DOI 10.34883/PI.2021.7.4.011
УДК 616.155.194.18-074-053.2

Ходулева С.А.¹, Мицюра Е.Ф.², Ромашевская И.П.², Демиденко А.Н.², Жук О.В.², Мельникова К.А.¹,
Макарчикова Ю.Ю.¹

¹ Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

² Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, Гомель, Беларусь

Khoduleva S.¹, Mitsura E.², Romashevskaya I.², Demidenko A.², Zhuk O.², Melnikova K.¹,
Makarchikova Yu.¹

¹ Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

² Republican Scientific and Practical Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Belarus

Лабораторный профиль при различных вариантах гемолитической анемии у детей

Laboratory Profile for Different Types
of Hemolytic Anemia in Children

Резюме

В статье представлены результаты оценки лабораторных показателей при различных вариантах гемолитической анемии (ГА) у детей. Всего обследовано 69 пациентов в возрасте от 1 месяца до 18 лет. Преобладали наследственные варианты ГА (71%), среди которых лидировал наследственный сфероцитоз (НС) – 64% (n=37); талассемия – у 18,4%; ферментопатии – 6,1%. Анализировались лабораторные показатели общего анализа крови, включая эритроцитарные индексы: MCV (mean corpuscular volume) – средний объем эритроцита; MCH (mean corpuscular hemoglobin) – среднее содержание гемоглобина в эритроците, и биохимические показатели гемолиза (общий билирубин и фракции, лактатдегидрогеназа (ЛДГ), гаптоглобин). Дополнительно определяли показатели обмена железа и осмотическую резистентность эритроцитов (ОРЭ). При инициальной диагностике талассемия сопровождалась достоверно более низкими показателями эритроцитарных индексов: MCV (fl) – 56,3 (53,5; 57,7) и MCH (pg) – 19,3 (19,2; 19,8). При НС выявлена тенденция к микроцитозу при нормальных значениях MCH. Так, показатель медианы MCV при НС составил 77,8 (72,9; 81,7) fl. Лабораторный профиль по данным биохимического анализа крови характеризовался умеренной гипербилирубинемией, повышением ЛДГ, снижением уровня гаптоглобина и нормоферемией при всех вариантах ГА. Однако при ферментопатиях отмечено более выраженное повышение уровня ЛДГ – 407 (336; 736) Ед/л и сывороточного ферритина – 246 (220; 256) мг/л при сравнении с другими ГА (p<0,0001). При НС наблюдалось выраженное снижение минимальной ОРЭ в инкубированной крови 0,75 (0,75; 0,8) %. Ферментопатии характеризовались повышением максимальной ОРЭ после инкубации: от 0,3 (0,3; 0,4) % до 0,25 (0,25; 0,45) % (p<0,0001). При аутоиммунной ГА выявлено снижение максимальной ОРЭ после инкубации: от 0,26 (0,25; 0,35) % до 0,35 (0,27; 0,4) %. При талассемии изменений ОРЭ не наблюдалось. Таким образом, при первичной диагностике ГА важно учитывать показатели эритроцитарных индексов. При этом определение ОРЭ до инкубации и после инкубации образца крови остается базовым методом лабораторной диагностики НС и может быть информативно при дифференциальной диагностике ферментопатий и аутоиммунной ГА.

Ключевые слова: гемолиз, гемолитическая анемия, наследственный сфероцитоз, талассемия, ферментопатия, аутоиммунная гемолитическая анемия, дети.

Abstract

The article presents the results of assessment of laboratory parameters in various types of hemolytic anemia (HA) in children. In total we have examined 69 patients from 1 to 18 months old. Hereditary variants of HA prevailed (71%), among which hereditary spherocytosis (HS) was more common – 64% (n=37); thalassemia – in 18.4%; fermentopathy – 6.1%. The laboratory parameters of the general blood test were analyzed, including erythrocyte indices: MCV (mean corpuscular volume) – the average volume of an erythrocyte; MCH (mean corpuscular hemoglobin) – the average hemoglobin content in the erythrocyte and the biochemical parameters of hemolysis (total bilirubin and fractions, lactate dehydrogenase (LDH), haptoglobin. Additionally, the indicators of iron metabolism and osmotic resistance of erythrocytes (ORE) were determined. At the initial diagnosis, thalassemia was accompanied by significantly lower erythrocyte indices: MCV (fl) – 56.3 (53.5; 57.7) and MCH (pg) – 19.3 (19.2; 19.8). In HS, a tendency to microcytosis was revealed, with normal MCH values. Thus, the median MCV in HS was 77.8 (72.9; 81.7) fl. The laboratory profile according to the biochemical blood test was characterized by moderate hyperbilirunemia, increased LDH, a decrease in the level of haptoglobin, and normoferemia in all types of HA. However, in fermentopathies, a more pronounced increase in LDH level – 407 (336; 736) U/L and serum ferritin – 246 (220; 256) mg/L was noted when compared with other HA ($p<0.0001$). In HS, there was a pronounced decrease in the minimum ORE in the incubated blood 0.75 (0.75; 0.8)%. Fermentopathies were characterized by an increase in the maximum ORE after incubation: from 0.3 (0.3; 0.4)% up to 0.25 (0.25; 0.45)% ($p<0.0001$). In autoimmune HA, a decrease in the maximum ORE after incubation was revealed: from 0.26 (0.25; 0.35)% up to 0.35 (0.27; 0.4)%. In thalassemia, no changes in ORE were observed. Thus, it is important to take into account the parameters of erythrocyte indices in the primary diagnosis of HA. At the same time, the ORE determination before and after incubation of a blood sample remains the basic method of laboratory diagnosis of HS and can be informative in the differential diagnosis of fermentopathies and autoimmune HA.

Keywords: hemolysis, hemolytic anemia, hereditary spherocytosis, thalassemia, fermentopathy, autoimmune hemolytic anemia, children.

■ ВВЕДЕНИЕ

Гемолитические анемии (ГА) представляют собой обширную группу заболеваний, различающихся по этиологии, патогенезу, клинической картине, методам лечения. В структуре болезней крови у детей ГА составляют около 5,5%, а среди всех анемий – до 15% [1]. Главным признаком ГА является уменьшение продолжительности жизни эритроцитов (менее 120 дней). Разрушение эритроцитов (гемолиз) может быть обусловлено как внутриклеточными (патология мембраны, ферментов, гемоглобина), так и внеклеточными причинами. Обычно внутриэритроцитарные дефекты являются наследуемыми, а внеклеточные – приобретенными [2, 3]. Причинами приобретенных ГА являются многочисленные факторы физического, химического и биологического характера, вызывающие повышенный гемолиз эритроцитов [4, 5]. Наиболее частой из наследственных анемий является наследственный сфероцитоз (микросфероцитоз, болезнь Минковского – Шоффара). Частота его встречаемости – в среднем 1 на 5000 населения [6]. Наследственный овалоцитоз (эллиптоцитоз) встречается с частотой 1 на 25 000 человек [6, 7]. Дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в мире встречается

у 3% населения, преобладает в Африке и у жителей Средиземноморья [8]. В настоящее время в связи с большой миграцией населения в Европе увеличилась частота талассемии [6, 7]. У детей могут встречаться и приобретенные гемолитические анемии, как правило, обусловленные иммунными механизмами [4, 5]. Диагностика ГА основывается на анализе анамнестических, клинических, лабораторных данных, а также на результатах инструментальных исследований. Приоритеты отдают лабораторным исследованиям, позволяющим установить признаки гемолиза и конкретный вариант ГА [9, 10].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дать оценку лабораторного профиля при различных вариантах гемолитической анемии у детей.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Всего обследовано 69 пациентов с различными вариантами гемолитической анемии (НС, ферментопатия, талассемия, аутоиммунная ГА) в возрасте от 1 месяца до 18 лет. Превалировали мальчики в соотношении 2:1. Диагноз ГА устанавливался на основании данных анамнеза, клинических и лабораторных показателей, указывающих на признаки гемолиза: ретикулоцитоз в периферической крови; повышение свободного билирубина и общей лактатдегидрогеназы (ЛДГ), снижение гаптоглобина – в биохимическом анализе крови. На первом этапе диагностики определялись: степень тяжести анемии, регенераторная способность эритроцитарного ростка, а также морфологический характер анемии по показателям эритроцитарных индексов: MCV (mean corpuscular volume) – средний объем эритроцита; MCH (mean corpuscular hemoglobin) – среднее содержание гемоглобина в эритроците; MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration) – средняя концентрация гемоглобина в эритроците. Проводилось исследование набора лабораторных показателей, включающего следующие биохимические данные: сывороточное железо, сывороточный ферритин, гаптоглобин, ЛДГ, общий билирубин и его фракции. Дополнительно с целью определения локализации гемолиза (внутрисосудистый/внутриклеточный) определяли свободный гемоглобин крови и мочи. Верификация конкретного типа ГА проводилась на основании дополнительных лабораторных исследований, уточняющих вариант ГА. Диагноз наследственного сфероцитоза основывался на снижении осмотической резистентности эритроцитов в образцах крови до и после суточной инкубации. Талассемия-β подтверждалась при помощи электрофореза гемоглобинов (Hb): снижение уровня HbA и компенсаторное повышение гемоглобинов типа F и A₂. Ферментопатии – на основании снижения активности внутриэритроцитарных энзимов. Диагноз аутоиммунной гемолитической анемии устанавливался при положительной пробе Кумбса.

Статистическая обработка цифровых данных проводилась с помощью пакета прикладного программного обеспечения StatSoft Statistica 10.0. Анализ вариационных рядов осуществлялся непараметрическим методом, данные представлялись в виде медианы (Me),

25%-го и 75%-го квартилей. Для оценки различий между группами использовался U-критерий Манна – Уитни для двух независимых выборок. Уровень значимости определяли при $p < 0,05$.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Среди всех случаев ГА, диагностированных в детском возрасте, преобладали наследственные варианты: всего 49 пациентов, что составило 71%. В структуре же последних лидировал наследственный сфероцитоз – 64% ($n=37$). Талассемия была установлена у 18,4% пациентов ($n=9$). Ферментопатии – только у 3 мальчиков, что составило 6,1% от всех наследственных форм ГА. В рамках ферментопатий у двух пациентов диагностирован дефицит Г-6-ФДГ и у одного – дефицит глюкозофосфатизоме-разы. Мужской пол являлся преобладающим, однако талассемия чаще наблюдалась у девочек в соотношении 2:1.

Анализ показателей периферической крови на первом этапе диагностики позволил установить, что медиана уровня гемоглобина (г/л) в общей группе наблюдения составила 98 (87,6; 112). При этом у большинства пациентов диагностирована анемия легкой степени тяжести (52,2%). Уровень гемоглобина менее 70 г/л (анемия тяжелой степени) зарегистрирован у 8,7% детей. При разных вариантах ГА медиана Hb варьировала: при наследственном сфероцитозе – 96,8 (88,3; 112) г/л, при талассемии – 102 (98,9; 104) г/л, при ферментопатии – 78 (61; 118) г/л и при аутоиммунной ГА (АИГА) – 95,7 (85,5; 120,5) г/л. Статистически значимых различий по медиане инициального уровня гемоглобина между разными вариантами ГА не выявлено.

Известно, что по морфологическим характеристикам ГА относятся к нормоцитарным нормохромным анемиям, кроме талассемии, для которой типичны микроцитоз и гипохромия. НС зачастую характеризуется микроцитозом. В то же время следует отметить, что гемолиз приводит к потере фолатов, в связи с чем показатели эритроцитарных индексов могут увеличиваться. Проведенный нами анализ показателей эритроцитарных индексов установил, что медиана MCV (fl) при НС составила 77,8 (72,9; 81,7), при талассемии – 56,3 (53,5; 57,7), при ферментопатии – 89 (83,4; 94) и при АИГА – 81,2 (78,6; 83,5). Статистически значимые различия данного показателя установлены при сравнении в группах НС и талассемии ($z=4,57$; $p<0,0001$); НС и ферментопатии ($z=-2,21$; $p<0,03$); НС и АИГА ($z=-2,30$; $p<0,02$); талассемии и ферментопатии ($z=4,57$; $p<0,0001$); талассемии и АИГА ($z=-4,17$; $p<0,0001$). Медианы показателя MCH (pg) распределились следующим образом: при наследственном сфероцитозе – 28,1 (25,9; 29,9), при талассемии – 19,3 (19,2; 19,8); при ферментопатии – 30,2 (29,2; 33,7); при АИГА – 28,9 (26,4; 31). Наименьшие значения показателя MCH выявлены при талассемии, что подтверждается статистически значимыми различиями при сравнении медианы данного показателя при других вариантах ГА: НС – $z=4,60$; $p<0,0001$; ферментопатии – $z=4,60$; $p<0,0001$; АИГА – $z=-3,79$; $p<0,0001$. Аналогичные изменения наблюдались также при анализе показателя MCHC (%), медиана которого при талассемии составила 33,4 (33,2; 36,0) и имела статистически значимые различия при сравнении с другими группами: НС – 36,1 (34,9; 37,5); ферментопатия – 36,9 (31,0; 40,4); АИГА – 34,3 (32,9; 36,1). В целом по группе ГА морфологический характер анемии был нормоцитарный

нормохромный, о чем свидетельствовали медианы эритроцитарных индексов: MCV – 79,3 fl (72,7; 82,6); MCH – 28 pg (25,4; 30,1); MCHC – 35,1% (33,4; 36,8). Наименьшие значения MCV и MCH зафиксированы при талассемии. Однако следует отметить, что показатель MCV при НС был достоверно ниже, чем при ферментопатии и АИГА. Гемолитические анемии относят к гиперрегенераторным, о чем свидетельствует высокий уровень ретикулоцитов. В нашем наблюдении медиана Ret (%) в общей группе составила 7,7 (4; 12). По конкретным вариантам: НС – 7,8 (5,4; 12); талассемия – 3,5 (1,6; 18,2); ферментопатия – 10,3 (9,2; 17,6); АИГА – 4,8 (2; 13,4). Статистически значимых различий по инициальному уровню ретикулоцитов между разными вариантами ГА не наблюдалось.

Анализ биохимических показателей крови позволил установить, что лабораторные показатели обмена железа во всех группах наблюдения соответствовали норме (табл. 1). Наибольшие значения показателя сывороточного ферритина выявлены при ферментопатиях, что подтверждается статистически значимыми различиями при сравнении медианы данного показателя с другими вариантами ГА: НС ($z=2,21$; $p<0,03$); талассемия ($z=2,41$; $p<0,0001$); АИГА ($z=-2,81$; $p<0,0001$).

У всех пациентов независимо от типа гемолиза наблюдалось снижение уровня гаптоглобина. Повышение уровня ЛДГ зафиксировано у всех пациентов на фоне гемолитического криза. Показатель медианы ЛДГ при наследственном сфероцитозе и ферментопатиях был выше, чем в других группах ГА, что статистически подтверждено: значимые различия наблюдаются между НС и талассемией ($z=2,67$; $p<0,01$); ферментопатией и талассемией ($z=2,67$; $p<0,01$). Уровень общего билирубина в группе наблюдения колебался от 18 мкмоль/л до 95 мкмоль/л. Гипербилирубинемия выше 50 мкмоль/л выявлена у 27,5% пациентов. Медианы показателя по уровню билирубина при различных вариантах ГА не имели достоверных различий. Как известно, вследствие гемолиза в крови увеличивается количество свободного (неконъюгированного) билирубина. Однако резкого его нарастания в плазме не происходит, так как печень компенсаторно увеличивает скорость конъюгации (до 6 раз по сравнению с физиологической). Это приводит к нарастанию концентрации связанного (конъюгированного) билирубина в желчи и желчных протоках, создаются условия для образования билирубиновых камней и развития желчнокаменной болезни (ЖКБ). В нашем наблюдении у 8% пациентов с НС диагностирована ЖКБ в возрасте до 10 лет.

Определение осмотической резистентности эритроцитов остается базовым методом дифференциальной диагностики варианта ГА и основным критерием диагностики наследственного сфероцитоза в широкой клинической практике. Показатель медианы минимальной ОРЭ до инкубации во всех группах ГА соответствовал норме (0,5–0,45%), с достоверно более высоким значением при НС (табл. 2). НС характеризовался выраженным снижением минимальной ОРЭ в инкубированной крови 0,75 (0,75; 0,8) %, чего не наблюдалось при других вариантах ГА ($p<0,05$).

Обращает на себя внимание повышение максимальной ОРЭ до инкубации при АИГА с тенденцией к ее снижению после инкубации образца крови. Так, медиана данного показателя составила: до инкубации – 0,26 (0,25; 0,35) %, после инкубации – 0,35 (0,27; 0,4) %. В целом после

Таблица 1
Биохимические показатели крови при различных вариантах гемолитической анемии у детей

Table 1
Blood chemistry values in various types of hemolytic anemia in children

Лабораторный показатель	Наследственный сфероцитоз (n=37)	Талассемия (n=9)	Ферментопатии (n=3)	Аутоиммунная гемолитическая анемия (n=20)
Общий билирубин (мкмоль/л) Me (25%; 75%)	23 (15,1; 35)	32,8 (24,6; 34,7)	34 (21; 38,1)	35,9 (20,1; 59,8)
ЛДГ (Ед/л) Me (25%; 75%)	346 (290; 440)	256 (235; 304)	407 (336; 736)	291 (266; 475)
Сывороточное железо (мкмоль/л) Me (25%; 75%)	14,1 (12,1; 17,3)	16,7 (14; 19,1)	18 (17,4; 20)	13,8 (10,9; 16,8)
Сывороточный ферритин (мкг/л) Me (25%; 75%)	120 (75,5; 185)	44,1 (21,7; 76,4)	246 (220; 256)	65,4 (35,1; 122)

Таблица 2
Осмотическая резистентность эритроцитов при различных вариантах гемолитической анемии у детей

Table 2
Osmotic resistance of erythrocytes in various types of hemolytic anemia in children

Показатель ОРЭ		Наследственный сфероцитоз	Талассемия	Ферментопатии	Аутоиммунная гемолитическая анемия
Min % Me (25%; 75%)	До инкубации	0,5 (0,5; 0,6)	0,4 (0,4; 0,5)	0,45 (0,45; 0,5)	0,45 (0,38; 0,5)
Max % Me (25%; 75%)		0,4 (0,35; 0,4)	0,3 (0,25; 0,3)	0,3 (0,3; 0,4)	0,26 (0,25; 0,35)
Min % Me (25%; 75%)	После инкубации	0,75 (0,75; 0,8)	0,45 (0,4; 0,55)	0,55 (0,55; 0,65)	0,55 (0,47; 0,6)
Max % Me (25%; 75%)		0,45 (0,35; 0,55)	0,3 (0,3; 0,34)	0,25 (0,25; 0,45)	0,35 (0,27; 0,4)

инкубации показатель медианы минимальной ОРЭ повысился при всех вариантах ГА с достоверно более высоким значением при наследственном сфероцитозе – 0,75 (0,75; 0,8) %. Отмечено снижение медианы максимальной осмотической резистентности при ферментопатиях: до инкубации – 0,3 (0,3; 0,4) % и 0,25 (0,25; 0,45) % – после инкубации ($p<0,0001$), что свидетельствует о повышении осмотической резистентности эритроцитов после инкубации при гемолизе, обусловленном дефицитом внутриэритроцитарных ферментов.

Таким образом, в структуре ГА у детей преобладали наследственный сфероцитоз (53,6%) и аутоиммунная гемолитическая анемия (29%). Другие варианты, такие как талассемия и ферментопатия, диагностировались значительно реже (18,4% и 6,1% соответственно). В общей группе наблюдения преобладали мальчики в соотношении 2:1. При инициальной диагностике ГА в ГА имела легкую степень тяжести, нормоцитарный нормохромный и гиперрегенераторный характер.

Талассемия сопровождалась достоверно более низкими показателями эритроцитарных индексов. При НС выявлена тенденция к микроцитозу при нормальных значениях МСН и МСНС. Лабораторный профиль по данным биохимического анализа крови характеризовался умеренной гипербилирубинемией, повышением ЛДГ, снижением уровня гаптоглобина и нормоферемией. При ферментопатиях лабораторный профиль отличался более выраженным повышением уровня ЛДГ и сывороточного ферритина. Для наследственного сфероцитоза типично снижение минимальной ОРЭ в инкубированной крови. Ферментопатии характеризовались повышением максимальной осмотической резистентности эритроцитов после инкубации. Для АИГА выявлено снижение максимальной ОРЭ после инкубации. Для талассемии изменения ОРЭ до и после инкубации не характерны, о чем свидетельствуют полученные результаты. Таким образом, при первичной диагностике ГА важно учитывать показатели эритроцитарных индексов. При этом определение ОРЭ до инкубации и после инкубации образца крови остается базовым методом лабораторной диагностики НС и может быть информативно при дифференциальной диагностике ферментопатий и аутоиммунной ГА.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Phillips J., Henderson A.C. (2018) Hemolytic Anemia: Evaluation and Differential Diagnosis. *Am Fam Physician.*, vol. 98 (6), pp. 354–361.
2. Noronha S.A. (2016) Acquired and Congenital Hemolytic Anemia. *Pediatr Rev.*, vol. 37 (6), pp. 235–246. doi: 10.1542/pir.2015-0053
3. Mohandas N. (2018) Inherited hemolytic anemia: a possessive beginner's guide. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, vol. 1, pp. 377–381. doi: 10.1182/asheducation-2018.1.377
4. Čermák J., Písačka M. (2018) Autoimmune hemolytic anemia. *Vnitr Lek.*, vol. 64 (5), pp. 514–519.
5. Liebman H.A., Weitz I.C. (2017) Autoimmune Hemolytic Anemia. *Med Clin North Am.*, vol. 101 (2), pp. 351–359. doi: 10.1016/j.mcna.2016.09.007
6. Mitsura E., Romashevskaya I., Novik D. (2017) *Hemolytic anemia in children: questions of differential diagnosis: practical guide for doctors*. Gomel, 23 p. (in Russian).
7. Haley K. (2017) Congenital Hemolytic Anemia. *Med Clin North Am.*, vol. 101 (2), pp. 361–374. doi: 10.1016/j.mcna.2016.09.008
8. Donker A.E., Raymakers R.A., Vlasveld L.T. (2014) Practice guidelines for the diagnosis and management of microcytic anemias due to genetic disorders of iron metabolism or heme synthesis. *Blood*, vol. 123 (25), pp. 3873–3886. doi: 10.1182/blood-2014-01-548776
9. Luzzatto L., Nannelli C., Notaro R. (2016) Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. *Hematol Oncol Clin North Am.*, vol. 30 (2), pp. 373–393. doi: 10.1016/j.hoc.2015.11.006
10. Menzato F., Munaretto V., Colombatti R. (2017) Algoritmo diagnostico per l'anemia in età pediatrica. *Quaderni ACP.*, vol. 24 (2), pp. 53–61.

Подана/Submitted: 12.10.2021

Принята/Accepted: 05.11.2021

Контакты/Contacts: khoduleva@yandex.ru