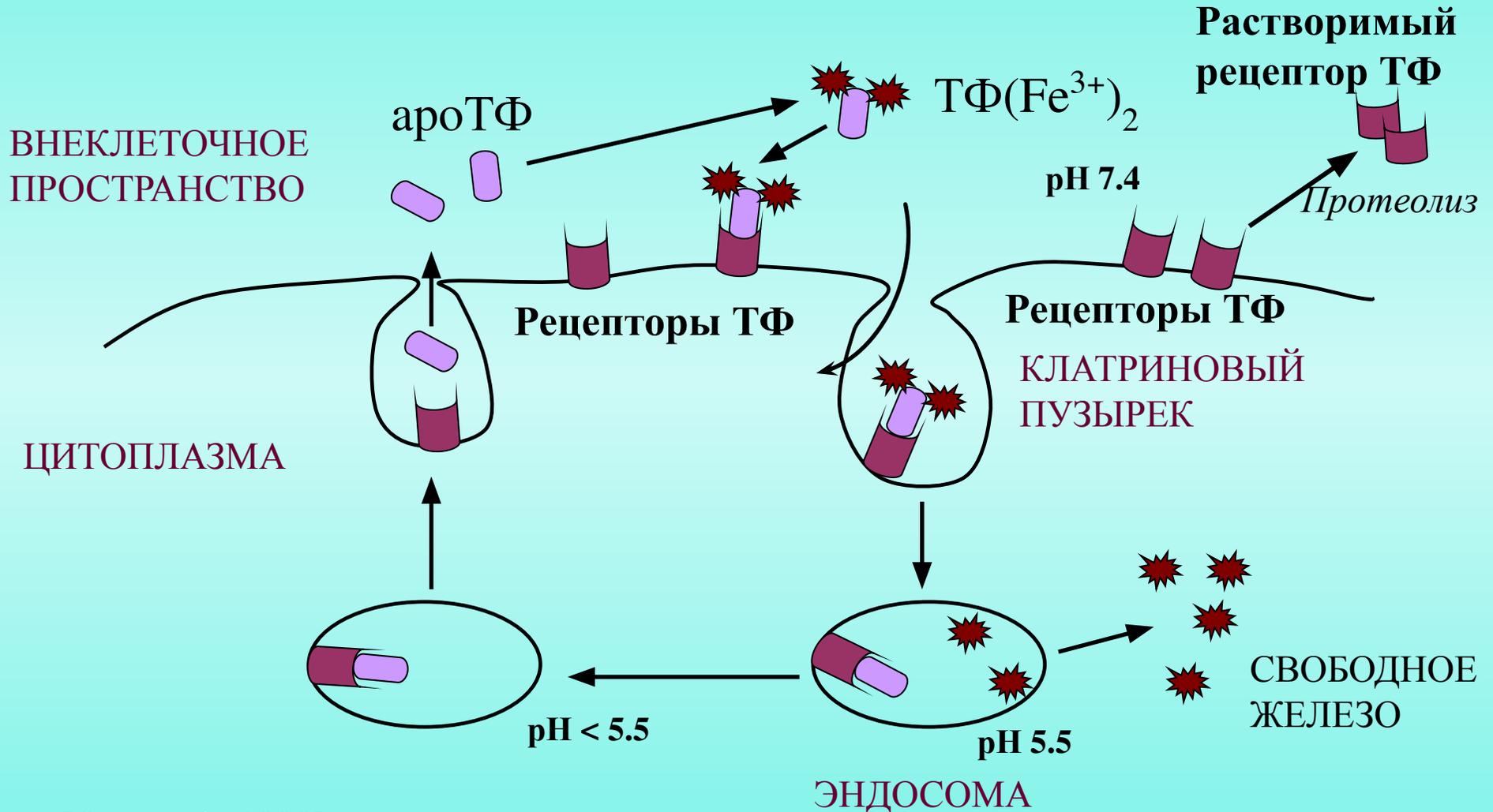


Рецептор ТФ
Трансмембранный белок
с молекулярной массой
95 кДа

80% рецепторов ТФ
находится на
эритроидных клетках

Растворимый рецептор ТФ – укороченная форма рецептора ТФ
Стабильный полипептид длиной 100 АК

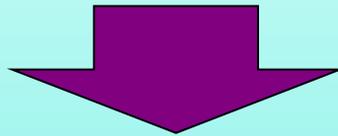
ЦИКЛ ТРАНСФЕРРИНА



[Cox et al., 1990]

РАСТВОРИМЫЙ РЕЦЕПТОР ТРАНСФЕРРИНА: БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

- Количество рецепторов ТФ на поверхности клеток зависит от концентрации железа в цитоплазме, т.е. от потребностей клетки в железе.
- Количество растворимого рецептора ТФ в сыворотке пропорционально количеству рецептора ТФ на поверхности клеток и отражает количество эритроидных клеток (уровень эритропоэза)



**При недостатке железа
количество растворимого рецептора ТФ в сыворотке
возрастает**

ДЕПОНИРОВАНИЕ ЖЕЛЕЗА

о ФЕРРИТИН

- о Белковая оболочка - апоферритин.
- о Содержит 15-20% общего железа в организме (РЭС, печень, селезенка, костный мозг).
- о 1 мкг/л ферритина соответствует 10 мг резерва железа.



Уровень ферритина в сыворотке отражает объем хранящегося железа (ИСКЛЮЧЕНИЯ: нарушения распределения и метаболизма Fe, гемохроматоз).

Ферритин - тест выбора при диагностике анемий.

ПРИЧИНЫ ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ ФЕРРИТИНА В КРОВИ

Референтный интервал: 15 – 150 мкг/л.

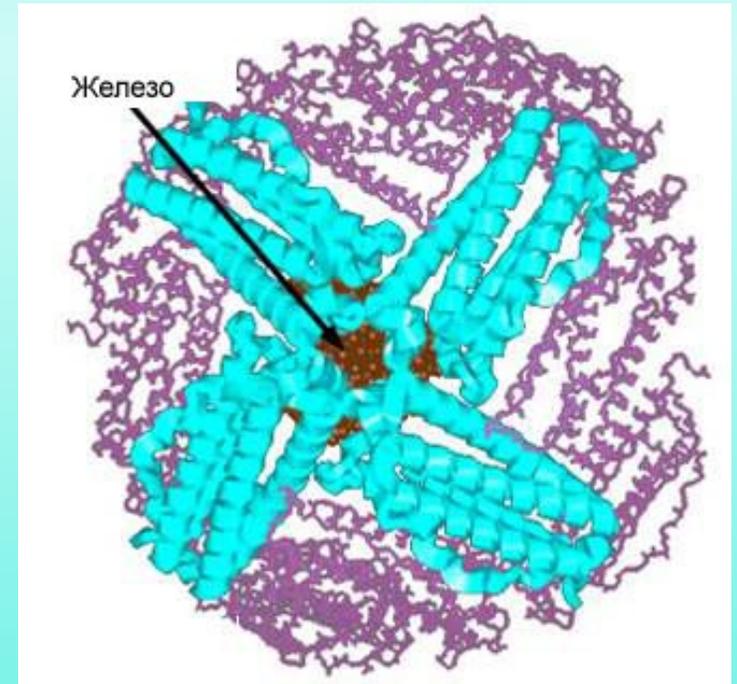
Повышение:

- Избыток железа при гемохроматозе;
- Патология печени (в т.ч. алкогольный гепатит);
- Острые и хронические инфекционно-воспалительные заболевания (остеомиелит, легочные инфекции, ожоги, СКВ, ревматоидный артрит);
- Острый лимфобластный и миелобластный лейкоз;
- Лимфогранулематоз;
- Рак молочной железы;
- Голодание;
- Прием оральных контрацептивов.

онк
о...

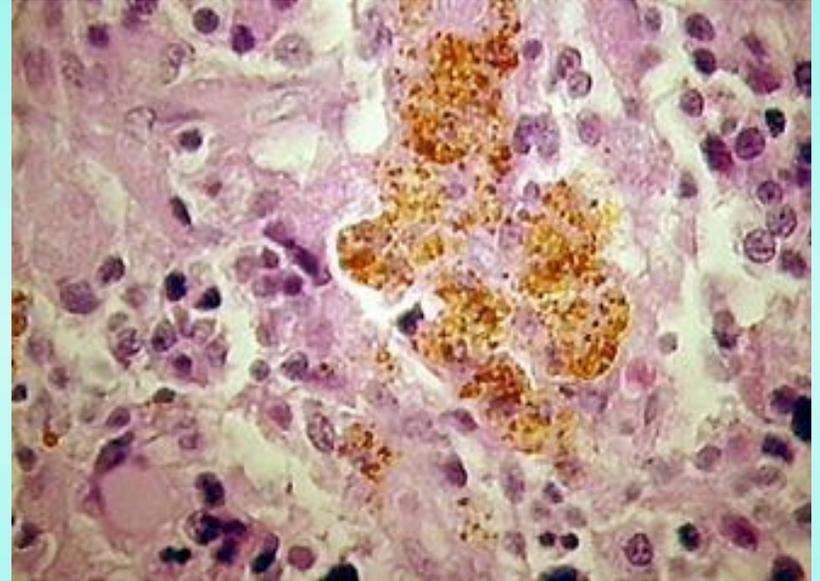
Понижение :

- Дефицит железа (ЖДА);
- Целиакия



ДЕПОНИРОВАНИЕ ЖЕЛЕЗА

- **Гемосидерин** – производное ферритина с более высокой концентрацией железа
- Нерастворим в воде, практически не используется организмом
- Обнаруживается в макрофагах костного мозга, селезенки, печени (купферовских клетках)
- Легко различим в световом микроскопе (в реакции Перлса)



ВЫВЕДЕНИЕ ЖЕЛЕЗА

- Мужчины: 1 мг/сут
- Женщины: + 15 мг/мес

Тесты для оценки метаболизма железа

- Железо
- Трансферрин (ОЖСС)
- Насыщение трансферрина железом (НЖСС)
- Ферритин
- Растворимые трансферриновые рецепторы в сыворотке
- Эритропоэтин

СТАДИИ ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИИ

1. Предлатентный дефицит железа

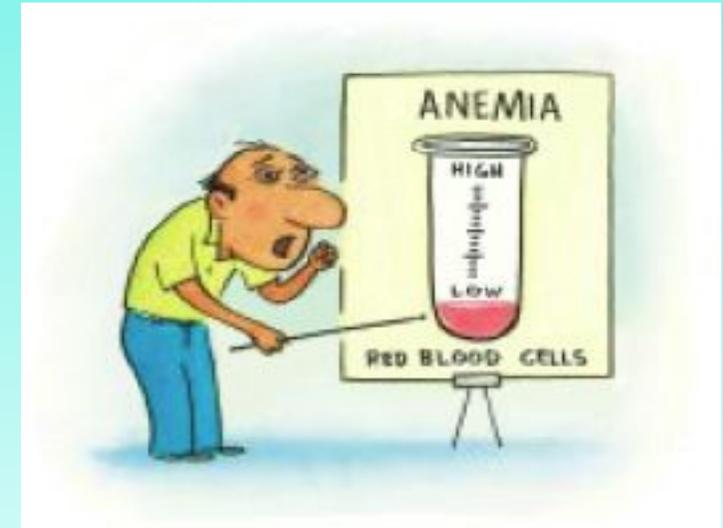
- Уменьшение запасов Fe

2. Латентный дефицит железа

- Истощение запасов Fe
- Уменьшение уровня транспортного железа
- Снижение активности железосодержащих ферментов

3. Железодефицитная анемия

- Нарушение синтеза гемоглобина



Манифестированный дефицит железа

Сывороточное железо

М ниже 8,5 ммоль/л

Ж ниже 6,0 ммоль/л

Трансферин

выше 3,5 г/л

Ферритин

95% пациентов – 5-15 нг/л

5% пациентов - 15-40 нг/л

Нв

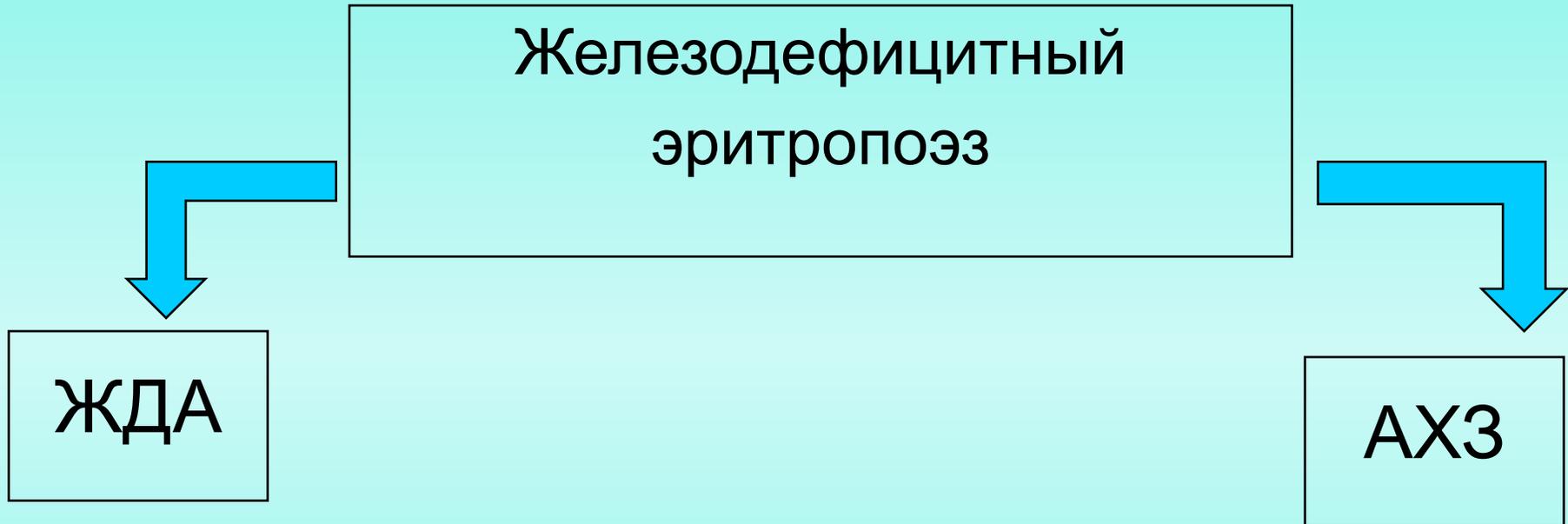
ниже 120 г/л

Характерные клинические симптомы

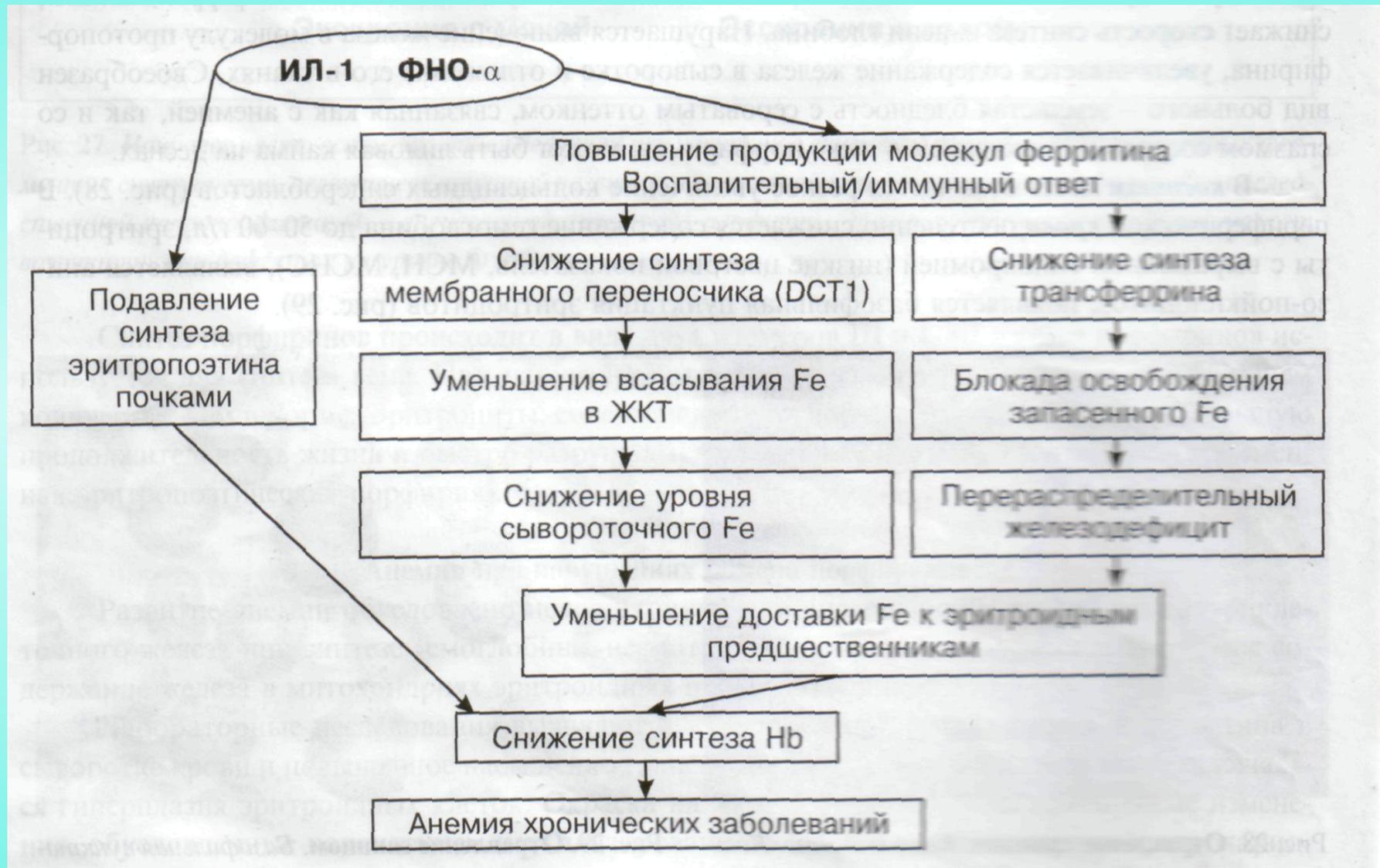
Анемия хронических заболеваний

- Часто сопутствует:
 - хроническим заболеваниям почек (ХПН) и печени,
 - онкологическим заболеваниям,
 - хроническим инфекционно-воспалительным процессам (остеомиелит, туберкулез, пиелонефрит, ревматоидный артрит, васкулиты, СКВ),
 - эндокринным заболеваниям (сахарный диабет).
- Проявления внешне сходны с хронической ЖДА.

Правильная дифференциальная диагностика

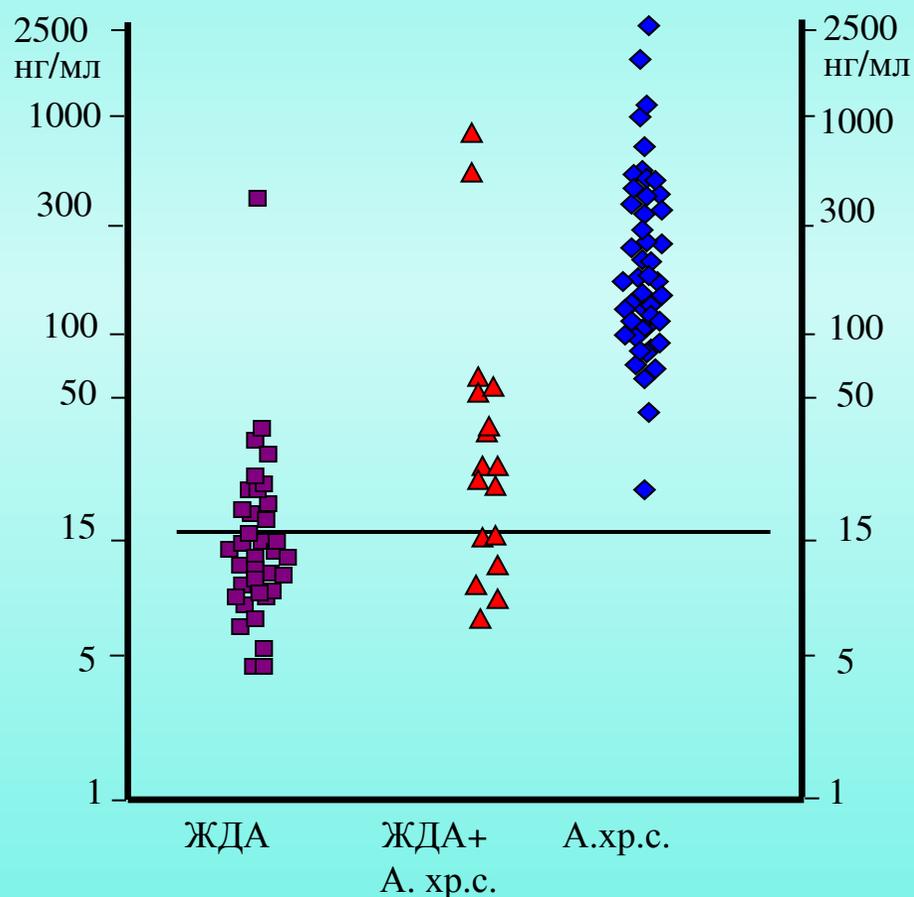


Патогенез ЖД при АХЗ

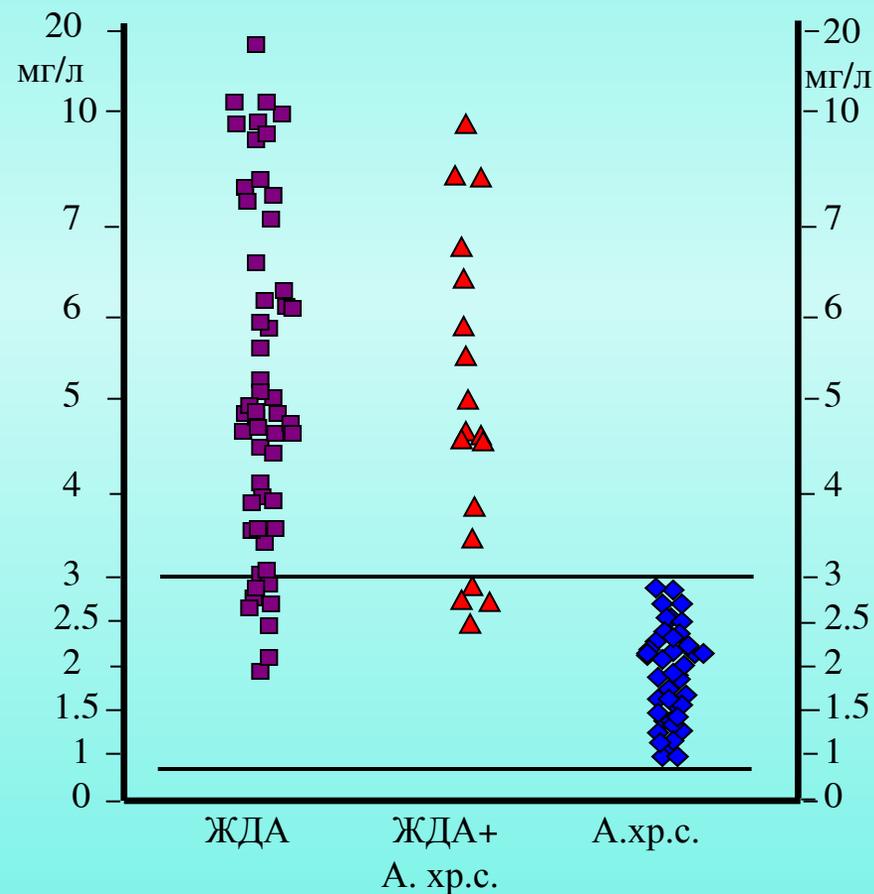


КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ФЕРРИТИНА И РАСТВОРИМОГО РЕЦЕПТОРА ТРАНСФЕРРИНА

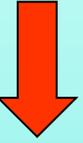
ФЕРРИТИН



РАСТВОРИМЫЙ РЕЦЕПТОР ТФ



Дифференциальная диагностика АХЗ и ЖДА

	Fe сыворотки	ОЖСС (трансферрин)	(коэфф. насыщения трансферрина)	Растворимый рецептор трансферрина НЖСС	ферритин	ИЛ-1	ИЛ-6	ФНО	ЭП
ЖДА						N	N	N	
АХЗ	 			 N					 N

ПЕРЕГРУЗКА ЖЕЛЕЗОМ

Повреждение клеток:

1. Свободные ионы железа обладают прямым токсическим действием на ОВ ферменты клеток.
2. Увеличенное отложение железа в форме ферритина и гемосидерина приводит к перегрузке и повреждению лизосом. Высвобождающиеся лизосомальные ферменты повреждают органеллы и клетки.
3. Свободные ионы железа (Fe^{3+}/Fe^{2+}) образуют свободные радикалы, которые индуцируют ПОЛ, вызывают чрезмерное увеличение проницаемости биомембран и гибель клеток.

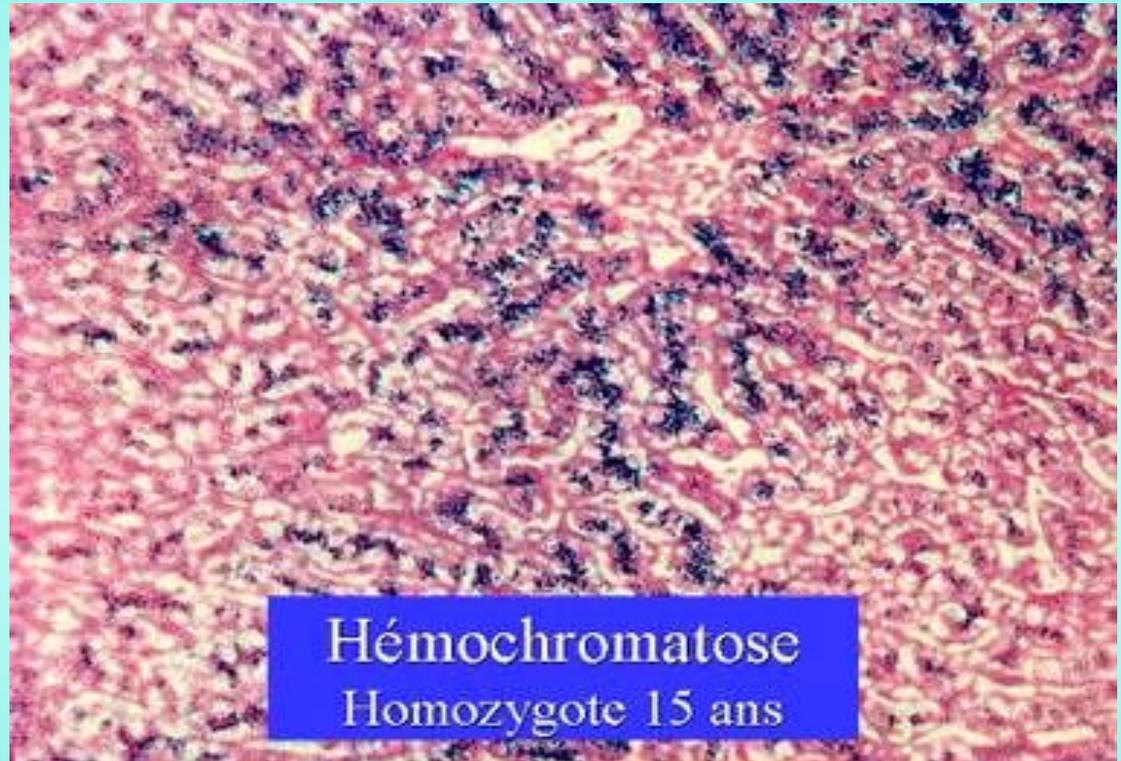


Первичный идиопатический гемохроматоз

Генетически обусловленное нарушение обмена железа.

Нарушается регуляция захвата железа клетками слизистой ЖКТ (нет ограничения всасывания Fe).

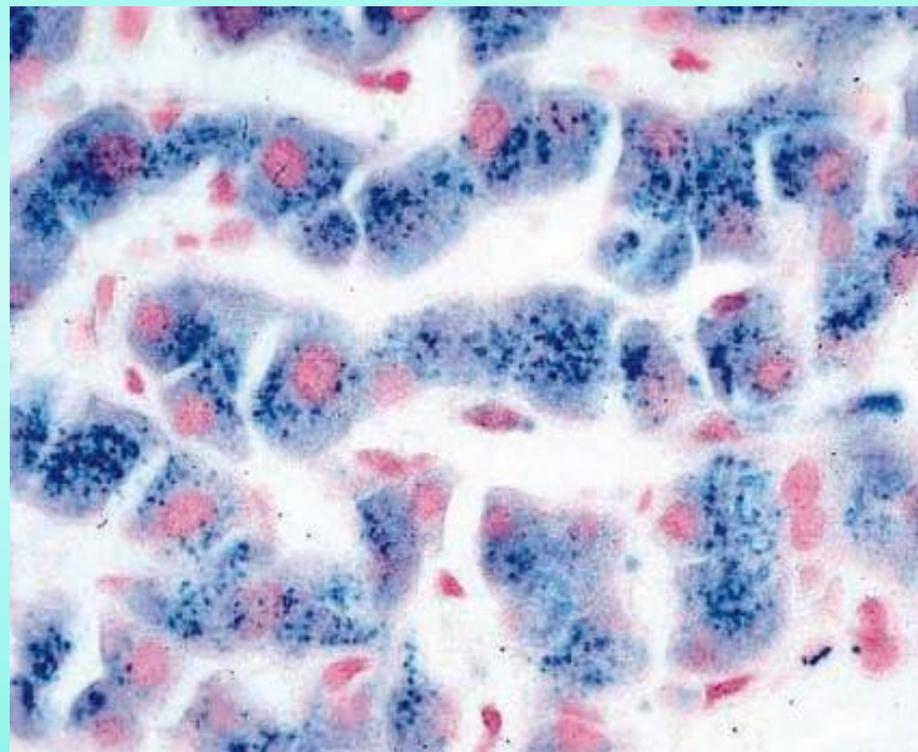
Это приводит к массивному поступлению железа в организм и отложению его в различных органах.



Вторичный приобретенный гемохроматоз (гемосидероз)

Возможен при:

- гемолитических анемиях
- неэффективном эритропоэзе (сидеробластная и апластическая анемия, талассемии)
- малярии
- интоксикациях (свинец, олово)
- алкогольном циррозе
- хроническом вирусном гепатите
- многократных гемотрансфузиях



Наборы реагентов для определения железа и железосвязывающей способности

Аналит	Название набора	Метод определения
ЖЕЛЕЗО	Железо - Ново	колориметрический, с феррозином
ОЖСС	ОЖСС - Ново	осаждение с карбонатом магния
НЖСС	НЖСС - Ново	колориметрический, с феррозином

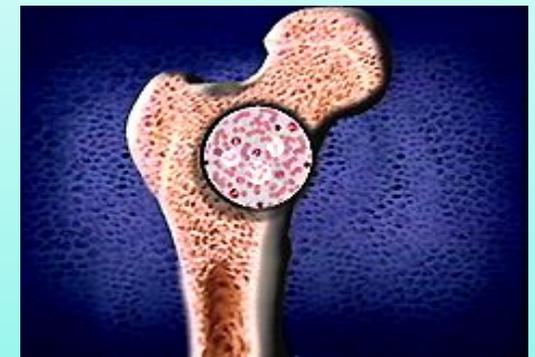
НАСЫЩЕНИЕ ТРАНСФЕРРИНА (НТ)

$\text{НТ (\%)} = 100 \times \text{Железо (мкмоль/л)} / \text{ОЖСС(мкмоль/л)}$

Диагностическое значение НТ:

НТ – наиболее точный индикатор снабжения железом костного мозга.

НТ – чувствительный индикатор скрытого недостатка железа.



ОЖСС= Сывороточное железо + НЖСС

«Ферритин – ИФА – БЕСТ» (Т-8552)

(в сыворотке (плазме) крови и других биологических жидкостях человека)

Диапазон измерения от 0 до 500 нг/мл.

Чувствительность анализа – 5 нг/мл.

«Эритропоэтин – ИФА – БЕСТ» (А-8776)

(в сыворотке (плазме) крови и других биологических жидкостях человека; можно в культуральных жидкостях)

Диапазон измерения от 0 до 200 мМЕ/мл.

Чувствительность анализа – 0,5 мМЕ/мл (4 пг/мл).

ЦИТОКИНЫ

**приказ МЗ и СР РФ от 20 февраля 2008 г. N 80н
"О проведении в 2008-09 гг. дополнительной
диспансеризации работающих граждан"**

- онкомаркер специфический СА-125 (женщинам после 40 лет),
- онкомаркер специфический ПСА (мужчинам после 40 лет),
- исследование уровня глюкозы,
- исследование уровня холестерина,
- исследование уровня триглицеридов сыворотки крови,
- исследование уровня холестерина липопротеидов низкой плотности.

- Для выполнения вышеперечисленных исследований ЗАО "Вектор-Бест" (Новосибирск) предлагает все необходимые реагенты собственного производства.
- Диагностикумы для определения указанных аналитов выпускаются в различных удобных для применения вариантах фасовки, рассчитанной на определенное необходимое количество анализов.
- Наборы предназначены для ручного анализа, а также для работы на полуавтоматических и автоматических анализаторах, в том числе, поставленных в рамках Национального приоритетного проекта «Здоровье».

- Наибольшую трудность может представлять определение уровня холестерина липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) в силу отсутствия наборов отечественного производства, и высокой стоимости импортных реагентов, учитывая масштабы потребности.
- В соответствии с рекомендацией кафедры лабораторной диагностики Российской медицинской академии последипломного образования (РМАПО) для расчета концентрации холестерина липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) может быть использована формула Фридвальда [Долгов В.В.]:

$$\text{ЛПНП} = \text{ОБЩИЙ ХС} - \left(\text{ЛПВП ХС} + \frac{\text{ТГ}}{2,2} \right)$$

ОБЩИЙ ХС - Общий холестерин

ЛПВП ХС - липопротеиды высокой плотности

ТГ – триглицериды

2,2 – коэффициент для пересчета

Пример предлагаемой программы для расчета ЛПНП

<i>вводимые параметры</i>				<i>результат</i>
№ пробы	ОБЩИЙ ХС	ЛПВП ХС	ТГ	ЛПНП ХС
1	10,67	2,15	4,04	6,68