

VILNIAUS UNIVERSITETO MEDICINOS FAKULTETO  
FIZIOLOGIJOS, BIOCHEMIJOS, MIKROBIOLOGIJOS IR  
LABORATORINĖS MEDICINOS KATEDRA

MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS

**CITOMORFOLOGINIO KRAUJO TEPINĖLIO TYRIMO, PASKIRIAMO  
UŽSAKOVO SPRENDIMU, TIKSLINGUMO ĮVERTINIMAS**

Magistrantė DAINORA ŠIUŠKAITĖ

\_\_\_\_\_  
(parašas)

Darbo vadovė  
doc., dr. Rėda Matuzevičienė

\_\_\_\_\_  
(parašas)

VU MF Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir  
laboratorinės medicinos katedros vedėja  
doc., dr. Dovilė Karčiauskaitė

leidžiama ginti

\_\_\_\_\_  
(parašas)

Darbo įteikimo data  
Registracijos Nr.

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

2019 m., Vilnius

## TURINYS

Santrumpos .....	4
ĮVADAS .....	7
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	9
1.1. Kraujodaros procesas .....	9
1.1.1. Eritropoezė .....	10
1.1.2. Trombopoezė.....	11
1.1.3. Leukopoezė.....	12
1.2. Sudėtinės kraujo dalys.....	14
1.3. Kraujo ląstelių tyrimo technologijos .....	22
1.3.1. Bendras kraujo tyrimas.....	22
1.3.2. Citomorfologinis kraujo tepinėlis.....	23
1.4. Bendro kraujo tyrimo problematika .....	25
1.5. Citomorfologinio tepinėlio peržiūros kriterijai .....	26
2. MEDŽIAGOS IR METODAI .....	28
2.1. Medžiagos .....	28
2.1.1. Reagentai .....	28
2.2. Metodai .....	28
2.2.1. Kraujo analizė hematologiniu analizatoriumi.....	29
2.2.2. Kraujo tepinėlio citomorfologijos vertinimas šviesiniu mikroskopu .....	30
2.2.3. Statistinis rezultatų apdorojimas bei analizė .....	32
3. REZULTATAI.....	36
3.1. Kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizė.....	36
3.1.1. Kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizė VUL SK bendruose skyriuose.....	37
3.1.2. Kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizė VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose.....	39
3.1.3. Kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizė VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje .....	41
3.2. Kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizė.....	43
3.2.1. Kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizė VUL SK bendruose skyriuose.....	43
3.2.2. Kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizė VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose.....	45
3.2.3. Kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizė VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje .....	47

3.3. Bendra kiekybinių ir kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizė.....	49
3.3.1. Bendra kiekybinių ir kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizė VUL SK bendruose skyriuose .....	49
3.3.2. Bendra kiekybinių ir kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizė VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose .....	51
3.3.3. Bendra kiekybinių ir kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizė VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje .....	53
3.4. Automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumas VUL SK bendruose skyriuose ...	54
3.4.1. Kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumas VUL SK bendruose skyriuose .....	55
3.4.2. Kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumas VUL SK bendruose skyriuose.....	57
3.4.3. Kiekybinių ir kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumas VUL SK bendruose skyriuose .....	59
3.5. Automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumas VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose .....	59
3.5.1. Kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumas VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose .....	60
3.5.2. Kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumas VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose .....	62
3.5.3. Kiekybinių ir kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumas VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose .....	64
3.6. Automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumas VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje .....	64
3.6.1. Kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumas VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje.....	65
3.6.2. Kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumas VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje.....	67
3.6.3. Kiekybinių ir kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumas VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje.....	69
4. REZULTATŲ APTARIMAS .....	70
IŠVADOS .....	74
REKOMENDACIJOS .....	75
PADĖKA .....	78
LITERATŪROS SĄRAŠAS .....	79

## Santrumpos

µm – mikrometras

A - adenino heterociklinė bazė

ADP – adenzindifosfatas

AGM - aortos-gonadinės-mezonefros regionas

Akt – baltymų B kinazė

BCR (angl. *B cell receptor*) – B ląstelių receptorius

BKT - bendras kraujo tyrimas

C/EBP-ε/α (angl. *CCAAT-enhancer-binding proteins*) – CCAAT aktyvklį prijungiantis baltymas ε ir α

CD (angl. *cluster of differentiation*) – diferenciacijos žymuo

CFU (angl. *colony – formin unit*) – kolonijas formuojantis vienetas

CLEC – 2 (angl. *C-type lectinlike receptor 2*) – C tipo lektino receptorius -2

CO<sub>2</sub> – anglies dioksidas

DBD (angl. *DNA binding domen*) – DNR prisijungiantis domenas

DNR – deoksiribonukleorūgštis

E2A (angl. *E box-binding protein 2A*) – E dėžutės jungimosi baltymas 2A

EBF1 (angl. *EBF transcription factor 1*) – EBF transkripcijos faktorius 1

EDTA – etilendiamintetraacto rūgštis

EPO – eritropoetinas

ERK1/ERK2 (angl. *extracellular signal–regulated kinase1/2*) – užląstelinio signalo reguliuojama kinazė 1/2

Fc – imunoglobulinų molekulės sunkiosios grandinės C galinė dalis

FcεRI IgE ( angl. *The high affinity Immunoglobulin E receptor*) – aukšto afiniškumo receptorius imunoglobulino E Fc regionui

Foxp3 (angl. *Forkhead box P3*) – forkhead/winged-helix šeimos transkripcijos faktorius

G – guanino heterociklinė bazė

*GATA-1* (angl. *GATA-binding factor 1*)– GATA 1 baltymą prisijungiantis genas

*GATA2* (angl. *GATA-binding factor 2*) – GATA 2 baltymą prisijungiantis genas

GF-1 (angl. *growth factor 1*) – augimo faktorius 1

GMP – granulocitų monocitų pirmtakas

Hb – hemoglobinas

HIF – hipoksijos indukuojamų faktorių šeima

HKL – hemopoezės kamieninė ląstelė

HOX (angl. *homeobox*) – HOX šeimos genai

IFN- $\gamma$  – interferonas  $\gamma$

Ig – imunoglobulinas

IL-3 – interleukinas 3

IL-6 – interleukinas 6

IL-7 – interleukinas 7

IRF-8 – interferono reguliacinis faktorius 8

LKL – limfoidinės kamieninės ląstelės

LMO2 (angl. *LIM Domain Only 2*) – 2 lim domeno genas

MAPK (angl. *mitogen-activated protein kinase*) – mitogeno aktyvuojama proteino kinazė

MCH (angl. *mean corpuscular hemoglobin*) – vidutinis eritrocitų hemoglobino kiekis

MCHC (angl. *Mean corpuscular hemoglobin concentration*) – vidutinė hemoglobino koncentracija eritrocituose

MCV (angl. *Mean corpuscular volume*) – vidutinis eritrocitų tūris

MEP – megakariocitų eritroidinis pirmtakas

MHC (angl. *major histocompatibility complex*) – žmogaus leukocitų antigenai

MYB (angl. *MYB Transcription Factor*) – mieloblastozės šeimos transkripcijos faktorius

MIF – makrofagų migracijos inhibitorinis faktorius

MK – megakariocitai

MKL – mieloidinės kamieninės ląstelės

Mpl (angl. *thrombopoietin receptor*) – trombopoetino receptorių

NADPH - nikotinamido adenino dinukleotido fosfatas

NF- $\kappa$ B (angl. *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) – B ląstelių kapa lengvųjų grandinių branduolio faktoriaus aktyviklis

NK ląstelės (angl. *natural killer*) – ląstelės žudikės

NOX2 (angl. *NADPH oxidase 2*) – NADPH 2 oksidazė

NRD – neigiamos reguliacijos domenas

O<sub>2</sub> – deguonis

Pax5 (angl. *Paired Box 5*) – suporuotas dėžutės baltymas 5

PcG (angl. *Polycomb group*) – Pc šeimos genai

pg – pikogramas

PI3K (angl. *Phosphoinositide 3-kinases*) – fosfoinozido 3 kinazė

ProEB – proeritroblastai

RDW (angl. *Red Cell Distribution Width*) – eritrocitų pasiskirstymo plotis

RET – retikulocitai

SCF (angl. *stem cell factor*) – kamieninių ląstelių faktorius

T – timino heterociklinė bazė

TAD – transkripcijos aktyvacijos domenas

TAL-1/SCL (angl. *T-cell acute lymphoblastic leukemia [T-ALL] 1/ stem cell leukemia*) – T ląstelių ūminė limfoblastinė leukemija [T-ALL] 1/ kamieninių ląstelių leukemija

Tc – citotoksiniai T limfocitai

TCR (angl. *T-cell receptor*) – T ląstelių receptorius

Th – helperiniai T limfocitai

TLHD - Tarptautinė Laboratorinės Hematologijos Draugija

TPO – trombopoetinas

Treg – T reguliacinės ląstelės

VUL SK – Vilniaus Universitetinės Ligoninės Santaros Klinikos

vWF – Von Willebrando faktorius

## ĮVADAS

Kraujo tyrimai suteikia itin svarbią informaciją apie organizmo sveikatos būklę, padeda tiksliai diagnozuoti įvairias ligas dar ankstyvoje stadijoje ir parinkti tinkamą gydymą. Vienas pagrindinių ir dažniausiai taikomų laboratorinių tyrimų yra bendras kraujo tyrimas, kuris suteikia naudingos informacijos apie skirtingų ląstelių ir neląstelių elementų koncentraciją kraujyje. Periferinio kraujo citomorfologinis tepinėlis skiriamas analizatoriaus darbo kokybės kontrolei arba nustatius tam tikrų automatizuoto bendro kraujo tyrimo rodiklių nuokrypį nuo pamatinių biologinių verčių intervalo. Iki 2005 m. dauguma pasaulio laboratorijų turėjo savo parinktus kriterijus, pagal kuriuos buvo kuriamos automatizuoto bendro kraujo tyrimo peržiūros taisyklės, t.y. taisyklės, pagal kurias sprendžiama kada automatizuoto bendro kraujo tyrimo rezultatus reikia verifikuoti citomorfologiniu kraujo tepinėlio tyrimu. Siekiant sumažinti perteklinį kraujo tepinėlių tyrimų skaičių ir norint sukurti universalias automatizuoto bendro kraujo tyrimo rezultatų peržiūros taisykles, 2005 m. Tarptautinė Laboratorinės Hematologijos Draugija sukūrė peržiūros kriterijus, tikintis, kad peržiūros taisyklėms kurti jais naudosis dauguma hematologijos laboratorijų visame pasaulyje. Nepaisant to, šiuo metu Lietuvoje, Vilniaus Universiteto ligoninės Santaros Klinikose citomorfologinio tepinėlio tyrimai atliekami tik užsakovo sprendimu, – tokių tepinėlių paskiriama itin daug, nesinaudojant siūlomais tarptautiniais kriterijais. Dėl šios priežasties, daugelis periferinio kraujo citomorfologinių tepinėlių tyrimų paskiriama nepagrįstai, todėl eikvojamos laboratorijos lėšos, darbo produktyvumas ir reagentų sąnaudos, nukenčia pacientų priežiūros kokybė. Siekiant naudoti tarptautinius automatizuoto bendro kraujo tyrimo peržiūros kriterijus, pritaikytus tam tikrai pacientų populiacijai, būtina juos atsakingai ir kruopščiai įvertinti bei optimizuoti kiekvienai konkrečioje laboratorijoje naudojamai technologijai. Iki šiol Lietuvoje nėra atlikta tyrimų, kurie įvertintų automatizuoto bendro kraujo tyrimo peržiūros kriterijų naudojimo galimybes ir jų tikslingumą, todėl šiuo atžvilgiu šis darbas yra pirmasis tokio pobūdžio bandymas.

**Darbo tikslas** – įvertinti VUL Santaros Klinikų skyriuose užsakovo sprendimu paskirtų kraujo citomorfologinių tyrimų pagrįstumą pagal tarptautinius automatizuoto bendro kraujo tyrimo peržiūros kriterijus.

### **Darbo uždaviniai:**

1. Atrinkti VUL Santaros Klinikų skyriuose užsakovo sprendimu paskirtų kraujo citomorfologinių tyrimų rezultatus ir susieti juos su tų pačių kraujo mėginių automatizuotų hematologinių tyrimų rezultatais.

2. Išanalizuoti, kurie iš automatizuoto bendro kraujo tyrimo peržiūros kriterijų (kiekybiniai, kokybiniai ar bendri), dažniausiai lemia klaidingai teigiamus ir klaidingai neigiamus atliekamus kraujo tyrimo rezultatus.
3. Nustatyti pagal kuriuos kiekybinius automatizuoto bendro kraujo tyrimo kriterijus sukuriama tiksliausios citomorfologinio tepinėlio atrankos taisyklės.
4. Įvertinti kurios redakcijos (2002 m. ar 2005 m.) automatizuoto bendro kraujo tyrimo rezultatų peržiūros kriterijai yra tinkamiausi VUL Santaros Klinikų bendrųjų skyrių pacientų populiacijai.
5. Įvertinti kurios redakcijos (2002 m. ar 2005 m.) automatizuoto bendro kraujo tyrimo rezultatų peržiūros kriterijai yra tinkamiausi VUL Santaros Klinikų reanimacijos – intensyvios terapijos skyrių pacientų populiacijai.
6. Įvertinti kurios redakcijos (2002 m. ar 2005 m.) automatizuoto bendro kraujo tyrimo rezultatų peržiūros kriterijai yra tinkamiausi VUL Santaros Klinikų hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos pacientų populiacijai.



## 1. LITERATŪROS APŽVALGA

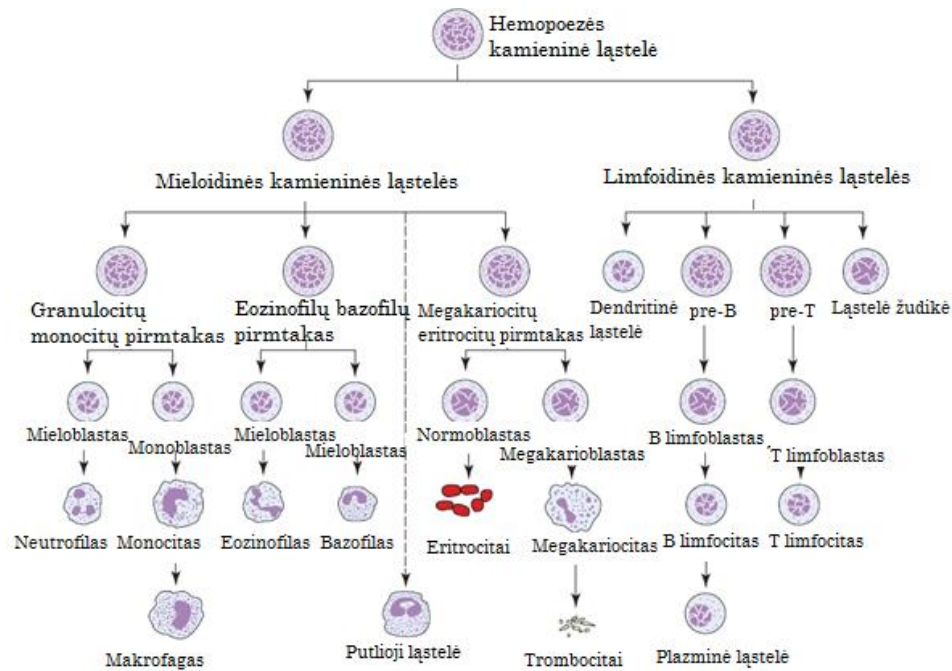
Kraujas – tai skystas jungiamasis audinys, susidedantis iš plazmos (55 %) ir forminių elementų (45 %). Suaugusio vyro organizme yra 5 – 6 litrai kraujo, o moters atitinkamai 4 – 5 l. (Scanlon VC, 2015). Tai tiriamoji medžiaga, iš kurios laboratorijoje atliekama daugiausia įvairių tyrimų, siekiant išsiaiškinti žmogaus sveikatos būklę.

### 1.1. Kraujodaros procesas

Kraujodara, dar kitaip vadinama hemopoezė arba hematopoezė, tai kraujo ląstelių gamybos procesas, kuomet sveiko žmogaus organizme per dieną pagaminama  $10^{11}$  –  $10^{12}$  naujų kraujo ląstelių (American Society of Hematology, hematology.org). Dažniausiai šis procesas vyksta kaulų čiulpuose, tačiau esant įvairiems sutrikimams bei patologijoms, stebimas ir kepenyse, blužnyje. Hemopoezė prasideda dar embriogenezėje, kol kaulų čiulpai dar nėra susiformavę, kraujo ląstelės ima gamintis trynio maišo mezenchimoje, vėliau – nugarinėje aortos dalyje, konkrečiai aortos-gonadinės-mezonefros regione (AGM), kur susitelkusios kamieninės ląstelės (Gleason *et al.*, 2017). Nuo 6 nėštumo savaitės iki 6 – 8 mėnesio, kepenys ir blužnis yra pagrindiniai hemopoezės organai, kurie kraujo ląsteles dar gamina net iki 2 savaičių po gimimo (Medvinsky *et al.*, 2011), o ši stadija vadinama ekstramedulinė hematopoezė (angl. *extramedullary hematopoiesis*) (Orphanidou-Vlachou *et al.*, 2014). Kūdikams po gimimo hemopoezė vyksta visuose organizmo kaulų čiulpuose iki 6-o – 7-o mėnesio, tačiau organizmui augant raudonuosius kaulų čiulpus keičia geltonieji ir suaugusio individo organizme kraujo forminių elementų gamyba vyksta tik žastikaulio ir šlaunikaulio proksimaliniuose galuose bei plokščiuosiuose centrinio skeleto kauluose – klubakaulyje, slanksteliuose, krūtinkaulyje ir kaukolėje. Subrendusios kraujo ląstelės patenka į kaulų čiulpų sinusus, o iš ten pasiekia kraujotaką (Juozaitytė *et al.*, 2014).

Dar 1909 m. rusų biologas A. Maksimovas postulavo, kad hemopoezė prasideda nuo hematopoezinės kamieninės ląstelės. Išties, kaulų čiulpuose esti multipotentinės ląstelės, kurių yra itin nedaug – tik 1 iš 10000 ląstelių yra kamieninė, kuri vadinama hemopoezės kamienine ląstele (HKL) (ThermoFisher Scientific, thermofisher.com). HKL ląstelės geba atsinaujinti ir diferencijuotis į kraujo ląsteles, o kai tai vyksta – bent kelios dukterinės ląstelės išlieka HKL ląstelėmis ir tai vadinama asimetriniu dalijimusi. Likusios dukterinės ląstelės formuoja ląstelių kolonijas, dar vadinamas kolonijas formuojančiais vienetais (angl. *colony forming unit*, CFU), kurių tolimesnis vystymasis priklauso nuo augimo faktorių, t.y. jiems veikiant diferencijuojasi

į limfoidinių ląstelių ir mieloidinių ląstelių linijas (1.1. pav.) (Doulatov *et al.*, 2012). Iš šių dviejų linijų susiformuoja visi kraujo forminiai elementai.



1.1. pav. Hematopoezės schema. Šaltinis: Keohane ME *et al.*, 2016 m.

Yra žinoma, kad kraujodaros procesui yra itin svarbūs trys genai *LMO2*, *TALI*, *GATA2* – esant jų inhibicijai nevyksta HKL ląstelių tolimesnis vystymasis. Taip pat normaliai hematopoezei svarbi ir *HOX* genų šeima, tačiau nors vieno *HOX* geno praradimas ne visada lemia hematopoetinius defektus. Svarbu paminėti ir HKL ląstelių diferenciacijai reikalingus *PcG* šeimos genus, kurių raiška reguliuojama per epigenetinius mechanizmus (Porwit *et al.*, 2011).

### 1.1.1. Eritropoezė

Eritropoezė – tai procesas, kurio metu gaminami raudonieji kraujo kūneliai. Procesas prasideda kai HKL tampa multipotentinėmis, kurios vėliau virsta unipotentinėmis kamieninėmis ląstelėmis, o iš pastarųjų susidaro pronormoblastai, dar vadinami proeritroblastais (ProEB) ar rubriblastais (Tsiftoglou *et al.*, 2009). Toliau vystosi ankstyvieji normoblastai (eritroblastai), kurie virsta tarpiniais ir galiausiai vėlyvaisiais normoblastais, iš kurių yra pašalinamas branduolys ir susidaro retikulocitai (RET). Šios stadijos ląstelėse yra mitochondrijų ir ribosomų, kurių reikia globinų grandinių surinkimui bei kelioms hemo sintezės stadijoms. Kai RET išeina iš kaulų, čiulpų jų sudėtyje vis dar yra šios organelės, tad hemoglobino (Hb) sintezė gali tęstis dar 1 – 2 dienas, kol RET cirkuliuoja kraujotakoje (Bain

JB, 2017). Po 2 dienų galutinai diferencijuojasi eritrocitai, kurie tampa disko formos be mitochondrijų ar kitų organelių, tačiau pilni baltymo hemoglobino, galinčio prisijungti deguonies molekules. Pasenusius eritrocitus po 100-120 dienų blužnyje, kepenyse suardo makrofagai (Kėvelaitis E, 2006).

Funkcionaliems eritrocitams susidaryti yra būtinas GATA-1 transkripcijos faktorius, kuris dviem konservatyviais cinko pirštelių domenais jungiasi prie (A/T)GATA(A/G) DNR motyvo. Dar vienas kritiškai svarbus yra TAL-1/SCL transkripcijos faktorius, kuris spiralės-kilpos-spiralės motyvu jungiasi prie trumpo DNR motyvo (CANNTG), vadinamo E-dėžute. GATA-1 bei TAL-1/SCL yra ekspresuojami eritrocituose, be šių faktorių eritropoezė vykti negali. Dar vienas eritropoezei reikšmingas transkripcijos faktorius yra MYB, kuris sudarytas iš 3 funkcionalių domenų – DBD, TAD ir NRD. MYB svarbus galutinai subręsti eritrocitams, bei reguliuoti vaisiaus hemoglobino geno ekspresiją (Angelis *et al.*, 2018). Taip pat mikroaplinka (augimo faktoriai bei citokinai) yra svarbus aspektas eritropoezėje. Svarbiausi augimo faktoriai yra eritropoetinas (EPO), kamieninių ląstelių faktorius (SCF), interleukinas-3 (IL-3). EPO yra vienas esminių faktorių, – įrodyta, jog EPO ar jo receptoriaus mutacijos yra letalios pelėms, nes eritrocitai nebegali išsivystyti (Tsiftoglou *et al.*, 2009). EPO yra glikoproteinas sudarytas iš 165 aminorūgščių, produkuojamas kūdikių kepenyse bei suaugusių inkstuose, jo produkavimas yra stimuliuojamas hipoksijos per hipoksijos-indukuojamą faktorių (HIF) bei kappa B branduolio faktoriaus (NF-kB) sistemas (Gleason *et al.*, 2017). Išoriniai faktoriai, tokie kaip kobalaminas (Vitaminas B<sub>12</sub>), folio rūgštis (Vitaminas B<sub>9</sub>), geležis ir kt., taip pat yra svarbūs eritrocitų brendimui.

### **1.1.2. Trombopoezė**

Trombopoezė - tai procesas, kurio metu kaulų čiulpuose iš atsiskyrusių megakariocito citoplazmos fragmentų formuojasi trombocitai. Visas procesas prasideda nuo HKL ląstelių, kurios sugeneruoja megakarioblastus, kurie virsta promegakariocitais, o šie megakariocitais (MK) – tai vadinama megakariopoezė. Iš vieno MK susidaro 1000-3000 trombocitų (Machlus *et al.*, 2014). MK subrendimui labai svarbi endomitozė, jiems bręstant ir didėjant viduje atsiranda daugiau granulių, citoskeleto baltymų, pradedama formuoti daug ilgų storų citoplazmos išaugų (pseudopodijų), kurios palaipsniui plonėja ir tampa karoliuko formos protrombocitais (retikulėti trombocitai). Tuomet šie keliauja į kaulų čiulpų sinusus iš kur paleidžiami į kraujotaką (Guo *et al.*, 2015). Trombocitai periferiniame kraujyje gyvuoja 7-10 dienų, nesubrendę – 1-2 dienas, vėliau makrofagų sunaikinami blužnyje ar kepenyse (Hoffmann J, 2014).

Vienas iš pagrindinių transkripcijos faktorių kontroliuojantis megakariopoezę, kaip ir eritropoezę, yra GATA-1. Mikroaplinkos faktoriai stimuliuojantys MK brendimą yra IL-3, IL-6, SCF bei trombopoetinas (TPO) (Falet *et al.*, 2016). Pastarasis citokinas yra pagrindinis megakariopoezės reguliatorius, kuris jungiasi prie Mpl receptoriaus esančio ant trombocitų, megakariocitų, dėl ko kyla receptoriaus dimerizacija ir intraląstelių signalinių kelių aktyvacija (Guo *et al.*, 2015): aktyvinami PI3K, Akt, MAPK bei ERK1/ERK2 keliai (Machlus *et al.*, 2014). TPO yra sintetinamas kepenyse, o jo koncentracija yra atvirkščiai proporcinga trombocitų kiekiui kraujyje, esant šio citokino ar jo receptoriaus mutacijoms vystosi trombocitopenija.

### 1.1.3. Leukopoezė

Leukopoezė – tai procesas, kurio metu gaminasi baltieji kraujo kūneliai, dar kitaip vadinami leukocitais. (Adimy *et al.*, 2006). Baltųjų kraujo kūnelių brendimas sudėtingesnis nei eritrocitų. Pirmiausia, yra tik viena brandi raudonųjų kraujo kūnelių forma, tuo tarpu leukocitai jų turi penkias: neutrofilai, bazofilai, eozinofilai, monocitai ir limfocitai. Be to, eritrocitai kraujyje cirkuliuoja apie 120 dienų, o leukocitai tik kelias valandas, todėl jų kiekis privalo būti nuolat atnaujinamas (Ciesla B, 2007). Kaip ir kitos kraujo ląstelės, leukocitai yra kilę iš HKL ląstelių (Houghton Mifflin Harcourt, cliffsnotes.com). Iš jų susidariusios CFU ląstelės gali šakotis į dvejų tipų kamienus: mieloidines kamienines ląsteles (MKL) ir limfoidines kamienines ląsteles (LKL).

Iš LKL vystosi keturių tipų limfocitai: B limfocitai, T limfocitai, ląstelės žudikės NK (angl. *natural killer cells*) ir dendritinės ląstelės (Rieger MA, Schroeder T, 2012). Tiek B ląstelių linija, tiek T ląstelių linija gaminasi kaulų čiulpuose, tačiau brendimo procesas vyksta skirtingose vietose: kaulų čiulpuose (angl. *bone marrow*) bręsta B limfocitai, o T ląstelės pilnai subręsta užkrūčio liaukoje (angl. *thymus*) (Hofmann *et al.*, 2016). IL-7 yra būtinas brendimo proceso pradžia, jis jungiasi su kamieninių ląstelių faktoriais ir diferenciacija nukrypsta į B ir T limfocitų susidarymą. B ląstelių pirmtakų susidaryme svarbūs šie transkripcijos faktoriai: E dėžutės jungimosi baltymas 2A (E2A) ir pradinis B ląstelių faktorius – 1 (EBF1). Kartu su suporuotu dėžutės baltymu 5 (Pax5), tolimesniame brendimo etape šie veiksniai inicijuoja V(D)J rekombinaciją ir papildomų baltymų ekspresiją, reikalingą pre-B diferencijuotis į subrendusį B limfocitą (Revilla-i-Domingo *et al.*, 2012). Kaip minėta, T limfocitų brendimas vyksta užkrūčio liaukoje, – joje yra tinkama aplinka, reikiami citokinai ir chemokinai bei specifinis stromos derinys, susidaryti funkcionalioms T ląstelėms iš jų pirmtakų (timocitų). T ląstelių receptoriaus (TCR) genų persitvarkymas ir timocitų teigiama bei neigiama atranka yra

kritiniai brendimo etapai. Timocitai yra dvigubai teigiami (CD4+, CD8+), tačiau priklausomai nuo reakcijos su MHC I ir II klasės molekulėmis, timocitai diferencijuojasi į CD4+ T limfocitus (T helperius) ir CD8+ T limfocitus (citotoksinius T limfocitus) (Luckheeram *et al.*, 2012).

MKL gali diferencijuotis į granulocitų monocitų pirmtaką (GMP), dar kitaip vadinamą mieloblastu, ir megakariocitų eritroidinį pirmtaką (MEP). Iš GMP formuojasi dar dvi šakos: monodendritinė kamieninė ląstelė (MPL) – monoblastas ir promielocitinė ląstelė (Greer *et al.*, 2009). Vidutiniškai, GMP virstant subrendusiu neutrofilu, praeina 4 – 8 paros ir įvyksta 4 – 11 ląstelės pasidalijimų (Lawrence *et al.*, 2018). Pirmiausia, mieloblastai diferencijuojasi į promielocitus, kurie turi bazofilinę citoplazmą su skirtingomis rausvos spalvos pirminėmis granulėmis. Promielocitai diferencijuojasi į mielocitus, kurie turi šiek tiek ovalų branduolį ir šviesiai rožinę citoplazmą su mažomis, rausvai raudonomis granulėmis, dar kitaip vadinamomis antrinėmis granulėmis. Tiek promielocitai, tiek mielocitai gali turėti perinuklearinį prašviesėjimą (Ward *et al.*, 2018). Ankstyvieji neutrofilų pirmtakai (mieloblastai, promielocitai ir jauni mielocitai) išlaiko proliferacijos potencialą. Sekančio etapo metu ląstelės tampa neutrofilinės linijos ląstelėmis ir po šio žingsnio nutrūksta dalijimosi procesas (Lawrence *et al.*, 2018). Taigi, mielocitai ilgainiui virsta metamielocitais, kurie turi inksto formos branduolį ir granuluotą citoplazmą. Vėliau metamielocitai diferencijuojasi į lazdelines (angl. *band*) ląsteles, turinčias pasagos formos branduolius. Galiausiai šiose ląstelėse vystosi segmentuoti branduoliai, jos patenka į periferinį kraują ir pilnai subręsta. Tokios brandžios ląstelės vadinamos segmentuotais neutrofilais. Eozinofilai ir bazofilai turi tokias pačias brendimo stadijas, kaip ir neutrofilai, tačiau jų kiekis kaulų čiulpuose yra ženkliai mažesnis. Monocitai taip pat bręsta kaulų čiulpuose, tačiau jų pirmtakai reti. Procesas prasideda GMP virtus MPL, susidaręs monoblastas diferencijuojasi į promonocitą, kuris savo ruožtu tampa subrendusiu monocitu. Šie palikę kaulų čiulpus, audiniuose virsta makrofagais ir histiocitais (Ward *et al.*, 2018).

Funkcionalių ir brandžių neutrofilų susidaryme svarbūs C/EBP- $\epsilon$  ir C/EBP- $\alpha$  transkripcijos faktoriai. Jie pasižymi konservatyviu leucino užtrauktuko C galiniu domenu, esančiu šalia teigiamai įkrauto DNR surišančio domeno. Šių transkripcijos faktorių mutacijos lemia limfocitines ir mieloidines leukemijas. Procesui taip pat svarbus PU.1 transkripcijos faktorius, interferono reguliacinis faktorius 8 (IRF-8) ir augimo faktorius 1 (GF-1). Nustatyta, kad C/EBP- $\alpha$ , PU.1 ir IRF-8 indukuoja MKL diferencijuotis į monocitus ir makrofagus, o tuo tarpu C/EBP- $\epsilon$  ir GF-1 atsakingi už neutrofilų ir eozinofilų susidarymą (Lawrence *et al.*, 2018). C/EBP- $\epsilon$  specifinių lizinių (K121 ir K198) acetilimas ir GATA-1 ekspresijos trūkumas lemia mieloidinės kamieninės ląstelės diferenciaciją į neutrofilus, o ne eozinofilus (Bartles *et al.*, 2015).

## 1.2. Sudėtinės kraujo dalys

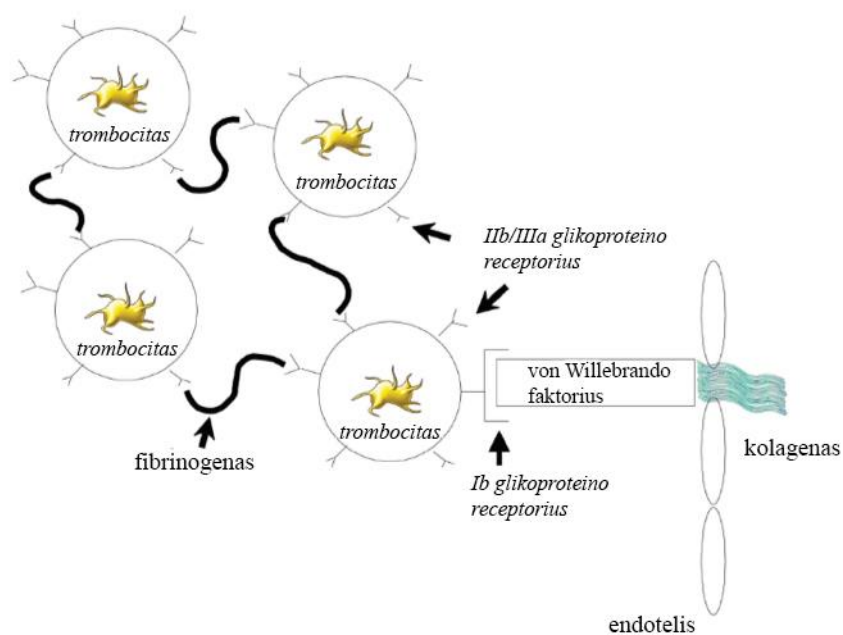
Kraują centrifuguojant pastebima, kad jis susideda iš keturių pagrindinių komponentų – plazmos, raudonųjų kraujo kūnelių (dar vadinami raudonuoju krauju), trombocitų ir baltųjų kraujo kūnelių (dar vadinamais baltuoju krauju) sluoksnio. Pastarųjų dviejų elementų kiekis viename kraujo mikrolitre skaičiuojamas tūkstančiais, o štai eritrocitų – net milijonais.

I. Skystasis kraujo komponentas vadinamas **plazma** – tai vandens, angliavandenių, riebalų, baltymų ir druskų mišinys. Pagrindinė plazmos funkcija yra transportuoti kraujo ląsteles kartu su maistingomis medžiagomis, atliekomis, antikūnais, hormonais ir kt. po visą organizmą ir taip padėti palaikyti organizmo skysčių balansą ir homeostazę (American Society of Hematology, [hematology.org](http://hematology.org)).

II. **Raudonieji kraujo kūneliai** (lot. *erythrocyti*) yra disko formos, bebranduolės ląstelės, kurių skersmuo 6 – 9  $\mu\text{m}$ ., jos pasižymi įgaubtumumu dėl kurio padidėja jų paviršiaus plotas bei galimybė judėti siaurais kapiliarais (pvz. geba judėti 1  $\mu\text{m}$  skersmens kapiliaru blužnyje). Jų membrana sudaryta iš fosfolipidinio dvisluoksnio, kurio sudėtyje yra cholesterolio, glikoproteinų ir kitų baltymų. Dėl ląstelių sudėtyje esančio tetramerinio baltymo hemoglobino (Hb), jos pasižymi ne tik raudona spalva, bet geba iš plaučių pernešti ir aprūpinti audinius deguonimi, sudarant oksihemoglobino junginį, o į plaučius grąžinti  $\text{CO}_2$ , prisirišant jį prie  $\alpha$ -globino grandinės N-terminalinio galo. Apie 98 %  $\text{O}_2$  yra transportuojama eritrocitų, likusi dalis – plazmos, tačiau  $\text{CO}_2$  transportavimas eritrocitais siekia tik 15 %, kitą dalį perneša plazma (Bain BJ, 2017). Sveiko suaugusio individo eritrocite yra 27 – 34 pg. Hb, o kiekvienas tetrameras turi po keturias hemines grupes, dar vadinamas heminėmis kišenėmis (Gordon-Smith T, 2006). Eritrocitai taip pat svarbūs tam, kad palaikyti organizmo rūgščių ir šarmų pusiausvyrą, vandens ir druskų apykaitą, pernešti įvairias medžiagas – aminorūgštis, vaistus ir kt., jie dalyvauja kraujo krešėjime, sudarydami raudonąjį krešulį. Svarbus jų poveikis kraujagyslėms stebimas kai hemoglobino molekulės yra deoksigenuotos, - tuomet raudonieji kraujo kūneliai išskiria azoto oksidą bei S-nitrozotiolius, kurie sukelia periferinių audinių kraujagyslių išsiplėtimą, taip nukreipdami daugiau kraujo į vietas, kur trūksta deguonies (Helms *et al.*, 2018). Taip pat eritrocitai geba produkuoti vandenilio sulfidą, kuris veikia kaip dujos skatinančios kraujagyslių sienelės atsipalaiduoti (Benavides *et al.*, 2007). Svarbu paminėti, kad šie kraujo elementai dalyvauja ir imuniniame atsake – kai yra lizuojami patogenų, tokių kaip bakterija, paskleidžia laisvuosius radikalus, kurie pažeidžia patogeninių organizmų sienelės membraną ir juos nužudo (Jiang *et al.*, 2007). Naujas, 2018 m. tyrimas atliktas Elisabeth Karsten ir kt. patvirtino, jog eritrocitai svarbūs imuninei sistemai, jie geba ne tik priimti, bet ir

perduoti signalus kitų tipų ląstelėms – jie turi 46-is uždegiminius citokinus, fermentus bei makrofagų migracijos inhibitorinių faktorių (MIF).

III. **Trombocitai** yra įvairaus pavidalo, bebranduolės kraujo ląstelės, kurių skersmuo yra 2-3  $\mu\text{m}$ . Jie turi trijų rūšių granules:  $\alpha$  granules, lizosomas bei tankiąsias granules. Pastarosiose yra nedidelės molekulinės masės junginių, kurie skatina agregaciją, lizosomose yra hidrolizės fermentų, o  $\alpha$  granulėse – baltymai, kurie reikalingi trombocitų adhezijai, agregacijai ir koaguliacijai (Lam *et al.*, 2015). Pagrindinė jų funkcija yra dalyvauti hemostazėje – sukurti tarsi platformą, kurioje gali vykti kraujo krešulio susidarymas. Trombocitai sukuria fibrino tinklą, kuris padengia žaizdą ir apsaugo nuo kraujo pratekėjimo. Fibrinas taip pat sukuria struktūros pagrindą ant kurios gali susidaryti naujas audinys ir taip skatina gijimą (American Society of Hematology, hematology.org). Pirmiausiai trombocitai per glikoproteinų receptorių kompleksą Ib/V/IX prisijungia prie kolageno, kuris atsiranda dėl kraujagyslių pažeidimo, šis procesas papildomai stiprinimas adhezijos ligandų, tokių kaip Von Willebrando faktoriaus (vWF), kuris taip pat atsakingas ir už trombocitų tarpusavio sąveiką (Michelson A, 2012). Kai trombocitai prilimpa prie subendotelinių komponentų, prasideda trombocitų aktyvacija veikiant ADP, tromboksanui  $A_2$ , kolagenui ir trombinui, kuris yra itin efektyvus trombocitų aktyvatorius (Versteeg *et al.*, 2013). Taip pat aktyvaciją indukuoja ir konformaciniai trombocitų membranos pakitimai (per citoskeleto reorganizaciją) bei degranuliacija. Galiausiai aktyvuojamas integrino glikoproteinas IIb/IIIa, kuris yra pagrindinis trombocitų adhezijos bei agregacijos receptorių (1.2. pav.).



1.2. pav. Trombocitų adhezijos ir agregacijos schema. Šaltinis: Levi M, 2005.

Agregacijai, kad susiformuotų hemostatinis kamštis reikia daugybės trombocitų sąveikos (Jobling *et al.*, 2013). Svarbu paminėti jog trombocitai dalyvauja ir uždegimo reakcijose, jie produkuoja citokinus bei chemokinus – nukreipia limfocitus, neutrofilus bei monocitus į uždegimo vietą. Paminėtina, jog trombocitai geba izoliuoti mikrobus, bakterijas, apsupdami juos savo pseudopodijomis ir taip suformuodami tarsi vakuolę, todėl jie dar vadinami kovercituais (angl. *covercytes*) (White JG, 2005). Jie turi signalo perdavimui reikalingus elementus, tokius kaip CLEC – 2 ar P – selektiną dėl kurių komunikuoja su kitomis ląstelėmis (Sonmez *et al.*, 2017).

IV. Baltosios kraujo ląstelės, dar kitaip vadinamos **leukocitais** (lot. *leucocyti*) – tai ląsteliniai kraujo dariniai, kurie savo sudėtyje neturi hemoglobino, tačiau turi branduolį ir gali savarankiškai judėti (Encyclopaedia Britannica, britannica.com). Baltųjų kraujo ląstelių kiekis kur kas mažesnis nei raudonųjų kraujo ląstelių ir jos sudaro apie 1 % viso žmogaus kraujo (American Society of Hematology, hematology.org). Sveikas suaugęs žmogus turi tarp 4500 ir 11000 baltųjų kraujo ląstelių viename kubiniame milimetre kraujo. Šis skaičius svyruoja dienos eigoje: mažesni kiekiai būna poilsio metu ir didesni atitinkamai aktyviai sportuojant. Neįprastas baltųjų ląstelių skaičiaus padidėjimas vadinamas leukocitoze, o skaičiaus sumažėjimas vadinamas leukopenija (Encyclopaedia Britannica, britannica.com). Kaip jau minėta, leukocitai yra skirstomi į keletą pogrupių pagal ląstelių morfologiją ir vaidmenį imuninėje sistemoje – limfocitus, granulocitus (bazofilus, eozinofilus, neutrofilus) ir monocitus (Yoon *et al.*, 2015).

1. **Limfocitai** – tai specifinio imuninio atsako ląstelės ir organizme vienintelės gali specifiškai atpažinti įvairias antigenines struktūras (jų epitopus), jie lemia imuninio atsako įvairovę, specifiškumą, imuninę atmintį. Tai apvalios, nefagocituojančios, 7 – 12µm skersmens ląstelės (Adomaitienė *et al.*, 2001). Limfocitai yra mažiausi leukocitai, su beveik apvaliu ekscentrišku branduoliu. Dauguma jų turi nedaug citoplazmos aplink branduolį, tačiau kai kurie turi daugiau citoplazmos su granulėmis arba be jų. Citoplazmoje yra ribosomų, pavienių mitochondrijų, kintamas kiekis šiurkštaus endoplazminio tinklo ir inaktyvus Goldžio kompleksas, ląstelės branduolio chromatinas labai tankiai kondensuotas. Kaip jau buvo minėta, funkciškai ir pagal plazminėje membranoje ekspresuojamas molekules, limfocitai skirstomi į B limfocitus, T limfocitus ir ląsteles žudikes – NK ląsteles (Bain BJ, 2017):

1.a.) **B limfocitai** – tai ląstelės, savo plazminėje membranoje ekspresuojančios CD19+ ir CD20+ (angl. *cluster of differentiation*) molekules (Bagwell *et al.*, 2015). B limfocitai dalyvauja humoraliniame imuniniame atsake, jie diferencijuoja į plazmines ląsteles ir gamina antikūnus, kurie padeda neutralizuoti toksinus, opsonizuoti bakterijas fagocitozei, jie taip pat trukdo mikroorganizmams prisitvirtinti prie organizmo gleivinių ir padaro bakterijomis ir virusais infekuotas bei vėžines ląsteles jautresnes nuo antikūno priklausomam citotoksiniui



poveikiui. Taigi, antikūnai stiprina įgimtos imuninės sistemos elementus. Skirtingos antikūnų klasės būdingos skirtingoms organizmo sritims (IgM yra intravaskulinis antikūnas, dažniausiai susijęs su nesenu imuniniu atsaku, IgG – pagrindinis kraujo ir audinių antikūnas, IgA būdingas sekretiniams, gleivinių procesams, IgE daugiausiai reikalingas imuniniui atsakui prieš parazitus, tokius kaip helmintai o IgD – membraninis antikūnas, svarbus B limfocitų brendimui) (Parkin ir Cohen, 2001). Be antikūnų gamybos, B limfocitai dalyvauja ir ląsteliniame imunitete. B ląstelių aktyvacija prasideda nuo tirpaus antigeno atpažinimo ir prisijungimo prie membranoje ekspresuoto B ląstelių receptoriaus BCR (angl. *B-cell receptor*). Ląstelėje prasideda endocitozės procesas, kurio metu antigenas įsiskverbia į ląstelės vidų ir yra skaldomas, - susidarę fragmentai pateikiami B limfocitų paviršiuje, komplekse su MHC II klasės molekulėmis, T ląstelėms (LeBien ir Tedder, 2008). B limfocitai sudaro keletą subtipų: plazmines ir atminties ląsteles. Tačiau šiuo metu yra tyrinėjami papildomi B limfocitų subtipai: B-2 ir B-1, kurie geba veikti tiesiogiai, be T limfocitų pagalbos. B-1 limfocitai – tai nedidelė B ląstelių populiacija, kuri daugiausia randama pleuros ir pilvaplėvės ertmėje (Montecino-Rodriguez ir Dorshkind, 2006). Kadangi tiek B-1 limfocitai, tiek pagrindiniai B-2, limfocitai atlieka panašias funkcijas, manoma, kad šios ląstelių linijos turi bendrą protėvį (Zhu *et al.*, 2014), tačiau B-1 limfocitai dalyvauja įgimtame imunitete, o B-2 ląstelės yra sudedamoji įgyto imuninio atsako dalis, tad skiriasi abiejų subpopuliacijų brendimas (Montecino-Rodriguez ir Dorshkind, 2006). B-2 ląstelės bręsta kaulų čiulpuose visą gyvenimą, tuo tarpu B-1 ląstelės formuojasi daugiausia vaisiaus stadijos metu, be to, B-1 subpopuliacija ekspresuoja CD5 molekules savo ląstelių paviršiuje (Popi *et al.*, 2016). O atminties B ląstelės neturi jokios efektorinės funkcijos, kaip subrendusios plazminės ląstelės ir joms būtinas pakartotinis antigeninis stimulus iš aplinkos, norint sukelti atminties atsaką. Tokia atminties forma yra lanksti ir gali būti reguliuojama pagal antigeno kiekį ir imuninę aplinką (Kurosaki *et al.*, 2015).

1.b.) **T limfocitų** pavadinimas kilo nuo jų brendimo vietos užkrūčio liaukoje. Kaip ir B limfocitai, taip ir T ląstelės gali diferencijuotis į atminties ląsteles ir cirkuliacijoje išlikti daugelį metų (Beenhouwer DO, 2018). Šios ląstelės savo paviršiuje ekspresuoja antigeninį receptorių TCR, kuris nuo B ląstelių receptoriaus BCR skiriasi antigenų atpažinimo būdu, - TCR svetimas molekules prisijungia tik asocijuotas, su specifiniu paviršiaus baltymu MHC (Beenhouwer DO, 2018). Egzistuoja trys klasės MHC molekulių: MHC I, MHC II ir MHC III. Kitaip nei pirmųjų dviejų klasių, MHC III klasės funkcija ir struktūra yra mažai ištirta, tačiau yra žinoma jog ši klasė dalyvauja signaliniuose keliuose. MHC I klasės baltymus ekspresuoja visos branduolėtos ląstelės ir trombocitai, MHC II klasės molekules turi profesionalios antigeną pateikiančios ląstelės: dendritinės ląstelės, B limfocitai, makrofagai. Taip pateiktų antigenų atpažinimas skiriasi atitinkamai CD8+ ir CD4+ T limfocitams. Pagal šias membranoje ekspresuojamas

molekules T ląstelės skiriamos į dvi subpopuliacijas: CD4+ T limfocitus, dar kitaip vadinamus T helperiais (Th) ir CD8+ T limfocitus – citotoksinius T limfocitus (Tc) (Parkin ir Cohen, 2001).

a) CD4+ T limfocitai po aktyvavimo ir diferencijavimo į skirtingus efektorinius subtipus atlieka svarbų vaidmenį imuninio atsako reguliavime, sekretuodami specifinius citokinus. CD4+ T ląstelės atsakingos už įgimtos imuninės sistemos ląstelių, B limfocitų, Tc ląstelių aktyvinimą bei slopinimą (Luckheeram *et al.*, 2012). Šiuo metu yra atrasti šie CD4+ T limfocitų tipai, kurie skiriasi funkcijomis, savo paviršiaus žymenimis ir sekretuojamais citokinais bei chemokinais: Th1, Th2, reguliaciniai T limfocitai (Treg), Th17, Th3, Th9, Th22, folikuliniai helperiai Tfh,  $\gamma\delta$  T ląstelės. Th1 ląstelės tarpininkauja imuniniame atsake prieš viduląstelinius patogenus, - žmonėms jie ypač svarbūs mikobakterinių infekcijų atsparumui, tačiau gali sukelti autoimunines ligas. Th1 ląstelių pagamintas INF- $\gamma$  svarbus aktyvinant makrofagus, IL-2 atsakingas už CD4+ T ląstelių imuninę atmintį (Zhu ir Paul, 2008). Th2 limfocitai saugo šeimininko organizmą nuo ekstraląstelių alergenu ar parazitų, tokių kaip helmintai, jie susiję su alerginių ligų ir astmos indukcija. Th2 ląstelės gamina IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13, IL-25. IL-4 yra teigiamo grįžtamojo ryšio citokinas, tad esant Th2 ląstelių diferencijacijai, jis taip pat yra ir pagrindinis IgE sintezės ir imunoglobulinų klasės perjungimo tarpininkas B ląstelėse. Th2 ląstelės taip pat migruoja į plaučių ir žarnyno audinius, kuriuose pritraukia eozinofilus (per IL-5 sekreciją) ir putliąsias ląsteles (angl. *mast cells*) (per IL-9). Tai sukelia audinių eozinofiliją ir putliųjų ląstelių hiperplaziją. Treg ląstelės svarbios organizmo savų antigenų tolerancijoje, - šių ląstelių kiekio sumažėjimas didina autoimuninių ligų, alergijų, tačiau padidėjęs Treg limfocitų skaičius sukelia imunosupresines būkles, vėžio atsiradimo riziką. Šios ląstelės atpažįstamos pagal CD25+ ir transkripcijos faktorių Foxp3+ (Josefowicz *et al.*, 2012).

b) CD8+ T efektorinės ląstelės yra atsakingos už virusais, bakterijomis, pirmuonimis infekuotų ląstelių pašalinimą, sunaikina pakitusias nuosavas ir vėžines žmogaus ląsteles (Schenkel *et al.*, 2013), pažeistose ląstelėse sukelia apoptozę (Kurioka *et al.*, 2015). Tai lemia nuo perforinų priklausomas serininių proteazių, vadinamų granzimais, išskyrimas į ląstelės taikinio citoplazmą. Pirmiausia perforinai ląstelės membranoje sudaro poras, pro kurias patenka granzimai, jie gali aktyvinti infekuotas ar patologinės ląstelės kaspazių kaskadą, taip sukeldami ląstelės žūtį (Voskoboinik *et al.*, 2015).

1.c.) **NK ląstelės** – sveiko žmogaus kraujyje sudaro 5 – 15% visų limfocitų (French ir Yokoyama, 2004). Tai įgimtos imuninės sistemos ląstelės, kurios dalyvauja nespecifiniame citotoksiniame atsake prieš patogenais infekuotas ląsteles. Ląstelės žudikės turi unikalų gebėjimą atpažinti ir lizuoti ląsteles taikinius be išankstinio antigenų pateikimo, t.y. atpažįsta ląsteles, neekspresuojančias MHC I klasės molekulių. Jos svarbios virusais infekuotų ląstelių

kontrolėje. Pacientai, kurie turi genetines mutacijas susijusias su NK ląstelių kiekio sumažėjimu, kenčia nuo pakartotinių herpes, vėjaraupių ir papilomos virusų infekcijų (Lam ir Lanier, 2017). Ląstelės žudikės atpažįstamos pagal CD16 ir CD56 (adhezijos molekulės) ląstelių žymenis (Spits *et al.*, 2016). CD16 (FcγRIII) – tai NK ląstelių receptorius, kuris dalyvauja nuo antikūnų priklausomame ląstelių citotoksiškume (Jiang *et al.*, 2016), šis ląstelių tipas dideliais kiekiais išskiria INF-γ ir IL-12, kurie aktyvina T limfocitus, makrofagus (Spits *et al.*, 2016). CD56 – tai paviršinis ląstelių receptorius dalyvaujantis patogeno atpažinime. NK ląstelės, kaip ir CD8+ T limfocitai sekretuoja perforinus ir granzimus, taip sukeldami ląstelės apoptozę (Poli *et al.*, 2018).

1.d.) **Dendritinės ląstelės** – tai antigeną pateikiančios ląstelės, kurių pagrindinė funkcija yra pateikti antigeną T ląstelėms. Šios ląstelės vaidina tarpinį vaidmenį tarp įgimto ir įgyto imuniteto. Jos randamos tose organizmo vietose, kur yra kontaktas su aplinka – odoje (čia jos vadinamos Langerhanso ląstelėmis (angl. *Langerhans cells*)), nosyje, plaučiuose, skrandyje ir žarnyne (McKenna *et al.*, 2005).

2.) **Granulocitai** – tai didžiausia baltųjų kraujo ląstelių grupė, kuri yra atsakinga už didesnių patogeninių organizmų naikinimą, tokių kaip pirmuonys ar helmintai. Jie svarbūs kovojant su alerginėmis reakcijomis ir kitomis uždegiminėmis būklėmis. Granulocitų branduoliui būdingas skiltėtumas, todėl jos dažnai vadinamos daugiabranduolėmis (polimorfonuklearinėmis) ląstelėmis (Encyclopaedia Britannica, britannica.com). Šių ląstelių citoplazma gausiai grūdėta ir turi sekrecinių pūslelių bei lizosomų, kuriose kaupiasi stiprios cheminės medžiagos, reikalingos nespecifiniam imuniniam atsakui. Granulės laboratorijoje dažomos hematoksilinu ir eozinu (Skinner ir Johnson, 2017), pagal šių granuliu ir organelių morfologiją ir dažymą, skiriamos trys granulocitų kategorijos: neutrofilai, bazofilai ir eozinofilai (Beenhouwer DO, 2018).

2.a.) **Neutrofilai** – tai didžiausia granulocitų grupė, sukelianti uždegimą – jie sudaro net 50-80 % visų baltųjų kraujo ląstelių (Encyclopaedia Britannica, britannica.com). Tai įgimtos imuninės sistemos dalis. Polimorfonukleariniai neutrofilai gaminami kaulų čiulpuose ir cirkuliuoja kraujyje prieš patenkant į audinius, kur vykdoma pagrindinė jų funkcija. Kraujo apykaitoje neutrofilai išlieka 7 – 10 valandų, o audiniuose – 1 – 2 dienas. Daugelio neutrofilų branduolys turi 2 – 5 skiltis, kurios atskiriamos plona gija. Citoplazmoje randama ribosomų, mitochondrijų, glikogeno ir įvairių tipų granuliu. Tik pirminės ir azurofilinės granulės matomos šviesiniu mikroskopu, kurias sudaro mieloperoksidazė, lizocimas, neutrofilų elastazė, defensinai ir katepsinas G. Prieš patenkant į uždegimo židinį vyksta jų marginacija – priartėjimas prie kraujagyslės sienelės ir adhezija – prilipimas, vėliau jie migruoja per endotelį – stebima transmigracija ir galiausiai šios ląstelės juda intersticiniu audiniu link chemotaksinio

dirgiklio (Bain BJ, 2017). Patekę į uždegimo vietą, neutrofilai atlieka savo esminę funkciją – fagocitozę, pagrindinis jų taikiny – bakterijos ir kiti mikroorganizmai. Šie granulocitai tarsi praryja bakterijas ir sudaro smulkias pūsleles – fagosomas (angl. *phagosomes*). Sužadinti neutrofilai aktyvuoja NADPH oksidazę (NOX2), kuri skatina superoksido gamybą, šis virsta vandenilio peroksidu, o jį panaudoja mieloperoksidazė ir susidaro mikrobicidiniai oksidantai. Jie sugeba modifikuoti ekstraląstelinius taikinius ir daro įtaką kaimyninėms ląstelėms (Winterbourn *et al.*, 2016). Neutrofilų serino proteazės, kurių neutrofilai turi savo granulėse, tiesiogiai sunaikina mikrobus ir inaktyvuoja bakterinius toksinus. Pernelyg dideli audinių pažeidimai ir uždegimas, kurį sukelia nekontroliuojamas šių proteazių aktyvumas, yra kompensuojami endogeninių serino proteazių slopiklių (Kruger *et al.*, 2015).

2.b.) **Eozinofilai**, kaip ir neutrofilai, yra įgimtos imuninės sistemos ląstelės, kurios sudaro labai mažą visų kraujyje cirkuliuojančių leukocitų dalį (< 5%). Didžioji dalis jų randama audiniuose (Weller ir Spencer, 2017). Polimorfonukleariniai eozinofilai yra šiek tiek didesni už neutrofilus, branduolys paprastai dviskiltis, taip pat turi acidofilinių granulių. Dėl afiniškumo eozino komponentams, šios ląstelės dažosi ryškiai rožine spalva. Be granulių, silpnai bazofilinėje citoplazmoje yra daug glikogeno dalelių ir daug daugiau bei didesnių mitochondrijų nei neutrofiluose, taip pat ląstelėse randamas šiurkštusis endoplazminis tinklas. Granulės turi kristalinę šerdį, susidedančią iš pagrindinių eozinofilinių baltymų, kurią gaubia matriksas, sudarytas iš eozinofilų katijoninio baltymo, eozinofilų peroksidazės, plazminogeno, ribonukleazės, deoksiribonukleazės ir lipazės (Bain BJ, 2017). Šių granulocitų tipo gyvavimo trukmė yra apytiksliai 1 diena kraujo cirkuliacijoje ir 5 – 8 dienos audiniuose. Chemotaksinės medžiagos, traukiančios eozinofilus į audinius – eotaksinai (angl. eotaxin) (Geering *et al.*, 2013). Šių granulocitų pagrindinė funkcija – parazitų naikinimas, taip pat jie susiję ir su alerginiu uždegiminiu atsaku (Alberts *et al.*, 2002). Eozinofilai turi Fc receptorių imunoglobulinui E (IgE), tai leidžia jiems atpažinti ir prisijungti daugialąstelinius organizmus, padengtus IgE. Sužadinti eozinofilai išleidžia toksiškas granules, kuriose yra tiek destruktivių fermentų, tiek vazoaktyvių medžiagų (Beenhouwer DO, 2018). Šių ląstelių neurotoksinas ir ribonukleazės turi antivirusinių savybių (Bain BJ, 2017).

2.c.) **Bazofilai** yra rečiausia granulocitų populiacija ir sudaro mažiau nei 1% periferinių kraujo leukocitų. Granulės dažosi bazofiliniais dažais ir įgauna tamsiai violetinę spalvą, todėl dažnai maskuoja net branduolį, kuris paprastai yra dviskiltis (Eberle ir Voehringer, 2016). Be granulių, citoplazmoje yra išsklaidytų glikogeno dalelių, Goldžio kompleksas, keletas mitochondrijų ir nedidelis kiekis šiurkštaus endoplazminio tinklo (Bain BJ, 2017). Iš pradžių buvo manoma, kad bazofilai yra putliųjų ląstelių pirmtakai arba cirkuliuojantys jų giminaičiai, nes ši granulocitų populiacija turi panašias funkcijas ir fenotipą su audiniuose randamomis

putliosiomis ląstelėmis. Kaip ir putliosios ląstelės, bazofilai turi didelio afiniškumo receptorių FcεRI IgE ir jie aktyvuojami kryžminės reakcijos metu (Eberle ir Voehringer, 2016), tačiau bazofilai pilnai subręsta kaulų čiulpuose ir fiziologinėmis sąlygomis cirkuliuoja kaip kraujo ląstelės. Tuo tarpu putliosios ląstelės galutinai subręsta tik periferiniuose audiniuose (Metcalf *et al.*, 2016). Taip pat, bazofilų gyvavimo trukmė yra apie 2 – 3 dienos, o putliosios ląstelės audiniuose gyvuoja ilgą laiką (Kubo M, 2018). Bazofilai turi fagocitinį aktyvumą ir gali degranuluoti, kai IgE prisijungia prie specifinio membranos receptoriaus, jie apsaugo organizmą nuo helmintų ir taip pat dalyvauja alerginėse, lėtinio uždegimo reakcijose, anafilaksijoje. Bazofilai išskiria histaminą, serotoniną, hepariną, proteolitinius fermentus, IL-4 ir IL-3. Histaminas atsakingas už kraujo tekės gausėjimą, jis aktyvuojamas sujungiant keturis su G baltymu susijusius receptorius: H1R, F2R, H3R ir H4R. H1R ir H2R aktyvinimas dažniausiai susijęs su alerginėmis reakcijomis, o H4R siejamas su alerginiu atsaku, uždegimu ir autoimuniniais sutrikimais (Borriello *et al.*, 2017). Heparinas – neigiamą krūvį turintis polisacharidas, turintis antikoaguliacinių savybių taip pat sukelia chemotakšį į degranuliacijos vietą (Powell *et al.*, 2004).

3.) **Monocitai** yra didžiausios periferinio kraujo ląstelės ir sudaro apie 4 – 8% visų kraujyje cirkuliuojančių leukocitų (Encyclopaedia Britannica, britannica.com). Kraujyje jie cirkuliuoja 1 – 3 dienas, tuo tarpu jų diferenciacijos produktų gyvenimo laikas audiniuose ilgas (Jung S, 2018). Jų citoplazma pilkšvai mėlynos spalvos, turinti smulkių azurofilinių granulų ir dažnai vakuolių, taip pat randamos glikogeno dalelės, mitochondrijos, aktyvus Goldžio kompleksas ir trumpas endoplazminis tinklas, branduolys dažniausiai apvalus. Ši leukocitų populiacija dalyvauja įgimtame imuniniame atsake (Bain BJ, 2017). Kaip ir neutrofilai, monocitai atlieka fagocitinę funkciją, jie išlaiko proliferacinį pajėgumą ir po migracijos į audinius, diferencijuoja į makrofagus ir kitas specializuotas retikuloendotelio sistemos ląsteles, dendritines ląsteles ir osteoklastus (Gordon S, 2016). Mononukleariniai kraujo ir audinių fagocitai išgyvena daug ilgiau nei neutrofilai, ši fagocitų savybė yra kliniškai labai svarbi, nes tai apsaugo pacientus nuo mirtinų infekcijų rizikos, kai neutrofilų gamyba yra laikinai nutraukta, pavyzdžiui, taikant chemoterapinį vėžinių ląstelių gydymą, ar esant kamieninių ląstelių transplantacijai (Dale *et al.*, 2008). Žmogaus kraujyje cirkuliuoja trys pagrindiniai monocitų potipiai: 1) monocitai, ekspresuojantys didelį kiekį CD14 paviršiaus receptoriaus molekulių (CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup>); 2) monocitai, kuriuose stebima CD14<sup>+</sup> ir CD16<sup>++</sup> koekspresija; 3) monocitai, kuriuose stebima CD14<sup>++</sup> ir CD16<sup>+</sup> koekspresija. Be fagocitozės ir mikroorganizmų žudymo, monocitai yra profesionalios antigeną pateikiančios ląstelės ir taip dalyvauja limfocitų parinkime ir aktyvavime. Jie išskiria IL-1, IL-6, IL-12, TNF-α, IFN-α, IFN-β ir taip didina uždegiminį atsaką

(Bain BJ, 2017). Ši leukocitų populiacija pasižymi ir reguliacine funkcija, būtina audinių atstatymui (Guilliams *et al.*, 2018).

### 1.3. Kraujo ląstelių tyrimo technologijos

Kraujo tyrimai suteikia itin svarbią informaciją apie organizmo sveikatos būklę, padeda diagnozuoti įvairias ligas dar ankstyvoje stadijoje ir parinkti tinkamą gydymą. Dažniausiai atliekamas pirminis, profilaktinis laboratorinis bendras automatizuotas kraujo tyrimas (BKT), kuris atspindi visų kraujo forminių elementų kiekį, dydį, formos nukrypimus. Radus BKT pakitimų, rodiklių nuokrypį nuo pamatinių biologinių verčių intervalo, norint patikrinti automatizuotų analizatorių veikimo kokybę, verifikuoti BKT rezultatą ar pacientui patiriant tam tikrus simptomus, atliekamas periferinio kraujo ląstelių citomorfologinis tyrimas.

#### 1.3.1. Bendras kraujo tyrimas

Bendras kraujo tyrimas (BKT) – tai dažniausiai užsakomas laboratorinis testas, kuris suteikia naudingos informacijos apie skirtingų ląstelių ir neląstelių elementų koncentraciją kraujyje. Anksčiau visi kraujo rodikliai buvo nustatomi rankiniu būdu, todėl būdavo svarbu ne tik smulkiai žinoti dažymo bei mikroskopavimo subtilybes, bet ir išmanyti aritmetiką. Tačiau pasaulyje sparčiai vystantis inovacijoms, dabartinės laboratorijos turi modernius hematologinius analizatorius, kuriais skaičiuojamas ląstelių skaičius yra žymiai didesnis, negu tai būtų įmanoma dirbant rankiniu būdu. Dėl šios priežasties kiekybiniai automatizuoto BKT rezultatai yra statistiškai patikimesni ir tikslesni. Naudojant hematologinius analizatorius sumažėjo laiko, reagentų sąnaudos, dėl žmogiškojo faktoriaus – rezultatų variacijos ir padidėjo darbo našumas (Hutson ir Johnson, 2013). Automatizuoto BKT metu paciento kraujyje nustatomi absoliutūs eritrocitų, trombocitų ir leukocitų kiekiai ir santykiniai jų dydžiai. Be to, automatizuoti hematologiniai analizatoriai geba apskaičiuoti raudonųjų kraujo ląstelių rodiklius: vidutinį eritrocitų tūrį (angl. *mean corpuscular volume (MCV)*), vidutinį eritrocitų hemoglobino kiekį (angl. *mean corpuscular hemoglobin (MCH)*), vidutinę eritrocitų hemoglobino koncentraciją (angl. *mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC)*) ir eritrocitų pasiskirstymo plotis (angl. *red cell distribution width (RDW)*) (Buttarelo ir Plebani, 2008). Jie taip pat matuoja hemoglobino ir hematokrito koncentracijas paciento kraujyje (Greer *et al.*, 2009). Galiausiai, automatizuoti hematologiniai analizatoriai geba diferencijuoti leukocitų subpopuliacijas – normaliomis sąlygomis leukocitų populiaciją išdiferencijuoja į penkias ląstelių klases (limfocitai, neutrofilai, eozinofilai, bazofilai ir monocitai) ir daugiau.

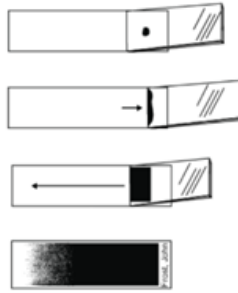
Priklausomai nuo to, kelių dalių leukogramą skaičiuoja analizatorius, jis gali išskirti arba penkias baltųjų kraujo ląstelių dalis, arba tris: mažųjų leukocitų grupę (limfocitai), vidutinio dydžio limfocitų grupę (monocitai, eozinofilai ir bazofilai) ir didžiųjų leukocitų grupę (neutrofilai) (Greer *et al.*, 2009).

Automatizuoti šiuolaikiniai hematologiniai analizatoriai remiasi trimis fiziniais analizės metodais: elektrine varža, optine šviesos sklaida ir fluorescencija, jie naudojami kartu su cheminiais reagentais, kurie lizuoja arba modifikuoja kraujo ląsteles, kad išryškintų matuojamus parametrus. (Labcompare, labcompare.com). Modernūs analizatoriai tyrimo atsakyme gali pateikti įspėjimus (angl. *flags*) apie kraujo elementų nuokrypius nuo pamatinio biologinio verčių intervalo, o tokiais atvejais gali reikėti verifikuoti BKT rezultato teisingumą tiriant citomorfologinį periferinio kraujo ar kaulų čiulpų tepinėlį (Steele *et al.*, 2001).

### **1.3.2. Citomorfologinis kraujo tepinėlis**

Citomorfologinio tyrimo metu yra vertinami mikroskopiniai įvairių ląstelių pokyčiai. Šis tyrimas suteikia galimybę tiksliai įvertinti kraujo pakitimus, taip pat padeda įvertinti kraujo forminių elementų gamybą bei brendimą prieš onkologinių ligų gydymą ar jų gydymo metu. Kaip jau minėta, tyrimas dažniausiai yra atliekamas po pirminio BKT, nustačius tam tikrus kraujo rodiklių pokyčius ar skiriant tyrimą dėl tokių simptomų, kaip silpnumas, nuovargis, gelta, karščiavimas, dažnas kraujavimas iš nosies, blužnies padidėjimas, kaulų skausmas, įtariamasis organų nepakankamumas (inkstų, kepenų), esant hiperviskoziškumo sindromo simptomams, sepsiui, parazitinėms infekcijoms ir kt. (Asociacija Kraujas, kraujas.lt; American Association for Clinical Chemistry, labtestsonline.org).

Tepinėliai ruošiami ant švaraus ir sauso objekcinio stiklelio ant kurio užlašinamas EDTA antikoaguluotas kraujo lašas, tuomet 40 - 45° kampu priglaudžiamas kitas objekcinis stiklėlis su šlifuoju kraštu, palaukiama kol kraujo lašas pasklinda po visą stiklelio briaunos ilgį, tuomet greitai judesiu šlifuoju stikleliu perbraukiama į priekį (1.3. pav.). Svarbu padaryti geros kokybės tepinėlį, kitu atveju ląstelės gali būti deformuotos ir bus sunku jas kokybiškai įvertinti, tad rekomenduojama kiekvienam pacientui padaryti bent po du tepinėlius.



**1.3. pav.** Kraujo tepinėlio paruošimas. Šaltinis: free-ed.net.

Citomorfoliginis kraujo tepinėlis prieš vertinant mikroskopu, dažomas Romanowskio metodo modifikacija – Pappenheimo dažymu, kuris padeda išryškinti ląstelių bazofilines ir acidofilines struktūras (citoplazmos spalvą, grūdėtumą, branduolio segmentų skaičių ir pan.). Skaičiuojamos ir vertinamos kraujo ląstelės – jų išvaizda, forma, dydis ir joms būdingi įvairūs pokyčiai, taigi yra atliekamas tiek kiekybinis (kiek yra pakitusių ląstelių), tiek kokybinis (kaip pakitusios ląstelės) vertinimas (Hegde *et al.*, 2018). Pagal tai, kokios ląstelės aprašomos, tepinėlio vertinimą galima suskirstyti į tris pagrindines dalis (Asociacija Kraujas, kraujas.lt; American Association for Clinical Chemistry, labtestsonli-ne.org):

- 1) Eritrocitų vertinimas – stebimas ne tik jų dydis ir forma, bet analizuojamas ir hemoglobino pasiskirstymas, intarpai esantys ląstelių viduje. Svarbu vertinti šias ląsteles, nes gaunama itin svarbi informacija apie kaulų čiulpų ligų sukeltus pokyčius, anemijas, hemoglobino struktūros pokyčius (pjautuvinė anemija), leukemijas bei mieloproliferacines ir mielodisplazines neoplazmas;
- 2) Trombocitų vertinimas – stebimas jų skaičius, dydis ir išvaizda. Dydžio pokyčiai gali signalizuoti apie šių ląstelių brendimo sutrikimus ar pažeistą kraujodarą, pavyzdžiui itin dideli trombocitai būna sergant mieloproliferacine neoplazma ar imunine trombocitopenija;
- 3) Leukocitų vertinimas – analizuojamas jų skaičius ir išvaizda. Šių ląstelių morfologinė interpretacija ypač svarbi leukemijų bei limfomų išplitimo į kraują diagnozei, taip pat blastų kraujyje nustatymui.

Taigi, šiuolaikiniame inovacijų pasaulyje, žmogiškasis faktorius vis dar atlieka svarbų vaidmenį – yra neatsiejama laboratorinių tyrimų dalis, todėl šio tyrimo įvertinimo rezultatai gali varijuoti tarp skirtingų laboratorijų, nes priklauso nuo vertintojo įgūdžių bei patirties. Kadangi tyrimas užtrunka ilgai, daugelis tyrėjų bando įvesti automatizuotą kraujo ląstelių vertinimą, pasitelkiant skaitmeninį vaizdo apdorojimą kaip tyrimo atsakymo pagalbinę sistemą (Hegde *et al.*, 2018). Nors automatinės sistemos geba identifikuoti pakitusias ląsteles, tačiau kol kas nėra galimybės pakitimus galutinai ir patikimai suklasifikuoti, - jokia sistema negebą specifiškai



įvertinti visų forminių elementų variacijų, pavyzdžiui ląstelių fragmentų ir trombocitų sankaupų, jas gali neteisingai priskirti ir paskaičiuoti kaip leukocitus, klaidingai padidindami jų bendrą skaičių, o laboratorijos darbuotojai geba tiksliai ir tinkamai atpažinti ir identifikuoti šiuos ir kitus pakitimus (Adewoyin *et al.*, 2014).

#### **1.4. Bendro kraujo tyrimo problematika**

Bendras automatizuotas kraujo tyrimas galėtų būti dažnai naudojamas atlikti greitą sveikatos patikrą (angl. *screening*) – patikrinti ir įvertinti bendrą paciento sveikatos būklę. Šis tyrimas yra pakankamai pigus, greitas, lengvai atliekamas ir minimaliai invazyvus, todėl puikiai tinka patologijos paieškai (skriningui). Daugiau nei trečdalis Jungtinių Amerikos Valstijų šeimos gydytojų mano, jog BKT sveikatos priežiūroje turi būti atliekamas rutiniškai kiekvienam pacientui (Prochazka *et al.*, 2005), tačiau šis tyrimas užsakomas 25 – 37 % apsilankiusiems įprastiniam vizitui pacientų (Merenstein *et al.*, 2006). Teoriškai, bendras kraujo tyrimas gali būti naudojamas patologijos paieškai, tokių ligų kaip anemijai, trombocitopenijai, autoimuniniams susirgimams, kaulų čiulpų patologijoms, širdies ligoms, onkologiniams susirgimams, plaučių ligoms ar infekcijai bei uždegimui nustatyti. Tačiau šis tyrimas nėra tinkamas galutinei diagnozei nustatyti, jis naudingas tik tokiu atveju, kai suteikia pridėtinės vertės, t.y. papildomą diagnostinę informaciją (Health Testing Centers, [healthtestingcenters.com](http://healthtestingcenters.com)). Dar 1992 m. buvo atliktas mokslinis tyrimas, kuriuo remiantis padaryta išvada, jog rutiniškai atliekant BKT retai nustatomos kliniškai reikšmingos problemos (Ruttimann *et al.*, 1992). Pastebėta, kad daugelis už pamatinių biologinių verčių intervalo gautų BKT rezultatų yra klaidingai teigiami, o tai lemia kitų patvirtinančių tyrimų užsakymą, kurie yra invazyvūs ir sukelia pacientui fizinės žalos riziką (Lin *et al.*, 2007). Tačiau esant kai kuriems hematologiniams sindromams Amerikos Vėžio Tyrimų Asociacija (angl. *American Association for Cancer Research*) rekomenduoja atlikti rutininį BKT rezultatų stebėjimą, kuris padeda identifikuoti ir sekti ligos raidą, bei leidžia parinkti ankstyvą hematopoezinių kamieninių ląstelių transplantaciją, tačiau tokio rutininio BKT sekimo laikas varijuoja nuo mėnesių iki kelių metų ar net ilgiau. Pediatrių hematologijos asociacijos nariai pripažino, kad jų rekomendacijos yra paremtos gydytojų nuomone bei patirtimi, todėl reikalingi klinikiniai tyrimai, kurie galėtų surinkti kuo daugiau duomenų ir informacijos apie sveikatos patikros rekomendacijas BKT pagalba, ypač pacientams su genetinė leukemijos ar kitų hematologinių susirgimų rizika (Schiffman *et al.*, 2017). Dar vienas svarbus aspektas yra didelės finansinės išlaidos: kadangi tyrimas daromas dažnai, išlaidos jam taip pat didėja. JAV rutininiai bendro kraujo ir šlapimo tyrimai žmogui kainuoja apie 80 JAV \$ per metus, o tai sudaro finansinę naštą pacientams,

kurių išlaidų medicininis draudimas, nesant specifinių sveikatos simptomų, nepadengia. Lietuvoje, gydytojui skyrus BKT apdraustiems pacientams, tyrimų išlaidas padengia valstybė, tačiau skaičiai išlieka labai dideli – naujausiais Higienos Instituto Sveikatos Informacijos Centro duomenimis 2016 m. laboratorinių ištyrimų buvo 26 243 163, iš kurių hematologinių buvo net 6 811 411.

Ligų Kontrolės ir Prevencijos Centras (angl. *The Centers for Disease Control and Prevention*), JAV Prevencinių Paslaugų Darbo Grupė (angl. *U.S. Preventive Services Task Force*) nerekomenduoja BKT naudoti rutininei patikrai pacientams, kurie neturi jokių simptomų (rutinines BKT patikras rekomenduotina atlikti tik nėštumo metu), nes tai nesumažina mirtingumo dėl to, kad sunkios ligos retai aptinkamos šiuo tyrimu (Allan *et al.*, 2017). Tai patvirtina šešiolikos klinikinių atsitiktinių imčių tyrimų apžvalga (angl. *randomized controlled trial*), kurioje nustatyta, jog keturiuose tokiuose tyrimuose periodiniai sveikatos patikrinimai BKT pagalba nesumažino mirtingumo (Krogsbøll *et al.*, 2012). Dar 1983 m. Rich EC., su kolegomis atliktas tyrimas atskleidė, jog iš 475-ių ambulatorinių pacientų, tik 11 % rezultatų buvo nukrypę nuo pamatinių biologinio verčių intervalo, tačiau šiems pacientams nebuvo diagnozuotos jokios besimptomės ligos. Atlikti ir kiti panašaus pobūdžio tyrimai, kuriuose pateikiamos išvados panašios.

Taigi, BKT turi būti skiriamas tikslingai, remiantis BKT patikros rekomendacijomis, kurios yra lengvai prieinamos kiekvienam gydytojui. Štai JAV Prevencinių Paslaugų Darbo Grupė sukūrė nemokamą programėlę skirtą gydytojams padėti nuspręsti ar tyrimas yra tikrai reikalingas sveikatos problemos patikrai (Agency for Healthcare Research and Quality, [epss.ahrq.gov](http://epss.ahrq.gov)). Kraujo tepinėlis naudojamas kaip kokybės kontrolės įrankis BKT ir retikulocitų skaičiaus rezultatams (Gulati *et al.*, 2002).

### **1.5. Citomorfologinio tepinėlio peržiūros kriterijai**

Žmogaus kraujo ląstelių analizė pradėta taikyti dar prieš 330 metų, kai A. Levenhukas pirmasis apibūdino raudonąsias kraujo ląsteles ir išmatavo jų diametrus. Tolimesnis mikroskopų vystymasis įgalino atpažinti ir apibūdinti ir leukocitus bei trombocitus, o visų ląstelių pasaulis tapo spalvotas kai P. Ehrlichas panaudojęs aniliną nudažė šias kraujo ląsteles. XX a. pirmojoje pusėje klinikoje skaičiuoti kraujo ląsteles buvo naudojami rankiniai metodai, o įvertinti ląstelių dydį ir morfologiją beveik visuomet buvo atliekama ir mikroskopinė analizė. 1956 m. W. Coulter pristatė pirmąjį automatizuotą analizatorių, kuris revoliucionavo hematologinius tyrimus. Nuo to laiko analizatoriai nuolat tobulinami, šiandien yra pripažinta jog automatinės hematologinės analizės sistemos yra itin tinkamos kraujo forminių elementų

skaičiavimui, tačiau kraujo tepinėlio mikroskopinės analizės suteikiamos kokybinės forminių elementų informacijos iki šiol niekam nepavyko pasiekti automatizuotu būdu.

Visi automatizuoti hematologijos analizatoriai generuoja patikimus bendro kraujo tyrimo rezultatus, kurie esant tam tikriems neatitikimams ar pokyčiams pažymimi ir tokiu būdu nurodoma, jog reikalinga peržiūra ir rezultatų patvirtinimas kitais metodais. Viena iš tokių technikų yra mikroskopinis tepinėlio vertinimas, - sprendimas ar reikalinga mikroskopinio tepinėlio peržiūra yra itin svarbus atsižvelgiant į hematologijos laboratorijos išlaidas, produktyvumą bei darbo greitį (Barnes *et al.*, 2005). Reikalavimai tepinėlių vertinimui buvo nustatyti 2002 m. Amerikos Patologų Koledžo (angl. *College of American Pathologists, CAP*) Laboratorinės Akreditacijos Komisijos (angl. *Commission on Laboratory Accreditation, CLA*), kuri reikalavo, kad kiekviena laboratorija turėtų kriterijų sąrašą prie kokių BKT pokyčių turi būti peržiūrimas ir vertinamas kraujo tepinėlis (Gulati *et al.*, 2002). Taip pat buvo ir kitų šalių rekomendacijų, tokių kaip Jungtinės Karalystės Nacionalinės Išorinės Kokybės Vertinimo Tarnybos (angl. *United Kingdom National External Quality Assessment Service, UK NEQAS*), Japonijos Laboratorinės Hematologijos Organizacijos (angl. *Japanese Society for Laboratory Hematology*) bei Australazijos Karališkojo Patologų Kokybės Vertinimo Programos Koledžo (angl. *Royal College of Pathologists of Australasia Quality Assessment Programs, RCPA QAP*) (Palmer *et al.*, 2015). Nors įrodymų, kad vienos organizacijos kriterijai yra geresni už kitų nebuvo, atkreiptinas dėmesys, jog standartizuotas kriterijų rinkinys sukurtas profesionalių organizacijų, tokių kaip anksčiau išvardintos, gali būti tinkamas ne visoms laboratorijoms, tad gali tarnauti tik kaip rekomendacijos. Iki toks kriterijų rinkinys tampa tinkamas laboratorijai dirbančiai su tam tikra pacientų populiacija, jos profesionalūs darbuotojai sprendimams priimti privalo kliautis savo žiniomis bei patirtimi. Tad iki 2005 m. dauguma laboratorijų turėjo savo individualius nusistatytus tepinėlio peržiūros kriterijus, tačiau, siekiant sumažinti nereikalingų kraujo tepinėlių peržiūrą ir norint sukurti tarptautinio masto standartizuotus kraujo citomorfologiniams tepinėliams kriterijus tirti, Dr. Berend Houwen 2002 m. kartu su dar dvidešimt ekspertų diskutavo apie pagrindines tepinėlių peržiūros klaidas ir nustatė pagrindinius kriterijus tepinėlių vertinimui, kurie buvo patikrinti šešiose šalyse septyniolikoje laboratorijų pasitelkiant 13298 kraujo mėginius. Po detalios duomenų analizės tepinėlių peržiūros kriterijai buvo išgryninti ir 2005 metais Tarptautinė Laboratorinės Hematologijos Draugija (TLHD) (angl. *International Society For Laboratory Hematology, ISLH*) paskelbė 41-ą taisyklę, kuriomis turėtų vadovautis dauguma hematologinių laboratorijų visame pasaulyje (Pratumvinit *et al.*, 2013).

## 2. MEDŽIAGOS IR METODAI

### 2.1. Medžiagos

Tyrimo imtis – 2018 – 2019 m. Vilniaus universiteto ligoninės Santaros Klinikose (VULSK) tirtų 7877 pacientų automatizuoto bendro kraujo tyrimų (BKT) rezultatai. Atrinkti ir išanalizuoti 925 užsakovo sprendimu paskirtų citomorfologinių kraujo tepinėlių ir tų pačių pacientų automatizuoto BKT rezultatai. Papildomai atrinkta ir išanalizuota po 240 užsakovo sprendimu paskirtų citomorfologinio kraujo tepinėlio ir automatizuoto BKT tyrimų duomenys iš reanimacijos – intensyvios terapijos skyrių ir hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos. Automatizuoto BKT ir užsakovo sprendimu paskirtų citomorfologinių kraujo tepinėlių tyrimo rezultatai suvesti į duomenų lenteles ir palyginti.

#### 2.1.1. Reagentai

Darbo metu naudoti reagentai pateikiami 2.1 lentelėje.

2.1 lentelė. Darbo metu naudojami reagentai.

Reagentai
May – Grünwaldo modifikuotas eozino-metileno mėlio tirpalas, laikomas 15 – 25°C
Giemsos azuro – eozino – metileno mėlio dažai, laikomi 15 – 25°C
Buferio tabletės buferiniam tirpalui (pH 7,2) pagal Weistą, 100 tablečių, laikoma 15 – 25°C
Distiliuotas vanduo

### 2.2. Metodai

Darbo eiga išskiriama į kelis etapus:

- Kraujo paėmimas ir automatizuota analizė hematologiniu analizatoriumi;
- Kraujo tepinėlio citomorfologijos vertinimas šviesiniu mikroskopu;
- Statistinis rezultatų apdorojimas bei analizė.

### 2.2.1. Kraujo analizė hematologiniu analizatoriumi

Pacientų kraujas imtas standartinėmis sąlygomis, venos punkcijos būdu į 5 ml vakuuminius Vacutainer mėgintuvėlius su antikoaguliantu K<sub>3</sub> – EDTA (BD, JAV). Kraujo ėmimo metu buvo laikomasi tokių rekomendacijų: buvo draudžiama gniaužyti kumštį, oda ties dūrio vieta dezinfekuota ir leista dezinfektantui pilnai nudžiūti, timpa buvo laikoma ne ilgiau kaip minutę, mėgintuvėlis užpildytas ±10 % nurodyto tūrio, kad būtų tinkamas kraujo ir antikoagulianto santykis bei jis švelniai pavartytas (8 – 10 kartų), stengiantis smarkiai nepurtyti, kad ląstelės nebūtų pažeistos. Ėminiai pristatyti į laboratoriją 18 – 25 °C temperatūroje, per 2 val. nuo paėmimo, siekiant išvengti didesnių temperatūros pokyčių.

Laboratorijoje ėminiai identifikuoti, registruoti, taip pat įvertinta jų kokybė – ar tinkamas kraujo tūris vakuuminiame mėgintuvėlyje, ar nėra hemolizės bei krešulio požymių. Su visais mėginiais elgtasi kaip su galimai infekuota biologine medžiaga – tyrimo metu buvo laikomasi saugumo priemonių: vilkimas laboratorinis chalatas, dėvimos vienkartinės guminės pirštinės. Visi mėginiai buvo tiriami automatiniais hematologiniais analizatoriais Sysmex XE-5000 (Sysmex Corporation, Japonija) ir UniCel DxH 800 (Beckman Coulter, JAV).

Duomenys analizuoti remiantis 2005 m. TLHD (toliau tekste – 2005 m. kriterijai) ir 2002 m. Gulati GL ir bendraautorių publikuotame straipsnyje (toliau tekste – 2002 m. kriterijai) pateiktais kiekybiniais tepinėlių peržiūros kriterijais (žr. 1 priedas). Duomenys taip pat analizuoti pasitelkus ir kokybinius rodiklius, kuriuos sugeneravo analizatorius. Analizatoriaus pateikti rodikliai yra:

- a. Blastas (angl. *Blast*) – tai nesubrendęs kraujo ląstelės pirmtakas;
- b. Šistocitai/mikrocitiniai eritrocitai (angl. *RBC frag/micro*) – tai eritrocitai, kurie yra fragmentuoti, nereguliarios formos/nenormalaus dydžio, 5 μm ar mažesnio diametro;
- c. Dimorfinės eritrocitų populiacijos (angl. *Dymorphic reds*) – tai dvi cirkuliuojančios kraujyje eritrocitų populiacijos: viena jų – pagrindinė raudonųjų kraujo ląstelių forma, kita – skirtingus morfologinius požymius turintys eritrocitai. Šios dvi grupės histogramoje, gautoje automatizuotu hematologiniu analizatoriumi, stebimos kaip dvi kreivės viršūnės. Tokia būseną pasitaiko kraujo transfuzijų, mielodisplazijos, eritropoetino terapijos metu;
- d. „Nuokrypis į kairę” (angl. *Left shift*) – periferinio kraujo sudėtyje galimai padidėjęs nesubrendusių leukocitų kiekis;
- e. Reakciniai limfocitai (angl. *Variant LY*) – tai citotoksiniai CD8<sup>+</sup> limfocitai, dar kitaip vadinami variantiniais limfocitais, kurie tampa dideli dėl antigenų stimuliacijos. Paprastai jie gali būti didesni nei 30μm skersmens ir skirtis savo forma;

- f. Nesubrendę granulocitai (angl. *Immature Granulocytes*) – tai nesubrendusių neutrofilų, eozinofilų ir bazofilų padidėjimas periferinio kraujo sudėtyje;
- g. Trombocitų nuolaužos (angl. *Platelet Inter*) – tai trombocitų dalys po jų apoptozės ar lizės;
- h. Gigantiniai trombocitai (angl. *Giant platelets*) – tai neįprastai dideli trombocitai, susiję su trombocitopenija ir polinkiu kraujuoti, negalintys tinkamai prikibti prie pažeistų kraujagyslių sienelių. Gigantiniai trombocitai atsiranda dėl paveldimų ligų, tokių kaip Bernardo-Soulierio (angl. *Bernard-Soulier*) sindromo ar May-Hegglin anomalijos.

### 2.2.2. Kraujo tepinėlio citomorfologijos vertinimas šviesiniu mikroskopu

Norint vertinti kraujo tepinėlį šviesiniu mikroskopu, reikalingas kruopštus tepinėlio paruošimas, t.y. pirmiausiai paruošiamas Giemso azuro – eozino – metileno mėlio tirpalas: į 10 ml buferio įlašinama 10 lašų azuro – eozino – metileno mėlio dažų ir švelniai sumaišoma sukamaisiais judesiais, kol susidaro homogeniškas, be jokių nuosėdų tirpalas. Tuomet paruošiamas buferio tirpalas (pH 7,2): 1 litre distiliuoto vandens ištirpinama 1-a buferio tabletė.

Kraujo tepinėliai daromi ant švartų ir sausų objektinių stiklelių. Stiklelio gale 1 – 1,5 cm. nuo krašto užlašinamas kraujo lašas, tuomet į priekį nuo lašo 40 – 45° kampu priglaudžiamas kitas objektinis stiklelis su šlifuotu kraštu ir palaukiama kol kraujo lašas pasiskirstys per visą stiklelio briaunos ilgį. Pasklidus kraujo lašui, stiklelis šlifuotais kraštais staigiu judesiu braukiamas per objektinį stiklelį, paliekant apie 1 – 1,5 cm iki objekcinio stiklelio galo. Toks kraujo tepinėlis džiovinamas kambario temperatūroje, o pilnai išdžiūvus, tepinėlis dažomas Pappenheimo būdu, naudojant prieš tai paruoštus tirpalus. Pirmiausiai ore išdžiūvęs tepinėlis fiksuojamas 3 min. pamerkiant jį į neskiestą May – Grünwaldo tirpalą. Tuomet tepinėlis yra gerai nuskalaujamas buferiniu (pH 7,2) tirpalu ir merkiamas į praskiestą Giemso azuro – eozino – metileno mėlio dažų tirpalą 20 min. Dažai susideda iš rūgštinės ir bazinės dalių, kurie atitinkamai yra afiniški baziniams (tokiems kaip citoplazma, granulės) ir rūgštinėms (tokiems kaip branduolys) kraujo ląstelių komponentams. Rūgštinę dažų dalį sudaro eozinas ir azuras, o bazinę – metileno mėlis. Praėjus nurodytam laikui, tepinėlis yra gerai nuskalaujamas tekančiu vandeniu ir džiovinamas kambario temperatūroje iki tol, kol galutinai išdžiūsta.

Kitas žingsnis, tai paruošto kraujo tepinėlio vertinimas atliekamas šviesiniu mikroskopu. Pirmiausiai tepinėlis apžiūrimas mažuoju (100x) padidiniu bei didžiuoju (400x) mikroskopo padidiniu – taip įvertinant kraujo tepinėlio dažymo kokybę bei ląstelių pasiskirstymą. Naudojant imersiją ir analizuojant tepinėlį su 1000x padidiniu, išsamiai vertinami tepinėlio forminiai elementai.

Taigi, automatizuoto BKT metu sugeneruoti rodikliai ir perspėjimai toliau lyginami su citomorfologinio tyrimo rezultatais, taikant 2005 m. ir 2002 m. peržiūros kriterijus ir mikroskopinio vertinimo rodiklius (žr.1 priedas):

- a. Akantocitai (angl. *acanthocytes*) – tai raudonųjų kraujo ląstelių forma, turinti spygliuotą ląstelių membraną. Jie randami esant kepenų ligoms, abetalipoproteinemijoms ir keletui neurologinių sutrikimų, tokių kaip anoreksija, idiopatinis naujagimių hepatitas, alkoholizmas, hipotirozė;
- b. Anizocitozė (angl. *anisocytosis*) – tai eritrocitų dydžio nuokrypis nuo pamatinių biologinių verčių intervalo, kuris yra 6–9 mm. Ji aptinkama sergant anemija. Klaidingai neigiamus rezultatus gali sukelti padidėjęs leukocitų skaičius, agliutinavę eritrocitai (angl. *agglutinated RBC*), eritrocitų fragmentai, gigantiniai trombocitai ar trombocitų sankaupos (angl. *platelet clumps*);
- c. Ašaros tipo ląstelės (angl. *tear drop cell*) – eritrocitai, kurie yra deformavęsi į kriaušės ar ašaros tipo formą, gali indukuoti anemiją, chroninę idiopatinę mielofibrozę ar kaulų čiulpų infiltraciją piktybinėmis ląstelėmis;
- d. Eliptocitai – (angl. *elliptocytes*) – tai neįprastos formos raudonieji kraujo kūneliai, dar žinomi kaip ovalocitai. Hemoglobinas šiuose eritrocituose yra susikaupęs pailgų ląstelių galuose. Pastarieji yra buki ir neaštrūs. Padidėjęs jų kiekis kraujyje siejamas su talasemija, geležies stoka, mielofibroze, megaloblastine anemija;
- e. Gigantiniai trombocitai (angl. *gigantic platelets*) – tai trombocitai, kurie kraujo tepinėlyje yra didesni nei eritrocitai. Siejami su Bernard – Soulier sindromu ir kt.
- f. Hipersegmentacija (angl. *hypersegmentation*) – tai reiškinys, kai granulocitų branduolio segmentų yra daugiau nei normos atveju. Pavyzdžiui, neutrofilų hipersegmentacija vadinama būseną, kai kraujyje pasitaiko ląstelių su šešiais ar daugiau branduolio segmentų arba, kai neutrofilų yra >3 %, kurie turi penkis branduolio segmentus. Tai stebima megaloblastinės anemijos atveju;
- g. Hipochromija (angl. *hypochromia*) – tai reiškinys, kai eritrocitai, stebint juos per mikroskopą, yra blyškesni nei normalūs. Taip dažniausiai nutinka esant nepakankamui pigmento hemoglobino kiekiui raudonosiose kraujo ląstelėse;
- h. Hiposegmentacija (angl. *hypossegmentation*) – tai neutrofilai su mažiau nei trimis branduolio segmentais, siejama su infekcijomis, chemoterapija;
- i. Ląstelės taikiniai (angl. *target cells*) – tai ląstelės, dar žinomos kaip kodocitai, kurios turi plazminės membranos perteklių, lyginant su ląstelių tūriu. Ląstelės taikiniai pastebimos esant splenektomijai;

- j. Makrocitai (angl. *macrocytes*) – tai didesni už įprastus eritrocitus (virš 9  $\mu\text{m}$  skersmens ir daugiau nei 95 fL tūrio), apvalios formos raudonieji kraujo kūneliai, siejami su lėtiniu alkoholizmu, kepenų ligomis;
- k. Mikrocitai (angl. *microcytes*) – tai mažesni nei 6  $\mu\text{m}$  skersmens eritrocitai, kurie būdingi kai kurioms anemijos formoms ir yra susiję su geležies stygiumi;
- l. Normoblastai (angl. *nucleated red blood cells*, NRBC) – tai eritrocitų pirmtakai, 10 – 15  $\mu\text{m}$  skersmens, kuriuose branduolys lokalizuotas prie pat membranos, gali būti siejami su leukemijomis, limfomomis;
- m. Poikilocitozė (angl. *poikilocytosis*) – tai netaisyklingos formos eritrocitai, gali būti stebimi esant anemijai;
- n. Polichromazija (angl. *polychromasia*) – tai sutrikimas, kai kraujotakoje randamas didelis kiekis nesubrendusių raudonųjų kraujo ląstelių, siejama su anemija;
- o. Sferocitai (angl. *spherocytes*) – tai apvali, sferinė, tankesnė nei įprastai, be centrinio prašviesėjimo raudonojo kraujo ląstelė. Gali būti randama sergant imunine hemolizine anemija;
- p. Stomatocitai (angl. *stomatocytes*) – tai eritrocitai, dažniausiai normocitiniai ir normochrominiai, tačiau centre turi plyšio formos prašviesėjimą, kuris jiems suteikia „kavos pupelės“ formos išvaizdą. Jie gali indukuoti lėtinį alkoholizmą, obstrukcines kepenų ligas;
- q. Šistocitai (angl. *schistocytes*) – tai fragmentuoti raudonieji kraujo kūneliai, kurie paprastai yra netaisyklingos formos, nelygūs, turi du smailius galus. Šie eritrocitai stebimi pacientų kraujo mėginiuose sergančių hemolizine anemija;
- r. Toksinis grūdėtumas (angl. *toxic granulation*) – tai tamsios purpurinės ar tamsiai mėlynos spalvos granulės, dažniausiai randama neutrofiluose, siejamos su infekcijomis, sepsiu, nudegimais;
- s. Trombocitų satelitizmas (angl. *thrombocyte satellitism*) – tai nežinomos etiologijos trombocitų kaupimasis aplink polimorfonuklearinius neutrofilus ir kitas kraujo ląsteles. Šis labai retas fenomenas sukelia pseudotrombocitopeniją.

### 2.2.3. Statistinis rezultatų apdorojimas bei analizė

Darbo metu gautiems rezultatams susisteminti ir išanalizuoti apskaičiuotas specifiškumas ir jautrumas, tikėtumo santykiai, brėžtos sprendimus priimančiojo ypatybių kreivės bei skaičiuotas Youden indeksas.



### 2.2.3.1. Specifiškumas ir jautrumas

2002 m. ir 2005 m. kriterijų tikslumui nustatyti, apskaičiuoti jų specifiškumas ir jautrumas. Šiam tikslui pasiekti sudarytos 2x2 lentelės (žr. 2.2. lentelė), kur:

langelis a atitinka visų pacientų skaičių, kuriems automatizuoto hematologinio analizatoriaus kraujo tyrimo rezultatas pagal 2005 m. ir 2002 m. kiekybinius ir kokybinius kriterijus buvo teigiamas, taip pat buvo teigiama ir mikroskopija (t.y. tyrimo rezultatai buvo teisingai teigiami (TT));

langelis b atitinka visų pacientų skaičių, kuriems automatizuoto hematologinio analizatoriaus kraujo tyrimo rezultatas pagal tuos pačius kriterijus buvo neigiamas, tačiau buvo teigiama mikroskopija (t.y. tyrimo rezultatai buvo klaidingai neigiami (KN));

langelis c atitinka visų pacientų skaičių, kuriems automatizuoto hematologinio analizatoriaus tyrimo rezultatas pagal tuos pačius kriterijus buvo teigiamas, tačiau mikroskopija buvo neigiama (t.y. tyrimo rezultatai buvo klaidingai teigiami (KT));

langelis d atitinka visų pacientų skaičių, kuriems automatizuoto hematologinio analizatoriaus tyrimo rezultatas pagal tuos pačius kriterijus buvo neigiamas ir mikroskopija buvo taip pat neigiama (t.y. tyrimo rezultatai buvo teisingai neigiami (TN)).

**2.2 lentelė.** Tyrimo rezultatų analizės principas.

*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.

	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	a Teisingai teigiamas (TT)	b Klaidingai neigiamas (KN)
Neigiama mikroskopija	c Klaidingai teigiamas (KT)	d Teisingai neigiamas (TN)

Specifiškumas ir jautrumas apskaičiuoti naudojantis Microsoft Office Excel 2016 kompiuterine programa, pagal formules:

$$\text{Jautrumas} = \frac{TT}{(TT+KN)},$$

$$\text{Specifiškumas} = \frac{TN}{(TN+KT)},$$

(Altman *et al.*, 1994).

Jautrumas nurodo tikimybę pasirinktu metodu nustatyti tikrai teigiamus atvejus. Kuo šio rodiklio reikšmė artimesnė vienetui, tuo kriterijai yra tinkamesni. Specifiškumas nurodo tikimybę pasirinktu metodu nustatyti tikrai neigiamus atvejus. Kaip ir jautrumui, kuo šis

rodiklis artimesnis vienetui, tuo kriterijus – tinkamesnis. Jautrumas ir specifiškumas yra atvirkščiai proporcingi, o tai reiškia, kad padidėjus jautrumui, specifiškumas mažėja ir atvirkščiai.

### 2.2.3.2. Tikėtinumo santykiai

Kriterijų tinkamumui nustatyti, apskaičiuoti teigiami tikėtinumo santykiai ( $LR_+$ ) ir neigiami tikėtinumo santykiai ( $LR_-$ ), naudojantis Microsoft Office Excel 2016 kompiuterine programa, pagal formules:

$$LR_+ = \frac{\text{jautrumas}}{(1-\text{specifiškumas})},$$

kur  $LR_+$  - teigiamas tikėtinumo santykis;

$$LR_- = \frac{(1-\text{jautrumas})}{\text{specifiškumas}},$$

kur  $LR_-$  - neigiamas tikėtinumo santykis;

(Van der Helm *et al.*, 1979).

Teigiamas tikėtinumo santykis nurodo teisingai teigiamų tyrimo rezultatų santykį su klaidingai teigiamais rezultatais, – kuo šio rodiklio reikšmė didesnė, tuo kriterijus yra tinkamesnis. Neigiamas tikėtinumo santykis nurodo klaidingai neigiamų tyrimo rezultatų santykį su teisingai neigiamais rezultatais, – kuo šio rodiklio reikšmė artimesnė nuliui, tuo kriterijus yra tinkamesnis.

### 2.2.3.3. Sprendimus priimančiojo ypatybių kreivė

Norint grafiškai vizualizuoti jautrumo ir specifiškumo sąryšį, sumodeliuotos sprendimus priimančiojo ypatybių kreivės (angl. *Receiver operating characteristic*, ROC), naudojantis RStudio programa ver. 3.3.3. Kreivės gautos atidėjus jautrumą Y ašyje, o 1-specifiškumą X ašyje. Kriterijus laikomas tuo geresnis, kuo didesnis jautrumas ir specifiškumas ir yra tinkamesnis, kuo plotas (angl. *area under ROC*, AUROC) po ROC kreive yra didesnis.

### 2.2.3.4. Youden indeksas

Kriterijų jautrumui ir specifiškumui įvertinti taip pat nustatyta Youden J statistika (angl. *Youden's J statistic*), dar kitaip vadinama Youden indeksu (angl. *Youden's index*). Šis indeksas apskaičiuotas naudojantis Microsoft Office Excel 2016 kompiuterine programa, pagal formulę:

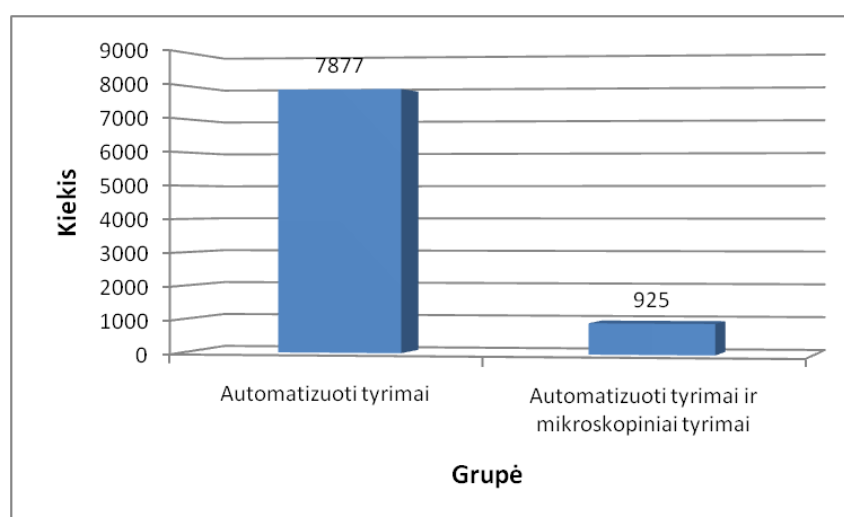
$$J = \text{jautrumas} + \text{specifiškumas} - 1$$

(Youden WJ, 1950).

Šio indekso vertė svyruoja nuo 0 iki 1 (imtinai) ir turi nulinę vertę, – kai kriterijus suteikia tokį patį teigiamų rezultatų pasiskirstymą grupėms su tikrai teigiamais ir tikrai neigiamais rezultatais, t.y. kriterijus yra nenaudingas. Reikšmė 1 rodo, kad nėra klaidingai teigiamų ar klaidingai neigiamų rezultatų, t.y. kriterijus yra optimalus. Youden indeksas suteikia vienodą reikšmę klaidingai neigiamoms ir klaidingai teigiamoms vertėms, todėl visi kriterijai, turintys tokią pačią indekso vertę, suteikia tą patį kiekį klaidingų rezultatų.

### 3. REZULTATAI

Šio tyrimo imtis yra 7877 Vilniaus Universitetinės Ligoninės Santaros Klinikų (VUL SK) pacientai, kuriems buvo atlikta kraujo analizė hematologiniu analizatoriumi, iš kurių atrinkti 925 pacientai, kuriems papildomai darytas kraujo citomorfologinis tepinėlis. Nustatyta, kad užsakovo sprendimu skiriamų citomorfologijos tepinėlių skaičius VUL SK bendruose skyriuose sudaro 11,6 % visų automatizuotų BKT (3.1 pav.). Toliau tyrime analizuota tik pastaroji imtis, remiantis 2005 m. TLHD ir 2002 m. Gulati GL ir bendraautorių publikuotame straipsnyje pateiktais kriterijais automatizuotam BKT bei mikroskopiniam tyrimui, siekiant nustatyti skiriamų citomorfologinių kraujo tepinėlių paskyrimo tikslingumą.



**3.1. pav.** Tyrimo imtis.

Šiuo tyrimu taip pat siekta išsiaiškinti užsakovo sprendimu paskirtų citomorfologinių kraujo tepinėlių pagrįstumą reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose ir hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje. Tuo tikslu išanalizuota po 240 tyrimų rezultatų iš kiekvieno skyriaus atskirai, kad būtų galima įvertinti kriterijų tinkamumą skirtingose klinikinėse disciplinose.

#### **3.1. Kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizė**

VUL SK bendruose, reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose ir hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje atlikta kiekybinių kriterijų analizė, remiantis 2002 m. Gulati ir bendraautorių publikuotais bei 2005 m. TLHD kriterijais.

### 3.1.1. Kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizė VUL SK bendruose skyriuose

Atlikus užsakovo sprendimu paskirtų citomorfologinių tepinėlių rezultatų analizę bendruose VUL SK skyriuose (akių ligų skyrius; akušerijos skyrius; alerginių ir imuninių ligų diagnostikos ir gydymo dienos stacionaras; alergologo konsultacijų kabinetas; ausų, nosies, gerklės ligų skyrius; dializių skyrius; endokrinologijos skyrius; gastroenterologo konsultacijų kabinetas; genetinio konsultavimo ir registro skyrius; ginekologijos skyrius; hepatologijos ir gastroenterologijos skyrius; kardiologijos skyrius; pilvo chirurgijos skyrius; širdies chirurgijos skyrius; stacionarinės reabilitacijos skyrius; intervencinės kardiologijos ir rentgenochirurgijos skyrius; išsėtinės sklerozės kabinetas; medicinos paslaugų skyrius; nefrologijos ir inkstų transplantacijos skyrius; nervų ligų skyrius; nėštumo patologijos skyrius; neurologų konsultacijų kabinetas; odos ligų ir estetinės dermatologijos kabinetas; ortopedijos – traumatologijos skyrius; plastinės ir rekonstrukcinės chirurgijos skyrius; priėmimo – skubios pagalbos skyrius; pulmonologo konsultacijos kabinetas; reumatologijos skyrius; šeimos gydytojo kabinetas; urologijos skyrius; vaistams atsparios tuberkuliozės skyrius; vidaus ligų diagnostikos skyrius) taikant 2005 m. TLHD kiekybinius automatizuoto BKT peržiūros kriterijus, rezultatai buvo suskirstyti į keturias grupes: 1) teigiama automatizacija ir teigiama mikroskopija (rezultatai sutampa); 2) neigiama automatizacija ir teigiama mikroskopija (rezultatai nesutampa); 3) teigiama automatizacija ir neigiama mikroskopija (rezultatai nesutampa); 4) neigiama automatizacija ir neigiama mikroskopija (rezultatai sutampa). Gauti rezultatams pateikti 3.1. lentelėje.

**3.1. Lentelė.** Bendrų VUL SK skyrių 2005 m. kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizės rezultatai.

	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	215	140
Neigiama mikroskopija	35	535

Lyginant mikroskopinį ir automatizuotą BKT pagal 2005 m. peržiūros kriterijus matyti, kad ryškėja daug klaidingai teigiamų atvejų (3,8 %), t.y. automatizuoto BKT peržiūros kriterijų taikymas nepasiteisino ir citomorfologinis tyrimas buvo nereikalingas. Taip pat nustatyta daug klaidingai neigiamų atvejų (15,1 %), t.y. automatizuoto BKT peržiūros kriterijų taikymas nepadėjo atrinkti mėginių, kurių citomorfologinis tyrimas atskleidė patologiją. Matyti jog teisingai neigiamų (535) ir teisingai teigiamų rezultatų (215) dalis, t.y. pagal 2005 m. peržiūros kriterijus buvo teisingai atrinkti arba neatrinkti mėginiai citomorfologiniam tyrimui, sudaro net 81 %.

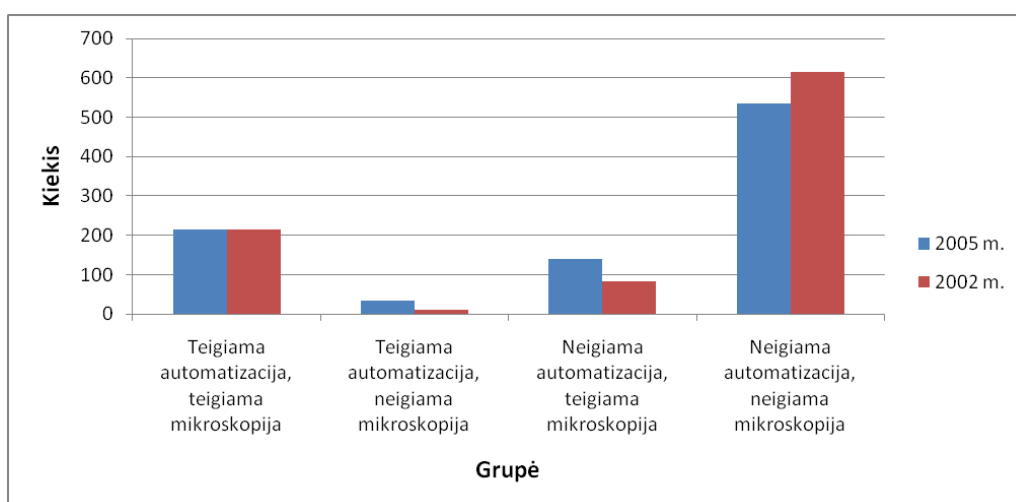
Tokia pati analizė atlikta ir pagal 2002 m. kiekybinius automatizuoto BKT peržiūros kriterijus (3.2. lentelė). Lyginant grupes pagal pastaruosius kriterijus nustatyta, kad klaidingai teigiamų rezultatų grupė yra tris kartus mažesnė, nei analogiška grupė gauta pagal 2005 m. kriterijus (1,3 %), o klaidingai neigiamų rezultatų grupė (8,9 %) taip pat yra mažesnė.

**3.2. lentelė.** Bendrų VUL SK skyrių 2002 m. kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizės rezultatai.

	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	215	82
Neigiama mikroskopija	12	616

Taip pat matyti, kad teisingai neigiamų (616) ir teisingai teigiamų (215) rezultatų dalis sudaro net 90 %.

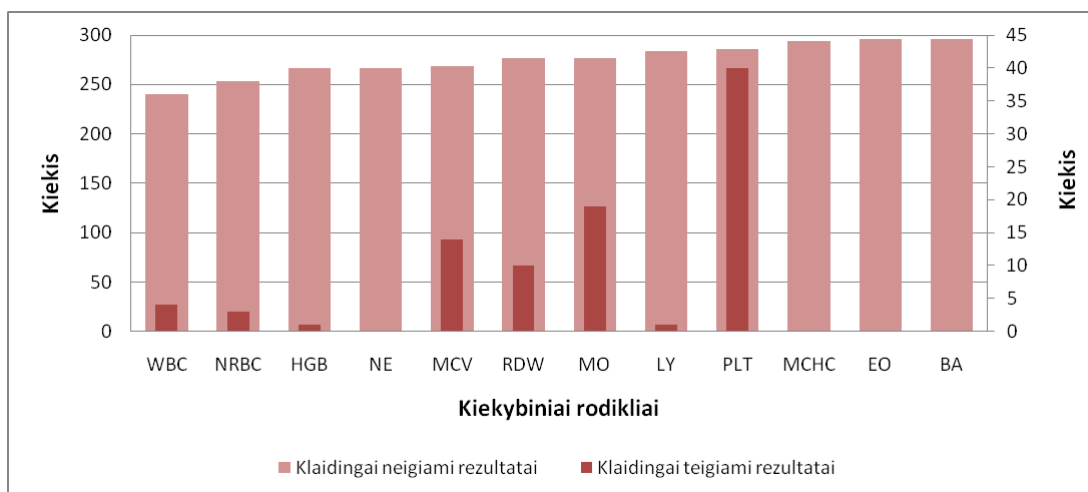
Abiejų, 2002 m. ir 2005 m., kiekybinių kriterijų pasiskirstymas grupėse pavaizduotas 3.2. paveiksle.



**3.2. pav.** 2005m. ir 2002 m. kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų atliktos analizės grafinis vaizdas bendruose VUL SK skyriuose.

Matyti, kad teisingai teigiamų rezultatų grupės dalis pagal minėtų metų kiekybinius kriterijus nesiskyrė, tačiau teisingai neigiamų rezultatų dalis padidėjo pagal 2002 m. kiekybinius kriterijus.

Toliau nagrinėta kiekvieno 2002 m. kiekybinio kriterijaus įtaka, nustatant teisingai teigiamus, teisingai neigiamus ir klaidingai teigiamus bei klaidingai neigiamus rezultatus (žr. 2 priedas). Iš 3.3. paveikslo matyti, jog remiantis tik trombocitų kiekybiniu kriterijumi, gaunama daugiausiai klaidingai teigiamų rezultatų – 40 atvejų (4,3 %), o remiantis tik eozinofilų ar bazofilų kiekybiniu kriterijumi gaunama daugiausiai klaidingai neigiamų verčių – po 296 atvejus (32 %).



**3.3. pav.** 2002 m. kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų įtaka klaidingai neigiamiems ir klaidingai teigiamiems rezultatams bendruose VUL SK skyriuose.

BA – bazofilai, EO – eozinofilai, MCHC – vidutinė hemoglobino koncentracija eritrocituose, PLT – trombocitai, LY – limfocitai, MO – monocitai, RDW – eritrocitų pasiskirstymo plotis, MCV – vidutinis eritrocitų tūris, NE – neutrofilai, HGB – hemoglobinas, NRBC – normoblastai, WBC – leukocitai.

Mažiausiai klaidingai teigiamų rezultatų generuoja neutrofilų, eozinofilų, bazofilų bei MCHC kiekybiniai rodikliai - remiantis šiais kriterijais, klaidingai teigiamų rezultatų nenumatyta. O minimaliausias kiekis klaidingai neigiamų rezultatų stebimas, naudojant leukocitų kiekybinį rodiklį – 240 atvejų (25,9 %).

### 3.1.2. Kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizė VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose

Analogiškas rezultatų grupavimas buvo atliktas ir kiekybiniais kriterijams VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose. Gautiems rezultatams sudaryta 3.3. lentelė, kur lyginant grupes pagal 2005 m. kriterijus matyti, kad yra daug klaidingai teigiamų (11,3 %) rezultatų, o klaidingai neigiamų rezultatų nustatyta mažiau (4,6 %). Matyti, jog teisingai teigiamų (181) ir teisingai neigiamų (21) rezultatų dalis bendrai sudaro 84,2 %.

**3.3. lentelė.** VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyrių 2005 m. kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizės rezultatai.

	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	181	11
Neigiama mikroskopija	27	21

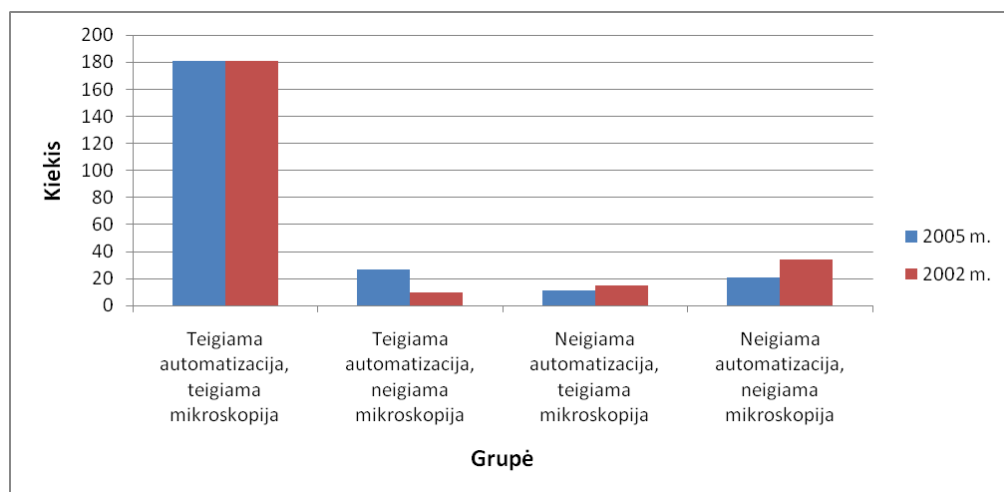
Taip pat atlikta analizė pagal 2002 m. kiekybinius kriterijus (3.4. lentelė). Lyginant grupes pagal pastarųjų metų kriterijus nustatyta, kad klaidingai teigiamų (4,2 %) rezultatų grupė yra mažesnė, nei analogiška grupė gauta pagal 2005 m. kriterijus, tačiau klaidingai neigiamų rezultatų grupė padidėjo (6,3 %).

**3.4. lentelė.** VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyrių 2002 m. kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizės rezultatai.

	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	181	15
Neigiama mikroskopija	10	34

Matyti jog teisingai teigiamų (181) ir teisingai neigiamų (34) rezultatų dalis sudarė 89,6 %.

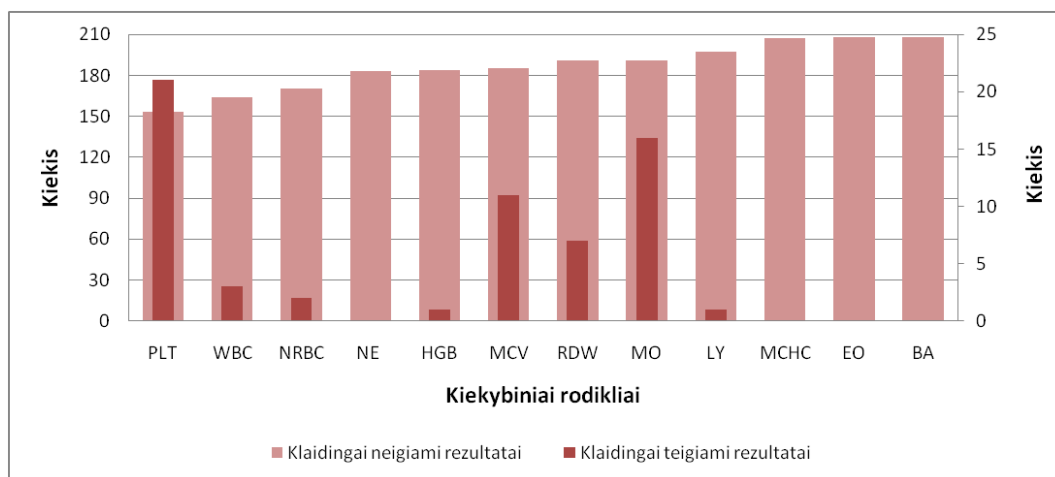
Abiejų, 2002 m. ir 2005 m., kiekybinių kriterijų pasiskirstymas grupėse pavaizduotas 3.4. paveiksle. Pateiktame paveiksle matoma, kad teisingai teigiamų rezultatų grupės dalis pagal minėtų metų kiekybinius kriterijus nesiskyrė, tačiau teisingai neigiamų rezultatų dalis padidėjo pagal 2002 m. kiekybinius kriterijus.



**3.4. pav.** 2005 m. ir 2002 m. kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų atliktos analizės grafinis vaizdas VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose.

Toliau nagrinėta kiekvieno 2002 m. kiekybinio kriterijaus įtaka, nustatant teisingai teigiamus, teisingai neigiamus, klaidingai teigiamus bei klaidingai neigiamus rezultatus (žr. 3 priedas). Iš 3.5. paveikslo matyti, jog remiantis tik trombocitų kiekybiniu kriterijumi, gaunama daugiausiai klaidingai teigiamų rezultatų – 21 atvejis (8,8 %), tačiau pagal šį kriterijų gaunama ir mažiausiai klaidingai neigiamų rezultatų – 153 atvejai iš 240 (63,8 %).





**3.5. pav.** 2002 m. kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų įtaka klaidingai neigiamiems ir klaidingai teigiamiems rezultatams. VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose.

BA – bazofilai, EO – eozinofilai, MCHC – vidutinė hemoglobino koncentracija eritrocituose, PLT – trombocitai, LY – limfocitai, MO – monocitai, RDW – eritrocitų pasiskirstymo plotis, MCV – vidutinis eritrocitų tūris, NE – neutrofilai, HGB – hemoglobinas, NRBC – normoblastai, WBC – leukocitai.

Klaidingai teigiami rezultatai nestebimi su neutrofilų, bazofilų, eozinofilų ir MCHC kriterijais, o daugiausiai klaidingai neigiamų rezultatų generuoja eozinofilų ir bazofilų kriterijai – po 208 atvejus iš 240 (86,7 %).

### 3.1.3. Kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizė VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje

Toks pats rezultatų grupavimas buvo atliktas ir kiekybiniais kriterijams VUL Santaros Klinikų hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje. Gautiems rezultatams sudaryta 3.5. lentelė, kur lyginant grupes pagal 2005 m. kriterijus matyti, kad yra itin daug klaidingai teigiamų (34,6 %), o klaidingai neigiamų rezultatų nustatyta kur kas mažiau (3,3 %). Taip pat matyti, kad teisingai teigiamų (47) ir teisingai neigiamų (102) rezultatų dalis sudaro 62,1 %.

**3.5. lentelė.** VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos 2005 m. kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizės rezultatai.

	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	47	8
Neigiama mikroskopija	83	102

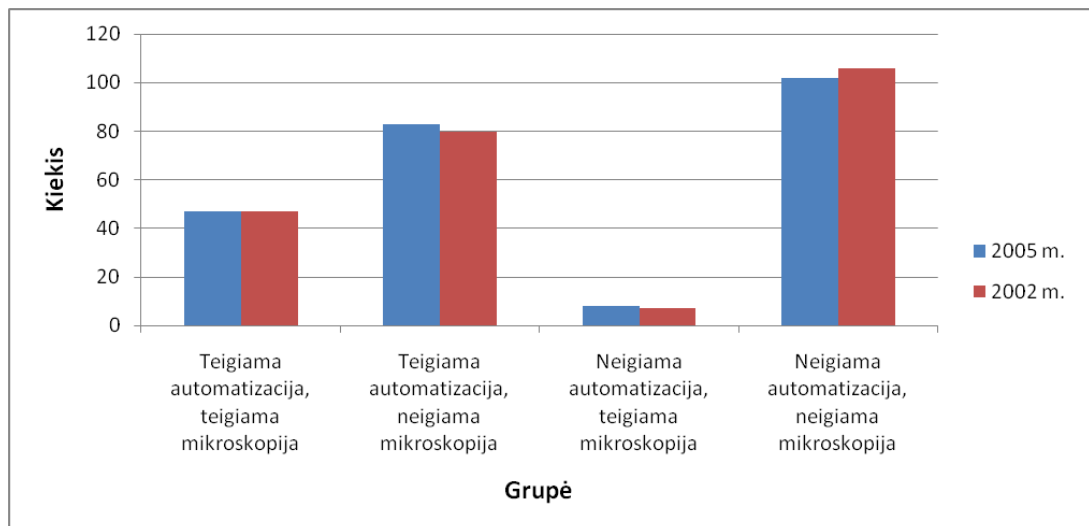
Taip pat atlikta analizė pagal 2002 m. kiekybinius kriterijus (3.6. lentelė). Lyginant grupes pagal pastarųjų metų kriterijus nustatyta, kad klaidingai teigiamų rezultatų grupė yra šiek tiek mažesnė (33,3 %), nei analogiška grupė gauta pagal 2005 m. kriterijus, o klaidingai neigiamų rezultatų grupė mažesnė tik vienu atveju (2,9 %).

**3.6. lentelė.** VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos 2002 m. kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizės rezultatai.

	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	47	7
Neigiama mikroskopija	80	106

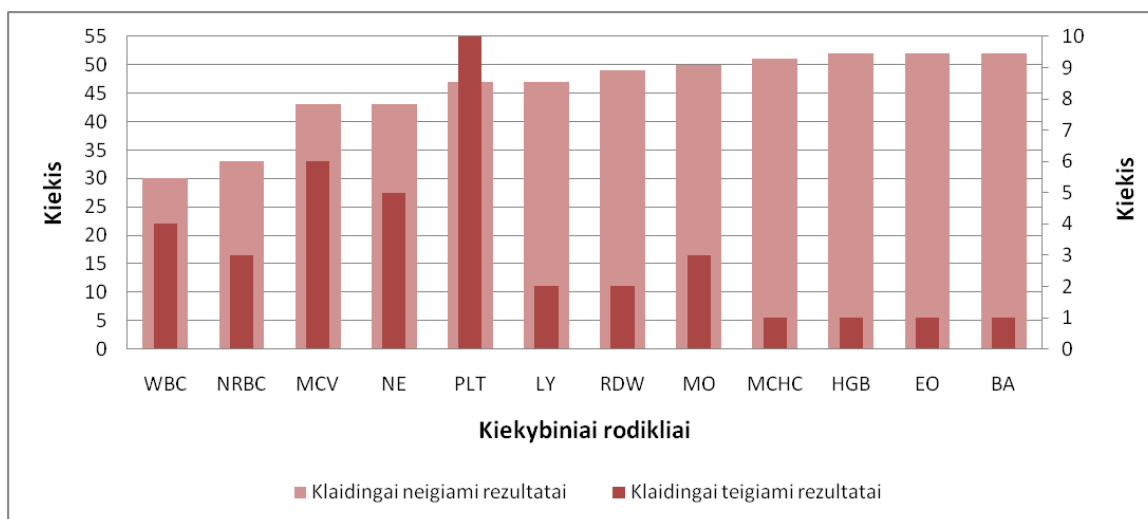
Taip pat matyti, kad teisingai teigiamų (47) ir teisingai neigiamų (106) rezultatų dalis sudaro 63,8 %.

Abiejų, 2002 m. ir 2005 m., kiekybinių kriterijų pasiskirstymas grupėse pavaizduotas 3.6. paveiksle. Paveiksle matyti, kad teisingai teigiamų rezultatų grupės dalis pagal minėtų metų kiekybinius kriterijus nesiskyrė, tačiau teisingai neigiamų rezultatų dalis padidėjo pagal 2002 m. kiekybinius kriterijus.



**3.6. pav.** 2005 m. ir 2002 m. kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų atliktos analizės grafinis vaizdas VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje.

Toliau nagrinėta kiekvieno 2002 m. kiekybinio kriterijaus įtaka, nustatant teisingai teigiamus, teisingai neigiamus, klaidingai teigiamus bei klaidingai neigiamus rezultatus (žr. 4 priedas). Iš 3.7. paveikslo matyti, jog remiantis tik trombocitų kiekybiniu kriterijumi, gaunama daugiausiai klaidingai teigiamų rezultatų – 10 atvejų (4,2 %), o daugiausiai klaidingai neigiamų rezultatų generuoja trys kiekybiniai kriterijai – hemoglobino koncentracija, eozinofilų ir bazofilų kiekis – po 52 atvejus (21,7 %).



**3.7. pav.** 2002 m. kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų įtaka klaidingai neigiamiems ir klaidingai teigiamiems rezultatams VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje.

BA – bazofilai, EO – eozinofilai, MCHC – vidutinė hemoglobino koncentracija eritrocituose, PLT – trombocitai, LY – limfocitai, MO – monocitai, RDW – eritrocitų pasiskirstymo plotis, MCV – vidutinis eritrocitų tūris, NE – neutrofilai, HGB – hemoglobinas, NRBC – normoblastai, WBC – leukocitai.

Mažiausias klaidingai teigiamų rezultatų skaičius stebimas keturiems kiekybiniais kriterijams – MCHC, hemoglobiniui, eozinofilams ir bazofilams (po 0,4 %), o leukocitų skaičius – minimaliausias klaidingai neigiamus rezultatus generuojantis kriterijus (12,5 %).

### 3.2. Kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizė

VUL SK bendriems, reanimacijos – intensyvios terapijos ir hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikai atlikta kokybinių kriterijų analizė remiantis automatizuoto BKT peržiūros įspėjimais.

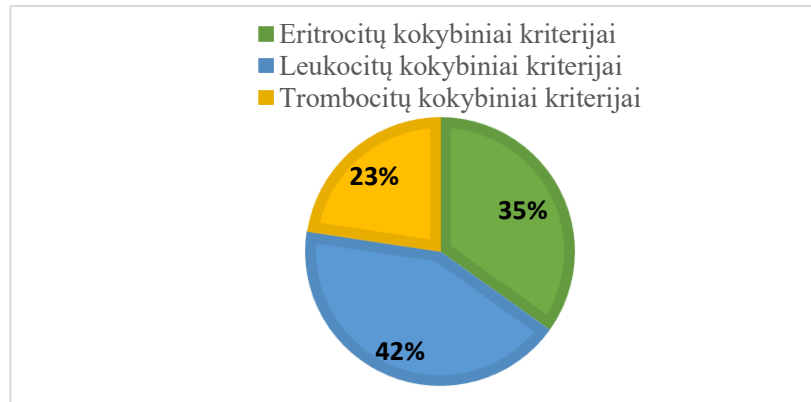
#### 3.2.1. Kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizė VUL SK bendruose skyriuose

Atlikus kokybinių kriterijų analizę bendruose VUL SK skyriuose, nustatytas pastarųjų kriterijų pasiskirstymas tarp tiriamos pacientų 925 imties tyrimo rezultatų (3.7. lentelė). Iš pateiktos lentelės matyti, kad daugiausiai VUL SK esantis hematologinis analizatorius aptiko dimorfinių eritrocitų populiacijos kokybinio kriterijaus – 3,2 %, o mažiausiai – limfocitų ir monocitų blastų – po 0,2 %.

**3.7. Lentelė.** Bendrų VUL SK skyrių kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų pasiskirstymas.

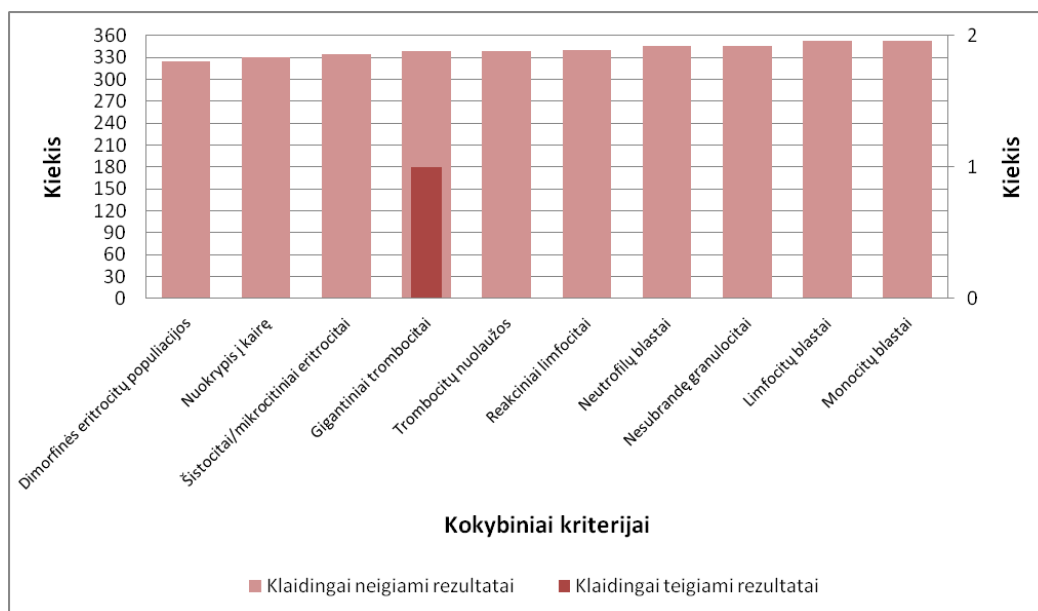
Kokybinis kriterijus	Kiekis
Šistocitai/mikrocitiniai eritrocitai	21
Dimorfinės eritrocitų populiacijos	30
„Nuokrypis į kairę“	25
Neutrofilų blastai	9
Limfocitų blastai	2
Monocitų blastai	2
Reakciniai limfocitai	15
Nesubrendę granulocitai	9
Gigantiniai trombocitai	17
Trombocitų nuolaužos	16

Kokybinių kriterijų pasiskirstymas pavaizduotas 3.8. paveiksle. Matyti, jog automatizuoto BKT metu, daugiausiai nustatyta leukocitų kilmės kokybinių kriterijų – 42 %, iš kurių didžiąją dalį užima „nuokrypis į kairę“, o trombocitų kilmės kokybinių išpėjimų nustatyta mažiausiai – 23 %.



**3.8. pav.** Kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų procentinis pasiskirstymas bendruose VUL SK skyriuose.

Toliau nagrinėta kiekvieno kokybinio kriterijaus įtaka, nustatant klaidingai teigiamus ir klaidingai neigiamus rezultatus (žr. 5 priedas).



**3.9. pav.** Kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų įtaka klaidingai neigiamiems ir klaidingai teigiamiems rezultatams bendruose VUL SK skyriuose.

Iš 3.9. paveikslo matyti, kad didžiausią kiekį klaidingai neigiamų rezultatų lėmė limfocitų ir monocitų blastai (38,2 %), o mažiausią kiekį klaidingai neigiamų rezultatų lemia dimorfinės eritrocitų populiacijos kokybinis kriterijus (35,1 %). Klaidingai teigiamas atvejis aptiktas tik dėl gigantinių trombocitų kokybinio kriterijaus (0,1 %).

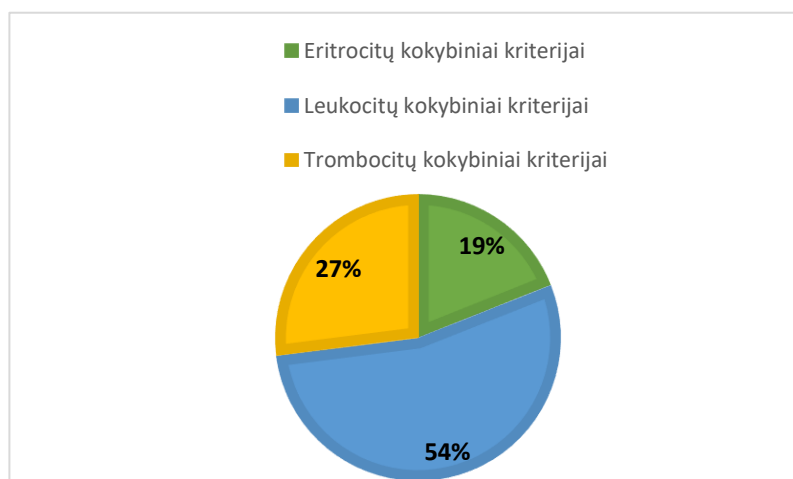
### 3.2.2. Kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizė VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose

Analogiškas rezultatų grupavimas buvo atliktas ir kokybiniais kriterijams VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose bei nustatytas jų paplitimas tarp tirtų pacientų (3.8. lentelė). Iš pateiktų lentelės duomenų matyti, kad dažniausiai pasitaikantis kokybinis kriterijus, atliekant pacientų kraujo ištyrimą automatizuotu BKT, buvo „nuokrypis į kairę“ – tai sudarė net vieną šeštąją visų rezultatų (17,9 %). Kur kas rečiau pasitaikė gigantinių trombocitų, dimorfinių eritrocitų populiacijos ir trombocitų nuolaužų kokybinių kriterijų (atitinkamai 8,8 %, 7,9 % ir 7,9 %). Mažiausiai kartų aptikta monocitų bei limfocitų blastų (atitinkamai 0,8 % ir 1,3 %).

**3.8. lentelė.** Kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų pasiskirstymas VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose.

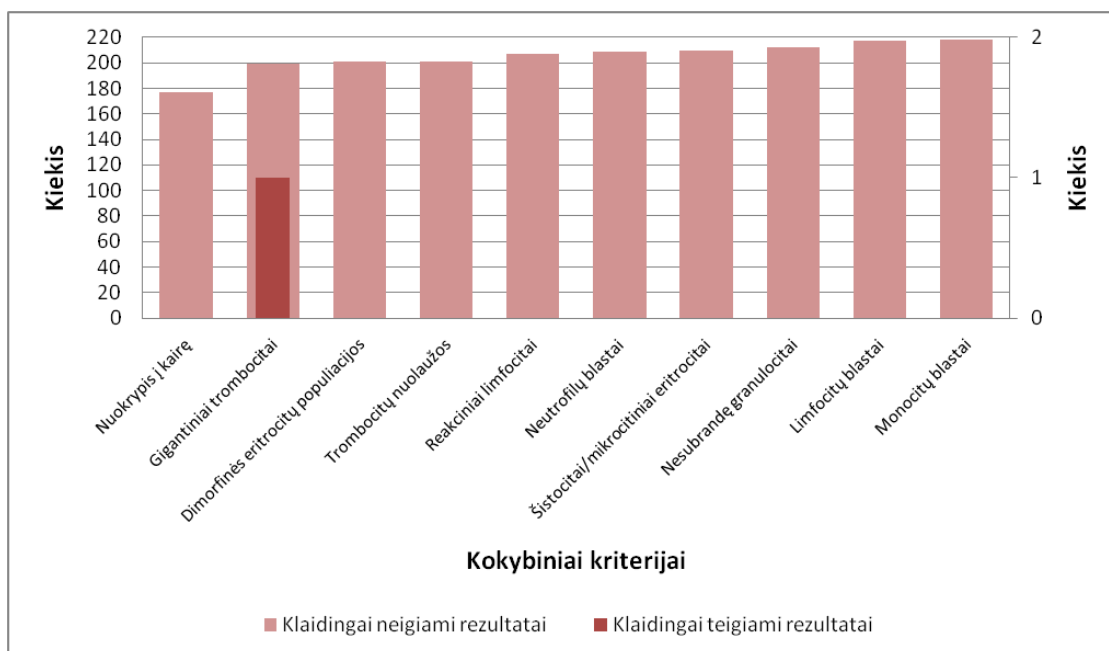
Kokybinis kriterijus	Kiekis
Šistocitai/mikrocitiniai eritrocitai	10
Dimorfinės eritrocitų populiacijos	19
„Nuokrypis į kairę“	43
Neutrofilų blastai	11
Limfocitų blastai	3
Monocitų blastai	2
Reakciniai limfocitai	13
Nesubrendę granulocitai	8
Gigantiniai trombocitai	21
Trombocitų nuolaužos	19

Kokybinių kriterijų nukrypimų nuo pamatinių biologinių verčių intervalo pasiskirstymas pavaizduotas 3.10. paveiksle. Matyti, jog analizės automatizuotu BKT metu, daugiausia nustatyta leukocitų prigimties kokybinių kriterijų pakitimų – daugiau nei pusė visų leukogramose rastų išpėjimų (54 %), iš kurių didžiąją dalį užima „nuokrypis į kairę“. Mažiausiai išpėjimų apie kokybinius kraujo elementų pokyčius aptikta tarp eritrocitų grupės 19 %.



**3.10. pav.** Kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų procentinis pasiskirstymas VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose.

Toliau nagrinėta kiekvieno kokybinio kriterijaus įtaka, nustatant klaidingai teigiamus ir klaidingai neigiamus rezultatus (žr. 6 priedas).



**3.11. pav.** Kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų įtaka klaidingai neigiamiems ir klaidingai teigiamiems rezultatams VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose.

Iš 3.11. paveikslo matyti, kad didžiausią kiekį klaidingai neigiamų rezultatų lėmė limfocitų ir monocitų blastai (atitinkamai 90,4 % ir 90,8 %), o mažiausią kiekį klaidingai neigiamų rezultatų lėmė „nuokrypis į kairę“ (73,8 %). Klaidingai teigiamas atvejis aptiktas tik dėl gigantinių trombocitų (0,4 %).

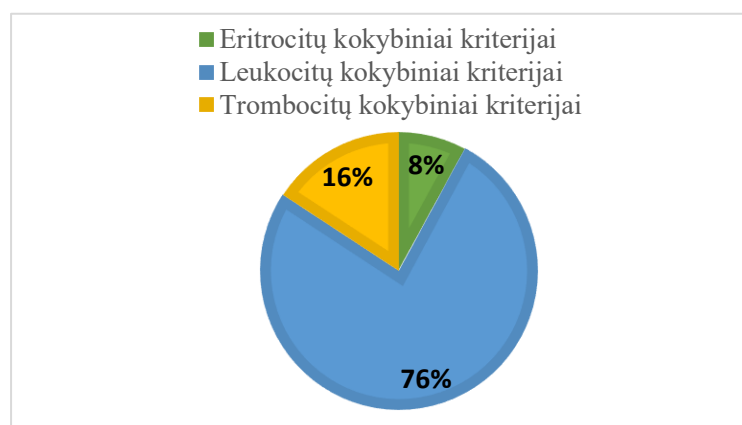
### 3.2.3. Kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizė VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje

Toks pats rezultatų grupavimas buvo atliktas kokybiniais kriterijams VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje (3.9. lentelė). Iš pateiktos lentelės matyti, kad daugiausiai automatizuotu BKT aptiko reakcinių limfocitų kokybinio kriterijaus (8,3 %), o mažiausiai šistocitų/mikrocitinių eritrocitų (0,4 %).

**3.9. Lentelė.** Kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų pasiskirstymas VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje.

Kokybinis kriterijus	Kiekis
Šistocitai/mikrocitiniai eritrocitai	1
Dimorfinės eritrocitų populiacijos	5
„Nuokrypis į kairę“	11
Neutrofilų blastai	2
Limfocitų blastai	5
Monocitų blastai	3
Reakciniai limfocitai	20
Nesubrendę granulocitai	14
Gigantiniai trombocitai	9
Trombocitų nuolaužos	3

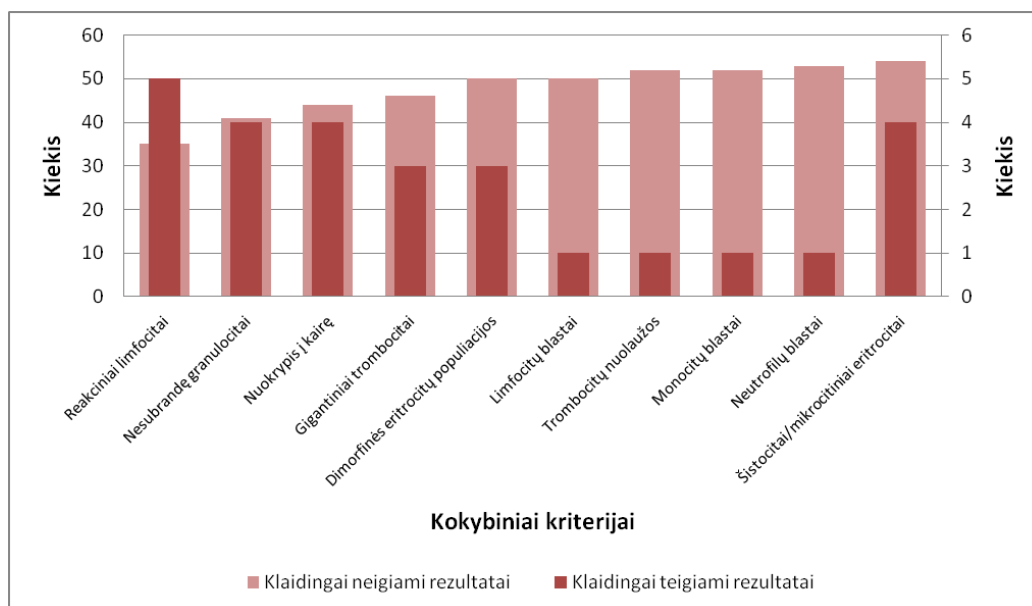
Kokybinių kriterijų pasiskirstymas pavaizduotas 3.12. paveiksle. Matyti, jog automatizuotu BKT metu, daugiausia nustatyta leukocitų kilmės kokybinių kriterijų – 76 %, iš kurių didžiąją dalį užima reakciniai limfocitai, o eritrocitų kilmės kokybinių kriterijų nustatyta mažiausiai – 8 %.



**3.12. pav.** Kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų procentinis pasiskirstymas VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje.

Toliau nagrinėta kiekvieno kokybinio kriterijaus įtaka, nustatant klaidingai teigiamus ir klaidingai neigiamus rezultatus (žr. 7 priedas). Iš 3.13. paveikslo matyti, kad didžiausią kiekį klaidingai neigiamų rezultatų lėmė šistocitų/mikrocitinių eritrocitų kokybinis kriterijus (22,5 %), o mažiausią kiekį klaidingai neigiamų rezultatų lemia reakcinių limfocitų kokybinis kriterijus (14,6 %).





**3.13. pav.** Kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų įtaka klaidingai neigiamiems ir klaidingai teigiamiems rezultatams VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje.

Klaidingai teigiamų atvejų daugiausiai aptikta dėl reakcinių limfocitų (2,1 %), o mažiausiai – limfocitų, monocitų, neutrofilų blastų bei trombocitų nuolaužų kokybinių kriterijų – po 1 atvejį (0,4 %).

### 3.3. Bendra kiekybinių ir kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizė

VUL SK bendruose, reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose ir hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje atlikta kiekybinių ir kokybinių kriterijų analizė, remiantis 2002 m. Gulati ir bendraautorių publikuotais, bei 2005 m. TLHD kriterijais.

#### 3.3.1. Bendra kiekybinių ir kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizė VUL SK bendruose skyriuose

Atlikta bendra tiek kiekybinių, tiek kokybinių kriterijų analizė bendruose VUL SK skyriuose tam, kad būtų galima įvertinti jų tinkamumą bei naudingumą. Lyginant grupes pagal 2005 m. kriterijus 3.10. lentelėje matyti, kad klaidingai teigiamų rezultatų yra nemažai (3,9 %), o klaidingai neigiamų taip pat daug (7,8 %). Matyti jog teisingai neigiamų rezultatų dalis yra didesnė, nei teisingai teigiamų rezultatų.

**3.10. lentelė.** Bendrų VUL SK skyrių 2005 m. kiekybinių ir kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizės rezultatai.

	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	283	72
Neigiama mikroskopija	36	534

Taip pat atlikta analizė pagal 2002 m. bendrus kriterijus (3.11. lentelė). Lyginant grupes pagal pastarųjų metų kriterijus nustatyta, kad klaidingai teigiamų rezultatų grupė yra itin sumažėjusi (1 %), nei analogiška grupė gauta pagal 2005 m. kriterijus, o klaidingai neigiamų rezultatų grupė (0,5 %) taip pat yra kur kas mažesnė.

**3.11. lentelė.** Bendrų VUL SK skyrių 2002 m. kiekybinių ir kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizės rezultatai.

	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	287	5
Neigiama mikroskopija	9	624

Išsamiau apžvelgus gautus rezultatus, nustatyta jog 9 atvejai, kurie sudaro klaidingai teigiamą grupę, susideda iš tokių kiekybinių kriterijų rezultatų: 4 atvejais užfiksuotas leukocitų kiekis  $< 4 \cdot 10^9/l$ , 3 atvejais – hemoglobino koncentracija  $< 70 g/l$  ir 2 atvejais – trombocitų skaičius  $< 100 \cdot 10^9/l$ . Analizuojant klaidingai neigiamos grupės penkis atvejus, nustatyta, kad pastaroji susideda iš tokių teigiamos mikroskopijos rezultatų: 4 atvejais nustatyti šistocitai ir 1 atveju poikilocitozė įvertinta daugiau nei trimis balais. Taip pat matyti, kad teisingai neigiamų rezultatų dalis yra didesnė šiek tiek daugiau nei du kartus nei teisingai teigiamų rezultatų.

Taip pat atlikta 2002 m. kiekybinių ir kokybinių kriterijų analizė, papildomai pridėjus dar vieną kiekybinį kriterijų – nebrandžių granulocitų buvimą periferiniame kraujyje (3.12. lentelė).

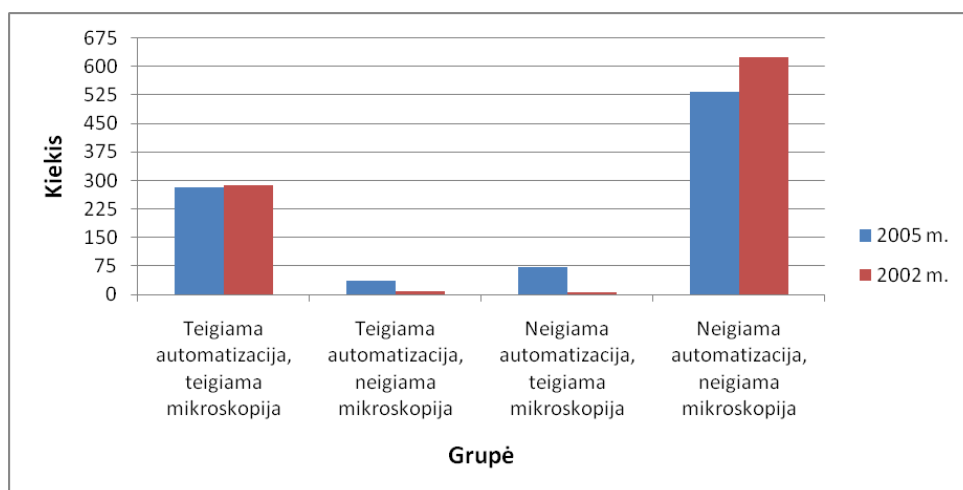
**3.12. lentelė.** Bendrų VUL SK skyrių 2002 m. kiekybinių, kokybinių ir nebrandžių granulocitų automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizės rezultatai.

	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	288	4
Neigiama mikroskopija	9	624

Tačiau matoma, kad rezultatai beveik nesiskiria nuo 2002 m. kiekybinių ir kokybinių kriterijų rezultatų be pastarojo kriterijaus: klaidingai teigiamų atvejų kiekis nepakito, išliko 9 iš 925 (1 %), o klaidingai neigiamų atvejų kiekis sumažėjo tik vienu atveju (naudojant 2002 m. kriterijus

stebimi 5 atvejai (0,5 %), o 2002 m. kriterijus ir nebrandžių granulocitų kriterijų – 4 atvejai iš 925 (0,4 %).

2005 m. ir 2002 m. kiekybinių ir kokybinių kriterijų pasiskirstymas grupėse pavaizduotas 3.14. paveiksle.



**3.14. pav.** Bendrų VUL SK skyrių 2002 m. ir 2005 m. kiekybinių ir kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizės rezultatai.

Matyti, kad teisingai teigiamų rezultatų grupės dalis pagal minėtų metų kriterijus beveik nesiskiria (pagal 2005 m. kriterijus nustatyti 283 atvejai (30,6 %), o pagal 2002 m. – 287 (31 %)), tačiau teisingai neigiamų rezultatų dalis yra didesnė pagal 2002 m. kiekybinius ir kokybinius kriterijus kartu (pagal 2005 m. kriterijus nustatyti 534 atvejai (57,7 %), o pagal 2002 m. – 624 (67,5 %)). Taip pat svarbu paminėti, kad klaidingai teigiamų bei klaidingai neigiamų atvejų skaičius yra mažesnis pritaikius 2002 m. kriterijus.

### 3.3.2. Bendra kiekybinių ir kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizė VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose

Analogiška analizė atlikta ir VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose. Gautiems rezultatams sudaryta 3.13. lentelė, kur lyginant grupes pagal 2005 m. kriterijus matyti, kad yra 23 klaidingai teigiami atvejai iš 240 atliktų tyrimų (9,6 %), o klaidingai neigiamų rezultatų nustatyta mažiau (10 iš 240 visų atliktų tyrimų (4,2 %)). Matyti, jog teisingai teigiamų rezultatų dalis yra beveik 25 kartus didesnė, nei teisingai neigiamų rezultatų.

**3.13. lentelė.** VUL SK reanimacijos – intensyviosios terapijos skyrių 2005 m. kiekybinių ir kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizės rezultatai.

	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	199	10
Neigiama mikroskopija	23	8

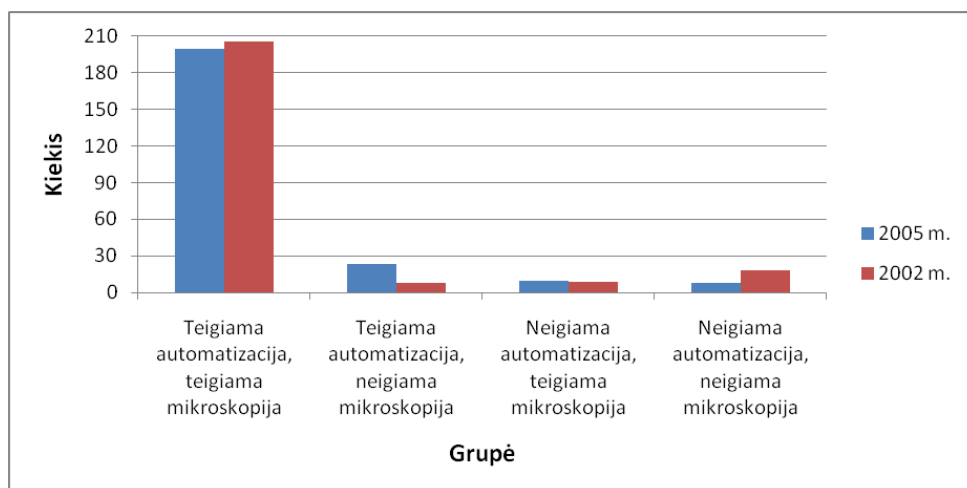
Taip pat atlikta analizė pagal 2002 m. bendrus kriterijus (3.14. lentelė). Lyginant grupes pagal pastarųjų metų kriterijus nustatyta, kad klaidingai teigiamų rezultatų grupė yra sumažėjusi (3,3 %), nei analogiška grupė, gauta pagal 2005 m. kriterijus, o klaidingai neigiamų rezultatų grupė mažesnė nežymiai (3,8 %).

**3.14. lentelė.** VUL SK reanimacijos – intensyviosios terapijos skyrių 2002 m. kiekybinių ir kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizės rezultatai.

	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	205	9
Neigiama mikroskopija	8	18

Pažvelgus išsamiau į 2002 m. gautus rezultatus, matyti jog 8 atvejai, kurie sudaro klaidingai teigiamą grupę, susideda iš tokių kiekybinių kriterijų rezultatų: 4 atvejais užfiksuotas leukocitų kiekis  $<4 \cdot 10^9/l$  ir 4 atvejais – trombocitų skaičius  $<100 \cdot 10^9/l$ . Analizuojant klaidingai neigiamos grupės devynis atvejus, nustatyta, kad pastaroji susideda iš tokių teigiamos mikroskopijos rezultatų: 4 atvejais nustatyti šistocitai ir 5 atvejais – poikilocitozė įvertinta daugiau nei trimis balais. Taip pat matyti, kad teisingai teigiamų rezultatų dalis yra didesnė šiek tiek daugiau nei 11 kartų, nei teisingai neigiamų rezultatų.

Abiejų, 2002 m. ir 2005 m., kiekybinių ir kokybinių kriterijų pasiskirstymas grupėse pavaizduotas 3.15. paveiksle.



**3.15. pav.** VUL SK reanimacijos – intensyvosios terapijos skyrių 2002 m. ir 2005 m. kiekybinių ir kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizės rezultatai.

Matyti, kad teisingai teigiamų rezultatų grupės dalis pagal minėtų metų kriterijus beveik nesiskyrė (2005 m. kriterijų reikšmė 199 atvejai (82,9 %), o 2002 m. – 205 (85,4 %)), tačiau teisingai neigiamų rezultatų dalis padidėjo šiek tiek daugiau nei du kartus pagal 2002 m. kriterijus (2005 m. kriterijų reikšmė 8 atvejai (3,3 %), o 2002 m. – 18 (7,5 %)).

### 3.3.3. Bendra kiekybinių ir kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizė VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje

Atlikta bendra tiek kiekybinių, tiek kokybinių kriterijų analizė VUL Santaros klinikų hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikai tam, kad būtų galima įvertinti jų bendrą tinkamumą bei naudingumą. Lyginant grupes pagal 2005 m. kriterijus 3.15. lentelėje matyti, kad klaidingai teigiamų rezultatų yra nemažai (35,4 %), o klaidingai neigiamų rezultatų mažiau (2,5 %). Matyti jog teisingai neigiamų rezultatų dalis yra dvigubai didesnė, nei teisingai teigiamų rezultatų.

**3.15. lentelė.** VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos 2005 m. kiekybinių ir kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizės rezultatai.

	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	49	6
Neigiama mikroskopija	85	100

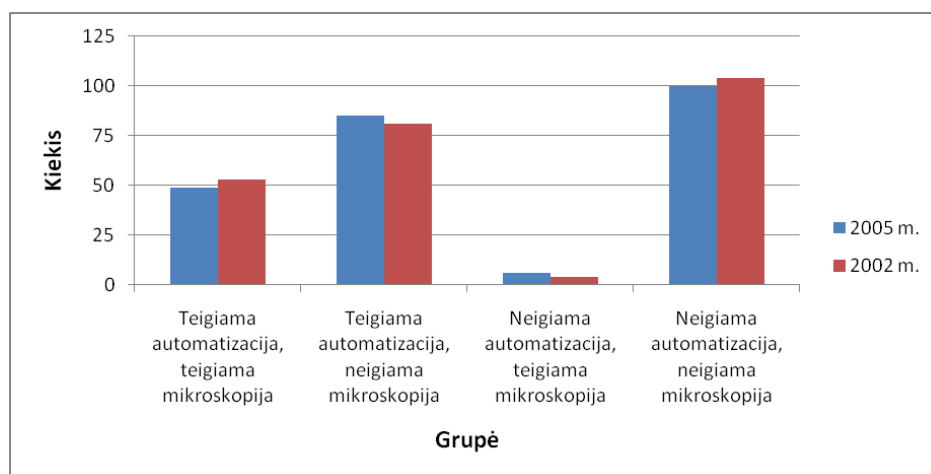
Atlikta analizė ir pagal 2002 m. bendrus kriterijus (3.16. lentelė). Lyginant grupes pagal pastarųjų metų kriterijus nustatyta, kad klaidingai teigiamų rezultatų grupė yra truputį sumažėjusi, lyginant ją su analogiška grupe, gauta pagal 2005 m. kriterijus (33,8 %), o klaidingai neigiamų rezultatų grupė (1,7 %) taip pat yra mažesnė.

**3.16. lentelė.** VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos 2002 m. kiekybinių ir kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizės rezultatai.

	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	53	4
Neigiama mikroskopija	81	104

Išsamiau apžvelgus klaidingai neigiamos grupės keturis atvejus, nustatyta, kad pastaroji grupė susideda iš tokių teigiamos mikroskopijos rezultatų: 3 atvejais nustatyti šistocitai ir 1 atveju poikilocitozė įvertinta daugiau nei trimis balais. Taip pat matyti, kad teisingai neigiamų rezultatų dalis yra beveik dvigubai didesnė nei tikrai teigiamų rezultatų.

2002 m. 2005 m. ir kiekybinių ir kokybinių kriterijų pasiskirstymas grupėse pavaizduotas 3.16. paveiksle.



**3.16. pav.** VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos 2002 m. ir 2005 m. kiekybinių ir kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų analizės rezultatai.

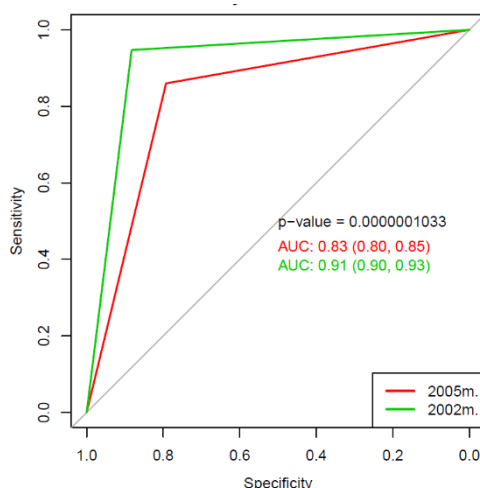
Matyti, kad teisingai teigiamų rezultatų grupės dalis pagal 2002 m. kriterijus buvo didesnė nei pagal 2005 m. kriterijus (pagal 2005 m. kriterijus nustatyti 49 atvejai (20,4 %), o pagal 2002 m. – 53 atvejai (22,1 %)), teisingai neigiamų rezultatų dalis taip pat padidėjo pagal 2002 m. kriterijus (pagal 2005 m. kriterijus nustatyti 100 atvejų (41,7 %), o pagal 2002 m. – 104 atvejai (43,3 %)). Svarbu paminėti, kad klaidingai teigiamų bei klaidingai neigiamų atvejų skaičius sumažėjo, pritaikius 2002 m. kiekybinius ir kokybinius kriterijus.

#### 3.4. Automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumas VUL SK bendruose skyriuose

VUL SK bendruose skyriuose atlikta kiekybinių, kokybinių ir bendra tiek kiekybinių, tiek kokybinių kriterijų tinkamumo analizė remiantis 2002 m. Gulati ir bendra autorių publikuotais, bei 2005 m. TLHD kriterijais.

### 3.4.1. Kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumas VUL SK bendruose skyriuose

Bendruose skyriuose atliktų hematologinio tyrimo paskyrimo tinkamumui vertinti pagal 2005 m. ir 2002 m. kiekybinius automatizuoto BKT peržiūros kriterijus buvo apskaičiuotas jų specifiškumas ir jautrumas. Nustatyta, kad naudojant 2002 m. kiekybinius kriterijus, gaunami tiek jautresni, tiek specifiškesni rezultatai: 2005 m. kiekybinių kriterijų jautrumas buvo 0,61, specifiškumas 0,94, o 2002 m. atitinkamai – 0,72 ir 0,98. Tai įrodo ir apskaičiuoti teigiami ir neigiami tikėtinumo santykiai: 2005 m.  $LR_+ = 9,86$ ,  $LR_- = 0,42$ , o 2002 m.  $LR_+ = 37,9$ ,  $LR_- = 0,28$ . Taip pat, tai patvirtina ir 3.17. paveiksle pavaizduotos sprendimus priimančiojo ypatybių kreivės (ROC), nes 2002 m. kiekybinių kriterijų plotas po ROC kreive (AUC) yra didesnis (2002 m. AUC: 0,91 (PI<sub>95%</sub>: 0,90; 0,93), o 2005 m. AUC: 0,83 (PI<sub>95%</sub>: 0,80; 0,85) ir rezultatai yra statistiškai reikšmingi, nes  $p < 0,01$ .



**3.17. pav.** Bendrų VUL SK skyrių 2005 m. ir 2002 m. kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų ROC kreivės.

Įvertinti kiekybinių kriterijų jautrumui ir specifiškumui apskaičiuota Youden J statistika, kuri 2005 m. kriterijams yra 0,54, o 2002 m. kriterijams – 0,70.

Kadangi nustatyta, kad 2002 m. kiekybiniai kriterijai pagal visus statistinius rodiklius yra tinkamesni, todėl visi šie rodikliai apskaičiuoti kiekvienam kiekybiniam kriterijui atskirai (žr. 8 priedas).

**3.17. lentelė.** Bendrų VUL SK skyrių 2002 m. kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų rodiklių suvestinė.

	Jautrumas	Specifiškumas	LR <sub>+</sub>	LR <sub>-</sub>	AUC (PI <sub>95%</sub> )	J
Leukocitai	0,19	0,99	30,13	0,81	0,83 (0,79;0,86)	0,18
Hemoglobinas	0,10	0,99	63,43	0,90	0,83 (0,80;0,87)	0,09
Vidutinis eritrocitų tūris (MCV)	0,09	0,98	4,23	0,93	0,68 (0,61;0,75)	0,07
Vidutinė hemoglobino koncentracija eritrocituose (MCHC)	0,01	0,99	1010,10	0,99	0,84 (0,83;0,86)	0,01
Eritrocitų pasiskirstymo plotis (RDW)	0,07	0,98	4,23	0,95	0,68 (0,59;0,77)	0,05
Trombocitai	0,04	0,94	0,58	1,03	0,44 (0,39;0,50)	0
Neutrofilai	0,09	0,99	9491,53	0,91	0,85 (0,84;0,87)	0,09
Limfocitai	0,04	0,99	27,49	0,96	0,81 (0,74;0,88)	0,04
Monocitai	0,07	0,97	2,23	0,96	0,60 (0,52;0,68)	0,04
Eozinofilai	0,01	0,99	3367,00	0,99	0,84 (0,82;0,85)	0,01
Bazofilai	0,01	0,99	3367,00	0,99	0,84 (0,82;0,85)	0,01
Normoblastai (NRBC)	0,15	0,99	31,01	0,86	0,82 (0,79;0,86)	0,14

LR<sub>+</sub> - teigiamas tikėtinumo santykis;  
 LR<sub>-</sub> - neigiamas tikėtinumo santykis;  
 AUC (PI<sub>95%</sub>) – plotas po ROC kreive;  
 J – Youden J statistika.

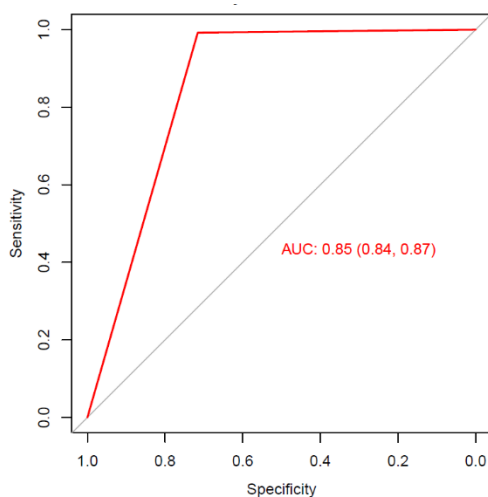
Iš 3.17. lentelės duomenų matyti, kad atskirų kiekybinių kriterijų jautrumas yra labai mažas, tačiau didžiausią jautrumą iš jų turi leukocitų rodiklis 0,19. Tuo tarpu, specifiškumas visų kriterijų yra puikus: net 8 iš 12 kiekybinių kriterijų yra 99 % atvejų specifiški (leukocitai, hemoglobinas, MCHC, neutrofilai, limfocitai, eozinofilai, bazofilai, normoblastai). Geriausias teigiamas tikėtinumo santykis nustatytas neutrofilams (9491,53), o neigiamas – leukocitams (0,81). Neutrofilų kiekybinis kriterijus, taip pat, užima ir didžiausią plotą po ROC kreive (0,85, kai PI<sub>95%</sub>: 0,84;0,87). Apskaičiuota Youden J statistika didžiausia leukocitams (0,18). Tačiau vertinant kiekvieną kiekybinį kriterijų atskirai, blogiausiu jautrumu bendruose VUL Santaros klinikų skyriuose pasižymi MCHC, eozinofilų bei bazofilų rodikliai (jų jautrumas siekia tik 0,01). Mažiausias specifiškumas nustatytas trombocitams (0,94). Pastarasis kiekybinis kriterijus yra blogiausias ir pagal teigiamą ir neigiamą tikėtinumo santykius (jo reikšmės



atitinkamai yra 0,58 ir 1,03). Be to, plotas po ROC kreive šio rodiklio mažiausias (0,44  $PI_{95\%}$ : 0,39;0,50) bei Youden indeksas yra lygus 0. Svarbu paminėti ir tai, kad eozinofilų ir bazofilų kiekybiniai kriterijai pagal visus rodiklius yra identiški.

### 3.4.2. Kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumas VUL SK bendruose skyriuose

Kokybinių kriterijų bendruose skyriuose tinkamumui nustatyti buvo taip pat apskaičiuotas šių kriterijų specifiškumas ir jautrumas. Atlikus analizę nustatyta, kad kokybinių kriterijų jautrumas buvo 0,36, specifiškumas 0,99. Kriterijų tinkamumą apibūdina apskaičiuoti teigiami ir neigiami tikėtimumo santykiai:  $LR_+ = 207,13$ ;  $LR_- = 0,64$ . Iš nubrėžtos ROC kreivės (žr. 3.18 pav.) matyti jog AUC reikšmė didelė t.y. 0,85 ( $PI_{95\%}$ : 0,84; 0,87).



**3.18. pav.** Bendrų VUL SK skyrių kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų ROC kreivė.

Įvertinti kokybinių kriterijų jautrumui ir specifiškumui apskaičiuota Youden J statistika, kuri yra 0,71.

Visi šie statistiniai rodikliai apskaičiuoti kiekvienam kokybiniam kriterijui atskirai (žr. 8 priedas).

**3.18. lentelė.** Bendrų VUL SK skyrių kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų rodiklių suvestinė.

	Jautrumas	Specifiškumas	LR <sub>+</sub>	LR <sub>-</sub>	AUC (PI <sub>95%</sub> )	J
Šistocitai/mikrocitiniai eritrocitai	0,05	0,99	5515,49	0,94	0,82 (0,80;0,83)	0,06
Dimorfinių eritrocitų populiacija	0,08	0,99	8450,70	0,92	0,82 (0,80;0,83)	0,08
„Nuokrypis į kairę“	0,07	0,99	7042,25	0,93	0,82 (0,80;0,83)	0,07
Neutrofilų blastai	0,03	0,99	2535,21	0,97	0,81 (0,79;0,82)	0,03
Limfocitų blastai	0,01	0,99	5633,80	0,99	0,81 (0,79;0,82)	0,01
Monocitų blastai	0,01	0,99	5633,80	0,99	0,81 (0,79;0,82)	0,01
Reakciniai limfocitai	0,04	0,99	4225,35	0,96	0,81 (0,80;0,83)	0,04
Nebrandūs garnulocitai	0,03	0,99	2535,21	0,97	0,81 (0,80;0,83)	0,03
Gigantiniai trombocitai	0,05	0,99	25,69	0,95	0,78 (0,72;0,84)	0,04
Trombocitų nuolaužos	0,05	0,99	4507,04	0,95	0,81 (0,80;0,83)	0,05

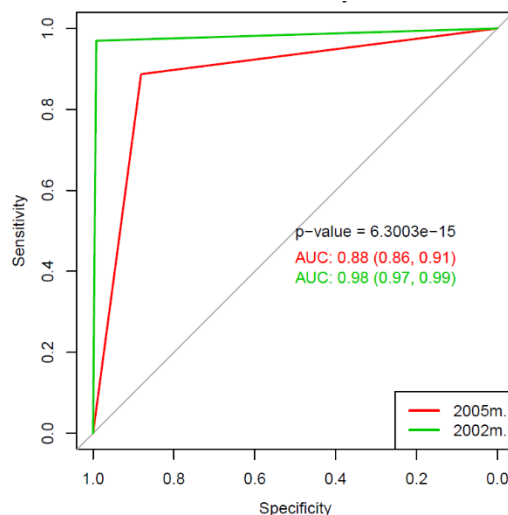
LR<sub>+</sub> - teigiamas tikėtinumo santykis;  
 LR<sub>-</sub> - neigiamas tikėtinumo santykis;  
 AUC (PI<sub>95%</sub>) – plotas po ROC kreive;  
 J – Youden J statistika.

Iš 3.18. lentelės duomenų matyti, kad kokybiniai kriterijai pavieniui pasižymi taip pat labai silpnu jautrumu, kaip ir kiekybiniai kriterijai bendriems VUL Santaros klinikų skyrimas. Tačiau didžiausią jautrumą turi dimorfinių eritrocitų populiacijos kokybinis kriterijus (0,08). Specifiškumas visų kriterijų yra identiškas ir beveik idealus – visi kriterijai 99 % atvejų yra teisingi. Didžiausias teigiamas tikėtinumo santykis nustatytas neutrofilams (8450,70). Šio kokybinio kriterijaus neigiamas tikėtinumo santykis taip pat geriausias – 0,92. Šistocitų/mikrocitinių eritrocitų, dimorfinių eritrocitų populiacijos bei nuokrypio į kairę kokybiniai kriterijai užima identišką ir didžiausią plotą po ROC kreive (0,82, kai PI<sub>95%</sub>: 0,80;0,83). Apskaičiuota Youden J statistika didžiausia dimorfinei eritrocitų populiacijai (0,08). Tačiau vertinant kiekvieną kokybinį kriterijų atskirai, blogiausiu jautrumu bendriems VUL SK skyriuose pasižymi monocitų ir limfocitų blastų rodikliai (jų jautrumas siekia tik 0,01). Abu šie kokybiniai kriterijai prasčiausi ir pagal neigiamą tikėtinumo santykį (0,99) bei Youden indeksą (0,01). Gigantinių trombocitų kokybinis kriterijus blogiausias pagal teigiamą tikėtinumo santykį (jo reikšmė yra 25,69) ir plotas po ROC kreive, taip pat, mažiausias (0,78 PI<sub>95%</sub>:

0,72;0,84). Svarbu paminėti ir tai, kad limfocitų bei monocitų blastų kokybiniai kriterijai pagal visus rodiklius yra identiški.

### 3.4.3. Kiekybinių ir kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumas VUL SK bendruose skyriuose

VUL SK bendrų skyrių rezultatų 2005 m. ir 2002 m. kiekybinių ir kokybinių kriterijų tinkamumui nustatyti taip pat buvo apskaičiuoti specifiškumas ir jautrumas. Atlikus analizę nustatyta, kad naudojant 2002 m. kriterijus, gaunami tiek jautresni, tiek specifiškesni rezultatai: 2005 m. kriterijų jautrumas buvo 0,80, specifiškumas 0,94, o 2002 m. atitinkamai – 0,98 ir 0,99. Tai įrodo ir apskaičiuoti teigiami ir neigiami tikėtinumo santykiai: 2005 m.  $LR_+ = 12,62$ ,  $LR_- = 0,22$ , o 2002 m.  $LR_+ = 69,13$ ,  $LR_- = 0,02$ . Tai patvirtina ir 3.19. paveiksle pavaizduotos ROC kreivės, nes 2002 m. kriterijų plotas po ROC kreive (AUC) yra didesnis (2002 m. AUC: 0,98 (PI<sub>95%</sub>: 0,97; 0,99), o 2005 m. AUC: 0,88 (PI<sub>95%</sub>: 0,86; 0,91)) ir rezultatai yra statistiškai reikšmingi, nes  $p < 0,01$ .



**3.19. pav.** Bendrų VUL SK skyrių kiekybinių ir kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų ROC kreivės.

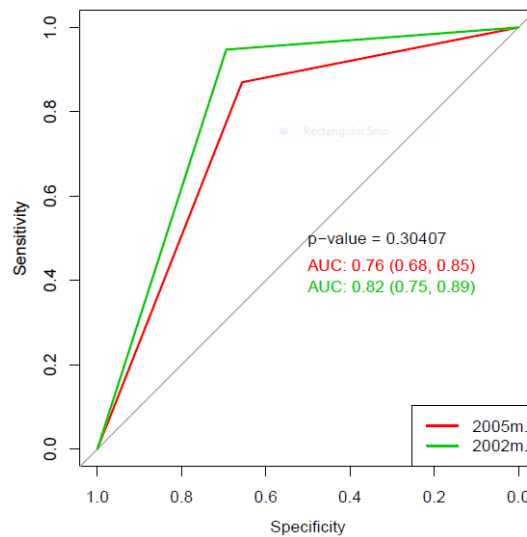
Įvertinti kiekybinių ir kokybinių kriterijų jautrumui ir specifiškumui apskaičiuota Youden J statistika, kuri 2005 m. yra 0,77, o 2002 m. – 0,96.

### 3.5. Automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumas VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose

VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose atlikta kiekybinių, kokybinių ir bendra tiek kiekybinių, tiek kokybinių kriterijų tinkamumo analizė, remiantis 2002 m. bei 2005 m. kriterijais.

### 3.5.1. Kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumas VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose

VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyrių tyrimų rezultatų 2005 m. ir 2002 m. kiekybinių kriterijų tinkamumui nustatyti buvo apskaičiuoti specifiškumas ir jautrumas. Atlikus analizę nustatyta, kad naudojant 2002 m. kiekybinius kriterijus, gaunami šiek tiek mažiau jautrūs, bet kur kas specifiškesni rezultatai: 2005 m. kiekybinių kriterijų jautrumas buvo 0,94, specifiškumas 0,44, o 2002m. atitinkamai – 0,92 ir 0,77. 2002 m. kiekybinių kriterijų rezultatų teigiami ir neigiami tikėtinumo santykiai taip pat geresni: 2005 m.  $LR_+ = 1,67$ ,  $LR_- = 0,13$ , o 2002 m.  $LR_+ = 4,06$ ,  $LR_- = 0,09$ . Iš 3.20. paveiksle pavaizduotos ROC kreivės matyti, kad pagal 2002 m. kiekybinius kriterijus atlikto tyrimo rezultatų plotas po ROC kreive yra didesnis lyginant su 2005 m. kiekybiniais kriterijais (2002 m. AUC: 0,82 (PI<sub>95%</sub>: 0,75; 0,89), o 2005 m. AUC: 0,76 (PI<sub>95%</sub>: 0,68; 0,85)). Tačiau rezultatai yra statistiškai nereikšmingi, nes  $p = 0,30$  ( $p > 0,05$ ).



**3.20. pav.** VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyrių 2005 m. ir 2002 m. kiekybinių kriterijų ROC kreivės.

Įvertinti kiekybinių kriterijų jautrumui ir specifiškumui apskaičiuota Youden J statistika, kuri 2005 m. yra 0,38, o 2002 m. – 0,69.

Kadangi nustatyta, kad 2002 m. kiekybinių kriterijų specifiškumas, tikėtinumo santykiai bei Youdeno J statistika gautiems rezultatams yra geresni – toliau analizuota minėtų metų kiekvienas kiekybinis kriterijus atskirai (žr. 9 priedas).

**3.19. lentelė.** VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyrių 2002 m. kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų rodiklių suvestinė.

	Jautrumas	Specifiškumas	LR <sub>+</sub>	LR <sub>-</sub>	AUC (PI <sub>95%</sub> )	J
Leukocitai	0,21	0,90	2,22	0,86	0,54 (0,50;0,58)	0,12
Hemoglobinas	0,12	0,97	3,71	0,91	0,55 (0,51;0,60)	0,08
Vidutinis eritrocitų tūris (MCV)	0,11	0,65	0,32	1,37	0,39 (0,31;0,47)	0
Vidutinė hemoglobino koncentracija eritrocituose (MCHC)	0,01	0,78	956,94	0,99	0,57 (0,54;0,59)	0,01
Eritrocitų pasiskirstymo plotis (RDW)	0,09	0,78	0,38	1,18	0,42 (0,32;0,51)	0
Trombocitai	0,13	0,68	0,39	1,29	0,37 (0,29;0,45)	0
Neutrofilai	0,12	0,99	1244,02	0,87	0,57 (0,55;0,60)	0,12
Limfocitai	0,06	0,96	1,78	0,97	0,53 (0,45;0,61)	0,03
Monocitai	0,09	0,48	0,17	1,89	0,30 (0,21;0,39)	0
Eozinofilai	0,004	0,99	47,85	0,99	0,56 (0,40;0,1,00)	0,01
Bazofilai	0,004	0,99	47,85	0,99	0,56 (0,40;1,00)	0,01
Normoblastai (NRBC)	0,19	0,94	2,89	0,86	0,55 (0,51;0,59)	0,12

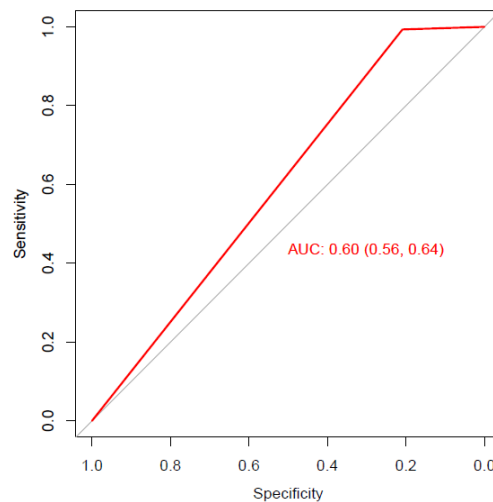
LR<sub>+</sub> - teigiamas tikėtumo santykis;  
 LR<sub>-</sub> - neigiamas tikėtumo santykis;  
 AUC (PI<sub>95%</sub>) – plotas po ROC kreive;  
 J – Youden J statistika.

Iš 3.19. lentelės duomenų matyti, kad atskirų kiekybinių kriterijų jautrumas yra labai mažas, tačiau didžiausią jautrumą iš jų turi leukocitų rodiklis (0,21). Tuo tarpu, specifiškumas daugumos kriterijų yra puikus: 3 iš 12 kiekybinių kriterijų yra 99 % atvejų specifiški (neutrofilai, eozinofilai, bazofilai). Geriausias teigiamas tikėtumo santykis nustatytas neutrofilams (1244,02), o neigiamas – leukocitams (0,86) bei normoblastams (0,86). Neutrofilų kiekybinis kriterijus, taip pat, užima ir didžiausią plotą po ROC kreive (0,57, kai PI<sub>95%</sub>: 0,55;0,60). Toks pats užimamas plotas po ROC kreive gautas ir MCHC rodikliui (0,57; PI<sub>95%</sub>: 0,54;0,59), tačiau Youden J statistika rodo, jog kriterijus nėra tinkamas (0,01). Youden J statistika didžiausia trimis kriterijams: leukocitams (0,12), neutrofilams (0,12) bei normoblastams (0,12). O blogiausiu jautrumu reanimacijos – intensyvios terapijos VUL SK

skyriuose pasižymi MCHC (0,01), eozinofilų bei bazofilų rodikliai (jų jautrumas siekia tik po 0,004). Mažiausias specifiškumas nustatytas monocitams (0,48). Pastarasis kiekybinis kriterijus yra blogiausias ir pagal teigiamą ir neigiamą tikėtinumo santykius (jo reikšmės atitinkamai yra 0,17 ir 1,89). Be to, plotas po ROC kreive šio rodiklio mažiausias (0,30;  $PI_{95\%}$ : 0,21;0,39) bei Youden indeksas yra lygus 0. Svarbu paminėti ir tai, kad eozinofilų ir bazofilų kiekybiniai kriterijai pagal visus rodiklius yra identiški.

### 3.5.2. Kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumas VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose

VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyrių kokybinių kriterijų tinkamumui nustatyti taip pat buvo apskaičiuoti specifiškumas ir jautrumas. Atlikus analizę nustatyta, kad kokybinių kriterijų jautrumas buvo 0,67, specifiškumas 0,95. Be to, kriterijų tinkamumą apibūdina apskaičiuoti teigiami ir neigiami tikėtinumo santykiai:  $LR_+ = 13,45$ ;  $LR_- = 0,34$ . Iš nubrėžtos ROC kreivės (3.21. pav.) matyti jog AUC reikšmė yra 0,60 ( $PI_{95\%}$ : 0,56; 0,64).



**3.21. pav.** VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyrių kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų ROC kreivė.

Įvertinti kokybinių kriterijų jautrumui ir specifiškumui apskaičiuota Youden J statistika, kuri yra 0,62.

Visi šie statistiniai rodikliai apskaičiuoti kiekvienam kokybiniam kriterijui atskirai (žr. 9 priedas).

**3.20. lentelė.** VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyrių kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų rodiklių suvestinė.

	Jautrumas	Specifiškumas	LR <sub>+</sub>	LR <sub>-</sub>	AUC (PI <sub>95%</sub> )	J
Šistocitai/mikrocitiniai eritrocitai	0,05	0,99	454,54	0,95	0,54 (0,53;0,56)	0,05
Dimorfinių eritrocitų populiacija	0,09	0,99	863,64	0,91	0,55 (0,53;0,56)	0,09
„Nuokrypis į kairę“	0,19	0,99	1954,55	0,80	0,54 (0,53;0,56)	0,19
Neutrofilų blastai	0,05	0,99	500,0	0,95	0,54 (0,53;0,56)	0,05
Limfocitų blastai	0,01	0,99	136,36	0,99	0,54 (0,52;0,56)	0,01
Monocitų blastai	0,01	0,99	90,91	0,99	0,54 (0,52;0,56)	0,01
Reakciniai limfocitai	0,06	0,99	59,1	0,94	0,57 (0,55;0,60)	0,06
Nebrandūs granulocitai	0,04	0,99	363,6	0,90	0,54 (0,53;0,56)	0,04
Gigantiniai trombocitai	0,09	0,95	1,91	0,95	0,56 (0,51;0,62)	0,05
Trombocitų nuolaužos	0,09	0,99	8636,4	0,90	0,55 (0,53;0,56)	0,09

LR<sub>+</sub> - teigiamas tikėtinumo santykis;

LR<sub>-</sub> - neigiamas tikėtinumo santykis;

AUC (PI<sub>95%</sub>) – plotas po ROC kreive;

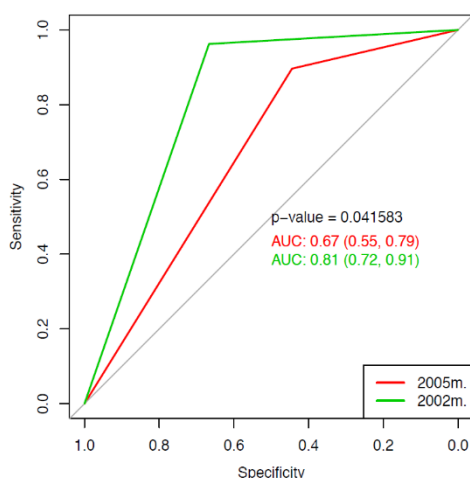
J – Youden J statistika.

Iš 3.20. lentelės duomenų matyti, kad kokybiniai kriterijai pavieniui pasižymi taip pat labai silpnu jautrumu, kaip ir kiekybiniai kriterijai. Tačiau didžiausią jautrumą turi nuokrypio į kairę kokybinis kriterijus (0,19). Specifiškumas visų kriterijų yra labai geras – 9 iš 10 rodiklių 99% atvejų yra teisingi: šistocitų/mikrocitinių eritrocitų, dimorfinių eritrocitų populiacijos, nuokrypio į kairę, neutrofilų blastų, limfocitų blastų, monocitų blastai, reakcinių limfocitų, nebrandžių granulocitų ir trombocitų nuolaužų. Didžiausias teigiamas tikėtinumo santykis nustatytas trombocitų nuolaužoms (8636,4). Visų kriterijų neigiami tikėtinumo santykiai yra gan aukšti, o tai nurodo, jog nei vienas atskiras kriterijus nėra pakankamai tinkamas naudoti. Nuokrypio į kairę kokybinio kriterijaus neigiamas tikėtinumo santykis yra geriausias – 0,80. Nors ir šio rodiklio plotas po ROC kreive nėra didžiausias (0,54, kai PI<sub>95%</sub>: 0,53;0,56), tačiau Youden J statistika (0,19) nurodo, jog būtent šis kriterijus yra tinkamiausias. Blogiausiu jautrumu pasižymi monocitų ir limfocitų blastų rodikliai (jų jautrumas siekia tik 0,01). Mažiausias specifiškumas (0,95) nustatytas gigantinių trombocitų rodikliui. Gigantinių trombocitų rodiklis pasižymi teigiamo tikėtinumo santykio blogiausia reikšme (1,91), o neigiamo tikėtinumo santykio blogiausi rezultatai priklauso keliems rodikliams: limfocitų ir monocitų blastams (po 0,99). Mažiausias plotas po ROC kreive nustatytas

šistocitų/mikrocitinių eritrocitų, nuokrypio į kairę, monocitų, neutrofilų, limfocitų blastų bei nebrandžių granulocitų rodikliams. Apskaičiavus Youdeno J statistika gauta, jog mažiausiai tinkami kriterijai yra monocitų bei limfocitų blastai.

### 3.5.3. Kiekybinių ir kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumas VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose

VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyrių rezultatų 2005 m. bei 2002 m. kiekybinių ir kokybinių kriterijų tinkamumui nustatyti buvo apskaičiuoti specifiskumas ir jautrumas. Atlikus analizę nustatyta, kad naudojant 2002 m. kriterijus, gaunami kur kas specifiškesni ir šiek tiek jautresni rezultatai: 2005 m. kriterijų jautrumas buvo 0,95, specifiskumas 0,26, o 2002m. atitinkamai – 0,96 ir 0,69. Tai įrodo ir apskaičiuoti teigiami ir neigiami tikėtinumo santykiai: 2005 m.  $LR_+ = 1,28$ ;  $LR_- = 0,19$ , o 2002 m.  $LR_+ = 3,11$ ,  $LR_- = 0,06$  bei Youdeno J statistika: 2005 m.  $J = 0,21$ , o 2002 m.  $J = 0,65$ .



**3.22. pav.** VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyrių kiekybinių ir kokybinių kriterijų ROC kreivės.

Iš 3.22. paveikslo matyti, kad AUC plotas pavaizduotos po ROC kreivėmis yra didesnis pagal 2002 m. kriterijus, nei 2005 m. ir rezultatai yra statistiškai reikšmingi: 2002 m. AUC: 0,81 (PI<sub>95%</sub>: 0,72; 0,91), o 2005 m. AUC: 0,67 (PI<sub>95%</sub>: 0,55; 0,79),  $p = 0,042$  ( $p < 0,05$ ).

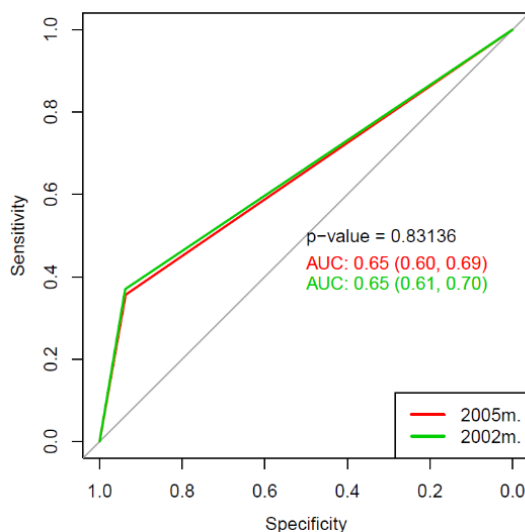
### 3.6. Automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumas VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje

VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikai atlikta kiekybinių, kokybinių ir bendra tiek kiekybinių, tiek kokybinių kriterijų tinkamumo analizė remiantis 2002 m. Gulati ir bendraautorių publikuotais, bei 2005 m. TLHD kriterijais.



### 3.6.1. Kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumas VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje

VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos rezultatų 2005 m. ir 2002 m. kiekybinių kriterijų tinkamumui nustatyti buvo apskaičiuoti specifiškumas ir jautrumas. Atlikus analizę nustatyta, kad naudojant 2002 m. kiekybinius kriterijus, gaunami šiek tiek jautresni ir specifiškesni rezultatai: 2005 m. kiekybinių kriterijų jautrumas buvo 0,86, specifiškumas 0,55, o 2002 m. atitinkamai – 0,87 ir 0,57. Tai įrodo ir apskaičiuoti teigiami ir neigiami tikėtinumo santykiai: 2005 m.  $LR_+ = 1,90$ ,  $LR_- = 0,26$ , o 2002 m.  $LR_+ = 2,02$ ,  $LR_- = 0,22$ . Tačiau 3.23. paveiksle pavaizduotos ROC kreivės, patikimai reikšmingų skirtumų, tarp šių metų kriterijų, nenurodo. Matyti, kad tiek 2002 m., tiek 2005 m. kiekybinių kriterijų plotas po ROC kreive yra toks pats (2002 m. AUC: 0,65 (PI<sub>95%</sub>: 0,61; 0,70), o 2005 m. AUC: 0,65 (PI<sub>95%</sub>: 0,60; 0,69) ir rezultatai yra statistiškai nereikšmingi, nes  $p = 0,83$  ( $p > 0,05$ ).



**3.23. pav.** VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos 2005 m. ir 2002 m. kiekybinių kriterijų ROC kreivės.

Įvertinti kiekybinių kriterijų jautrumui ir specifiškumui apskaičiuota Youden J statistika, kuri 2005 m. yra 0,41, o 2002 m. – 0,44.

Kadangi nustatyta, kad 2002 m. kiekybinių kriterijų jautrumo, specifiškumo, tikėtinumo santykių bei Youdeno J statistikos gauti rezultatai yra geresni, todėl toliau analizuota šių metų kiekvienas kiekybinis kriterijus atskirai (žr. 10 priedas).

**3.21. lentelė.** VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos 2002 m. kiekybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų rodiklių suvestinė.

	Jautrumas	Specifiškumas	LR <sub>+</sub>	LR <sub>-</sub>	AUC (PI <sub>95%</sub> )	J
Leukocitai	0,44	0,97	20,67	0,56	0,86 (0,79;0,93)	0,42
Hemoglobinas	0,04	0,99	6,89	0,97	0,83 (0,80;0,87)	0,03
Vidutinis eritrocitų tūris (MCV)	0,20	0,97	6,31	0,82	0,73 (0,61;0,85)	0,17
Vidutinė hemoglobino koncentracija eritrocituose (MCHC)	0,06	0,99	10,22	0,95	0,76 (0,52;1,0)	0,05
Eritrocitų pasiskirstymo plotis (RDW)	0,09	0,98	8,61	0,92	0,75 (0,57;0,93)	0,08
Trombocitai	0,13	0,92	2,4	0,92	0,60 (0,48;0,72)	0,08
Neutrofilai	0,20	0,97	7,58	0,82	0,75 (0,63;0,87)	0,18
Limfocitai	0,13	0,99	12,06	0,88	0,79 (0,64;0,93)	0,12
Monocitai	0,07	0,98	4,59	0,94	0,68 (0,48;0,88)	0,06
Eozinofilai	0,04	0,99	6,89	0,97	0,72 (0,40;1,0)	0,03
Bazofilai	0,04	0,99	6,89	0,97	0,72 (0,40;1,0)	0,03
Normoblastai (NRBC)	0,39	0,98	24,11	0,61	0,86 (0,79;0,93)	0,37

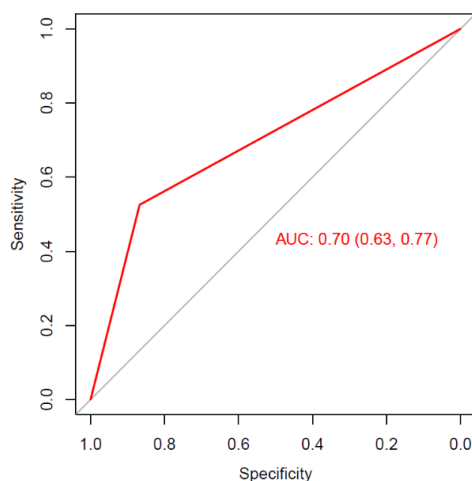
LR<sub>+</sub> - teigiamas tikėtinumo santykis;  
 LR<sub>-</sub> - neigiamas tikėtinumo santykis;  
 AUC (PI<sub>95%</sub>) – plotas po ROC kreive;  
 J – Youden J statistika.

Iš 3.21. lentelės duomenų matyti, kad atskirų kiekybinių kriterijų jautrumas yra mažas, tačiau didžiausią jautrumą iš jų turi leukocitų rodiklis (0,44). Tuo tarpu, specifiškumas visų kriterijų yra puikus: 5 iš 12 kiekybinių kriterijų yra 99 % atvejų specifiški (hemoglobinas, MCHC, limfocitai, eozinofilai, bazofilai). Geriausias teigiamas tikėtinumo santykis nustatytas NRBC rodikliui (24,11), o neigiamas – leukocitams (0,56). Leukocitų ir NRBC kiekybiniai kriterijai, taip pat, užima ir didžiausią plotą po ROC kreive (0,86, kai PI<sub>95%</sub>: 0,79; 0,93). Apskaičiuota Youden J statistika didžiausia leukocitams (0,42). Tačiau vertinant kiekvieną kiekybinį kriterijų atskirai, blogiausiu jautrumu VUL Santaros klinikų hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje pasižymi hemoglobino, eozinofilų bei bazofilų rodikliai (jų jautrumas siekia tik 0,04). Mažiausias specifiškumas nustatytas trombocitams (0,92). Pastarasis kiekybinis

kriterijus yra blogiausias ir pagal teigiamą tikėtinumo santykį (2,4). Neigiamas tikėtinumo santykis prasčiausias trims kiekybiniais kriterijams: hemoglobiniui, eozinofilams ir bazofilams (jų reikšmė yra 0,97). Be to, plotas po ROC kreive mažiausias trombocitų rodikliui (0,60  $PI_{95\%}$ : 0,48;0,72), o Youden indeksas silpniausias hemoglobiniui, eozinofilams ir bazofilams (0,03). Svarbu paminėti ir tai, kad eozinofilų ir bazofilų kiekybiniai kriterijai pagal visus rodiklius yra identiški, o hemoglobino nuo jų skiriasi tik užimamu plotu po ROC kreive.

### 3.6.2. Kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumas VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje

VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos kokybinių kriterijų tinkamumui nustatyti taip pat buvo apskaičiuoti specifiškumas ir jautrumas. Atlikus analizę nustatyta, kad kokybinių kriterijų jautrumas buvo 0,56, specifiškumas 0,85. Taip pat kriterijų tinkamumą apibūdina apskaičiuoti teigiami ir neigiami tikėtinumo santykiai:  $LR_+ = 3,86$ ;  $LR_- = 0,51$ . Iš nubrėžtos ROC kreivės (3.24. pav.) matyti, jog AUC reikšmė yra 0,70 ( $PI_{95\%}$ : 0,63; 0,77).



3.24. pav. VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų ROC kreivė.

Įvertinti kokybinių kriterijų jautrumui ir specifiškumui apskaičiuota Youden J statistika, kuri yra 0,42.

Visi šie statistiniai rodikliai apskaičiuoti kiekvienam kokybiniam kriterijui (žr. 10 priedas).

**3.22. lentelė.** VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų rodiklių suvestinė.

	Jautrumas	Specifiškumas	LR <sub>+</sub>	LR <sub>-</sub>	AUC (PI <sub>95%</sub> )	J
Šistocitai/mikrocitiniai eritrocitai	0,02	0,98	0,84	1,04	0,49 (0,29;0,68)	0
Dimorfinių eritrocitų populiacija	0,09	0,98	5,6	0,93	0,71 (0,53;0,89)	0,07
„Nuokrypis į kairę“	0,20	0,97	9,25	0,82	0,77 (0,65;0,89)	0,18
Neutrofilų blastai	0,04	0,99	6,73	0,97	0,72 (0,39;1,0)	0,03
Limfocitų blastai	0,09	0,99	16,82	0,91	0,81 (0,64;0,98)	0,08
Monocitų blastai	0,05	0,99	10,25	0,95	0,76 (0,52;1,0)	0,05
Reakciniai limfocitai	0,36	0,97	13,4	0,65	0,82 (0,73;0,90)	0,33
Nebrandūs granulocitai	0,25	0,97	11,7	0,73	0,82 (0,72;0,92)	0,23
Gigantiniai trombocitai	0,16	0,98	10,1	0,85	0,77 (0,64;0,90)	0,15
Trombocitų nuolaužos	0,05	0,99	10,1	0,95	0,76 (0,52;1,0)	0,05

LR<sub>+</sub> - teigiamas tikėtinumo santykis;

LR<sub>-</sub> - neigiamas tikėtinumo santykis;

AUC (PI<sub>95%</sub>) – plotas po ROC kreive;

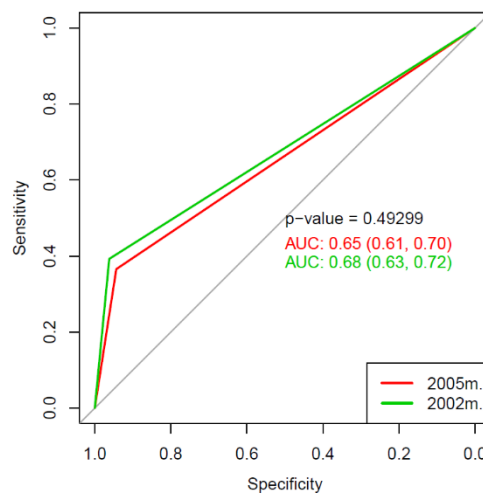
J – Youden J statistika.

Iš 3.22. lentelės duomenų matyti, kad kokybiniai kriterijai pavieniui pasižymi taip pat labai silpnu jautrumu, kaip ir kiekybiniai kriterijai VUL Santaros klinikų hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje. Tačiau didžiausią jautrumą turi reakcinių limfocitų kokybinis kriterijus (0,36). Specifiškumas visų kriterijų yra labai geras – 4 iš 10 rodiklių 99 % atvejų yra teisingi: neutrofilų blastai, monocitų blastai, limfocitų blastai ir trombocitų nuolaužos. Didžiausias teigiamas tikėtinumo santykis nustatytas limfocitų blastams (16,82). Reakcinių limfocitų kokybinio kriterijaus neigiamas tikėtinumo santykis yra geriausias – 0,65. Šio rodiklio bei nebrandžių granulocitų užimi plotai po ROC kreive yra identiški ir didžiausi (0,82, kai PI<sub>95%</sub>: 0,72; 0,92). Apskaičiuota Youden J statistika, taip pat, didžiausia reakciniams limfocitams (0,33). Tačiau vertinant kiekvieną kokybinį kriterijų atskirai, blogiausiu jautrumu VUL Santaros klinikų hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikai pasižymi šistocitų/mikrocitinių eritrocitų kokybinis rodiklis (jų jautrumas siekia tik 0,02). Mažiausias specifiškumas (0,97) nustatytas trimis kokybiniais kriterijams: nuokrypiui į kairę, reakciniams limfocitams ir nebrandiems granulocitams. Visi likę statistiniai rodikliai (teigiamas ir neigiamas tikėtinumo santykiai, plotas po ROC kreive ir Youden J statistika) blogiausi

šistocitų/mikrocitinių eritrocitų kokybiniui rodikliui (atitinkamai 0,84; 1,04; 0,49, kai  $PI_{95\%}$ : 0,29;0,68 ir 0).

### 3.6.3. Kiekybinių ir kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumas VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje

VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos rezultatų 2005 m. ir 2002 m. kiekybinių ir kokybinių kriterijų tinkamumui nustatyti buvo apskaičiuoti specifiškumas ir jautrumas. Atlikus analizę nustatyta, kad naudojant 2002 m. kriterijus, gaunami šiek tiek jautresni bei šiek tiek specifiškesni rezultatai: 2005 m. kriterijų jautrumas buvo 0,89, specifiškumas 0,54, o 2002 m. atitinkamai – 0,93 ir 0,56. Tai įrodo ir apskaičiuoti teigiami ir neigiami tikėtinumo santykiai: 2005 m.  $LR_+ = 1,94$ ;  $LR_- = 0,20$ , o 2002 m.  $LR_+ = 2,12$ ,  $LR_- = 0,12$  bei Youdeno J statistika: 2005 m.  $J = 0,43$ , o 2002 m.  $J = 0,49$ .



**3.25. pav.** VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos kiekybinių ir kokybinių automatizuoto BKT peržiūros kriterijų ROC kreivės.

Tačiau iš 3.25. paveikslo matyti, kad nors ir AUC plotas pavaizduotas po ROC kreivėmis yra didesnis pagal 2002 m. kriterijus, nei 2005 m. tačiau rezultatai yra statistiškai nereikšmingi: 2002 m. AUC: 0,68 ( $PI_{95\%}$ : 0,63; 0,72), o 2005 m. AUC: 0,65 ( $PI_{95\%}$ : 0,61; 0,70),  $p = 0,49$  ( $p > 0,05$ ).

#### 4. REZULTATŲ APTARIMAS

Paskelbus tarptautinius citomorfologinio kraujo tepinėlio vertinimo kriterijus, kiekviena laboratorija prieš pradėdama juos taikyti praktikoje, turėtų įsivertinti jų tinkamumą konkrečiai pacientų populiacijai su kuria yra dirbama, tad paskelbiama vis daugiau publikacijų apie įvairių šalių patirtį šiuo klausimu. Kaip antai 2014 m. Comar PR., su kolegomis vykdė tyrimą norėdami patikrinti ar Tarptautinės Laboratorinės Hematologijos Draugijos kriterijai yra tinkami Brazilijos Paranos Universiteto Ligoninės Hematologijos laboratorijai. Ištyrę 1977 mėginius ir apskaičiavę klaidingai teigiamas, klaidingai neigiamas vertes ir efektyvumą, padarė išvadą jog 2005 m. TLHD kriterijai nėra nei tinkami, nei saugūs naudoti Paranos laboratorijoje. Šis tyrimas lėmė, kad būtų sukurti ir patvirtinti institucijos specifiniai peržiūros kriterijai, kuriuos naudojant būtų užtikrinamas pacientų saugumas maksimaliai sumažinant klaidingai neigiamų tyrimų rezultatus ir kartu nebūtų sukuriama pernelyg daug nereikalingo rankų darbo dėl gausių klaidingai teigiamų tyrimų rezultatų. Taigi, norėdami rasti idealius Paranos laboratorijai citomorfologinio kraujo tepinėlio vertinimo kriterijus 2017 m. Comar PR., su bendraautoriais atliko papildomą tyrimą, kurio metu palygino savo sukurtus kriterijus su 2005 m. TLDH kriterijais ir išsiaiškino, kad geriausi tyrimų rezultatai buvo gauti pritaikius pačios laboratorijos sukurtus peržiūros kriterijus. Akivaizdu, kad kiekviena laboratorija turėtų susikurti savo aptarnaujamų pacientų populiacijai priderintus peržiūros kriterijus ir juos optimizuoti siekiant padidinti rezultatų peržiūros efektyvumą ir saugumą.

Analogiška situacija yra stebima atlikus šio darbo tyrimą VUL SK populiacijai. Analizuojant VUL SK bendrų skyrių ir reanimacijos – intensyvios terapijos ir hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos užsakovo sprendimu paskirtų kraujo citomorfologinių tepinėlius, pagal 2005 m. ir 2002 m. kriterijus, įvertintas citomorfologinio kraujo ištyrimo pagrįstumas bei nagrinėtas minėtų kriterijų tinkamumas VUL SK pacientų populiacijai. Šio tyrimo metu nustatyta, jog 2002 m. kriterijai generuoja mažiau klaidingai neigiamų bei klaidingai teigiamų rezultatų lyginant juos su 2005 m. kriterijais. Šiuos skirtumus galimai lemia parinkti skirtingi pamatiniai biologinių verčių intervalai: daugiausiai skirtumų aptinkama dėl normoblastų vertės sumažinimo, nes pagal 2002 m. rekomendacijas teigiama kriterijaus reikšmė yra tuomet, kai automatizuotu BKT aptinkama  $>2 \cdot 10^9/l$  nebrandžių eritrocitų periferiniame kraujyje, o pagal 2005 m. atitinkamai  $>0 \cdot 10^9/l$ . Svarbu paminėti, kad į 2002 m. kriterijus nėra įtraukta apatinis leukocitų biologinių verčių intervalas ( $<4 \cdot 10^9/l$ ), bei RDW rodiklis. Trombocitų pamatinis biologinių verčių intervalas pagal 2002 m. kriterijus yra du kartus žemesnė ( $<50 \cdot 10^9/l$ ) negu pagal 2005 m. kriterijus ( $<100 \cdot 10^9/l$ ). Šio darbo tyrimas atskleidė, kad 2002 m. kriterijai yra tinkamesni VUL SK bendriems (2002 m. AUC:0,98 (PI<sub>95%</sub>:

0,97; 0,99);  $J = 0,96$ ; 2005 m. AUC:0,88 (PI<sub>95%</sub>: 0,86; 0,91);  $J = 0,77$ , kai  $p < 0,01$ ) ir reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose (2002 m. AUC:0,81 (PI<sub>95%</sub>: 0,72; 0,91);  $J = 0,65$ ; 2005 m. AUC:0,67 (PI<sub>95%</sub>: 0,55; 0,79);  $J = 0,21$ , kai  $p < 0,05$ ), o hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje nėra esminio skirtumo tarp šių dviejų kriterijų (2002 m. AUC:0,68 (PI<sub>95%</sub>: 0,63; 0,72);  $J = 0,49$ , 2005 m. AUC:0,65 (PI<sub>95%</sub>: 0,61; 0,70);  $J = 0,43$ , nes rezultatai nėra statistiškai reikšmingi  $p > 0,05$ ). Tokius rezultatus gali lemti tai, kad didžioji dalis pacientų hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikoje yra sergantys onkologinėmis ligomis, o tai generuoja ryškius normoblastų bei leukocitų rodiklių pokyčius.

Šio tyrimo metu taip pat nustatyta, kad negalima skirti citomorfologinio kraujo tepinėlio užsakymo, remiantis atskirai tik kiekybiniais ar kokybiniais automatizuoto BKT analizatoriaus rodiklių kriterijais, o yra būtinas jų bendras įvertinimas: bendriems ir reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose klaidingai teigiamų ir klaidingai neigiamų rezultatų dalis yra kur kas didesnė, analizuojant kiekybinius kriterijus atskirai, o kokybiniai kriterijai generuoja itin daug klaidingai neigiamų rezultatų. Tokie rezultatai gaunami todėl, kad įspėjimus hematologinis analizatorius pateikia tik tuomet, kai yra žymūs kraujo sudėties pakitimai, tačiau nesignalizuoja apie smulkesnius nuokrypius nuo referentinių ribų. Tai, kad hematologijos bei onkologijos konsultacijos poliklinikai remiantis tik kokybiniais kriterijais gauta ne tik daug klaidingai neigiamų bet ir klaidingai teigiamų rezultatų, o remiantis bendrais kriterijais gaunamas didelis kiekis klaidingai teigiamų rezultatų, galima daryti išvadą, jog kriterijai nėra tinkami būtent šiai skyrių grupei.

Šio tyrimo metu nustatyta, kad kiekybiniai leukocitų ir neutrofilų kriterijai pagal statistinių rodiklių (jautrumas, LR-,  $J$ ) reikšmes bei mažiausią klaidingai neigiamų rezultatų kiekį yra tinkamiausi norint tikslingai paskirti periferinio kraujo citomorfologinį tepinėlį. Galima teigti, kad šie rodikliai tinkamiausi, nes jiems mažiausiai įtakos turi preanalizės klaidos ir jie yra ne išvestiniai, o tiesiogiai nustatomi rodikliai, skirtingai negu MCHC ar RDW – tai atsispindi ir šio tyrimo rezultatuose, nes pastarųjų kriterijų statistinių rodiklių (jautrumas, LR-,  $J$ ) reikšmės yra prastos. Mažiausiai tinkamas kriterijus, pagal stebimas jo statistinių rodiklių reikšmes, yra trombocitų kiekybinis kriterijus. Tai gali lemti būsenos, tokios kaip pseudotrombocitopenija dėl antikūnų sukeltos agliutinacijos (EDTA priklausoma agliutinacija ar trombocitų satelizmas (adhezija prie neutrofilų)) arba antrinės agregacijos dėl preanalizės fazės klaidų (kraujo paėmimo ar pavėluoto sumaišymo su antikoaguliantu).

Žvelgiant į kokybinius kriterijus pastebėta, kad tik gigantinių trombocitų kriterijus lemia klaidingai teigiamus rezultatus. Tai įmanoma dėl EDTA, kuris gali sukelti trombocitų sulipimą dėl ko jie atrodo didesni, todėl tokiais atvejais paciento kraują reikėtų imti į mėgintuvėlį su kitu

antikoaguliantu, pavyzdžiui natrio citratu (Shabnam *et al.*, 2014) arba dėl paciento vartojamų vaistų tokių kaip chininas, vankomicinas, karbamazepinas (Richard *et al.*, 2007).

Vienas svarbiausių tyrimo aspektų yra paskiriamo citomorfologinio tepinėlio tikslingumas. Žvelgiant į rezultatus matyti, kad didžioji dalis užsakovo sprendimu paskirtų periferinio kraujo tepinėlių generuoja teisingai neigiamus rezultatus (624 atvejai bendruose skyriuose iš 925; 18 atvejų reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose iš 240; 104 atvejai hematologijos bei onkologijos konsultacijos poliklinikoje iš 240). Tai rodo, kad citomorfologiniai kraujo tepinėlio tyrimai buvo paskirti netikslingai, nes hematologiniu analizatoriumi negaunama nuokrypių, o tepinėliai vis tiek yra užsakomi ir mikroskopijos metu patvirtinama jog jokių pokyčių nėra. Galima daryti prielaidą, kad dėl šios priežasties, užsakovui paskiriant citomorfologinius kraujo tepinėlius be peržiūros kriterijų yra švaistomos pacientų bei VUL SK lėšos ir laboratorijos darbuotojų darbo laiko bei reagentų sąnaudos.

Visiškai kitokia Tailando Siriraj Ligoninės laboratorijos patirtis. Šioje ligoninėje buvo atliktas tyrimas, kurio metu buvo palyginta laboratorijos naudojami kriterijai su 2005 m. kriterijais, o vėliau mėginta juos optimizuoti siekiant geresnio efektyvumo. Ištyrus 2114 mėginius buvo nustatyta, kad tiek efektyvumo, tiek klaidingai neigiamų mėginių skaičių, tyrimo rezultatai yra kur kas geresni naudojant 2005 m. kriterijus, o po jų optimizavimo rezultatai tapo dar geresni. Todėl vadovaujantis šios šalies patirtimi kiekviena laboratorija turėtų įsivertinti 2005 m. TLDH kriterijus ir optimizuoti juos savo sąlygomis iki maksimalaus efektyvumo (Pratumvinit *et al.*, 2013). Dar 2010 m. Cui W., su kolegomis norėjo patikrinti Tarptautinės Laboratorinės Hematologijos Draugijos peržiūros kriterijų tinkamumą Pekino populiacijai. Autorių teigimu „kriterijai negali būti tinkami viso pasaulio laboratorijoms dėl skirtingų laboratorijų reikalavimų, mėginio tūrio, instrumentų modelio ir charakteristikų, – visa tai gali sukelti didelį darbo krūvį mikroskopinės peržiūros padaliniui arba privesti prie klaidinančių rezultatų“ (Cui *et al.*, 2010). Tad šių autorių tikslas buvo ne palyginti turimus kriterijus su 2005 m. TLDH kriterijais, o pasitelkiant TLDH kriterijus, Pekino ligoninės laboratorijai, sukurti personalizuotus peržiūros kriterijus keturiems hematologiniams analizatoriams panaudojant 1770 kraujo mėginių. Tyrimo metu klaidingai neigiamų reikšmių rezultatai buvo itin maži, tad žvelgiant į Pekino ligoninės laboratorijos praktiką citomorfologinio kraujo tepinėlio peržiūrai yra svarbu turėti optimizuotus kriterijus, kurie gali būti sukurti remiantis nustatytais Tarptautinės Laboratorinės Hematologijos Draugijos kriterijais. Panašūs rezultatai gauti ir Bergamo mieste, Italijoje 2016 m. Buoro S., su kolegomis atliktame tyrime, kuriame nustatyta, kad nors jų taikomi citomorfologinio kraujo tepinėlio peržiūros kriterijai yra tinkami, tačiau prieš pradėdant juos naudoti kitose laboratorijose su skirtingais prietaisais reikia juos validuoti. Šių mokslininkų grupė patvirtino, jog siekiant



pagerinti hematologinių tyrimų kokybę bei optimizuoti darbo eigą, kiekvienai laboratorijai yra naudinga atlikti peržiūros kriterijus validuojančius tyrimus. Dar viename 2017 m. Pipitone S., su kolegomis Italijoje atliktame tyrime lyginti 2005 m. TLHD kriterijai, Italijos tyrimų (angl. *Italian Survey*, IS) kriterijai bei Hematologijos Darbo grupės SIBioC (angl. *Working Group on Hematology SIBioC*, WGH) konsensuso kriterijai septyniems skirtingiems hematologiniams analizatoriams. Gauti rezultatai atskleidė, jog kiekvieno hematologinio analizatoriaus reikšmės varijavo taikant tris skirtingas kriterijų grupes, o autorių padaryta išvada, kaip ir daugelyje kitų tyrimų, teigia, jog yra svarbu atlikti kriterijų validavimą. Dar vienas svarbus tyrimas buvo atliktas 2014 m., kurio metu analizuota Izraelio Tel Avivo kūdikių populiacija. Šiame tyrime From P., su bendraautoriais siekė nustatyti citomorfologinių kraujo tepinėlių peržiūros proporcijas pagal 2005 m. TLHD kriterijus ir įvairių parametrų stebimus pasiskirstymus. Paaiškėjo, jog 2005 m. TLHD kriterijai nėra tinkami kūdikių kraujo tepinėlių peržiūrai.

Taigi, apžvelgus įvairių šalių patirtį bei šio darbo atliktą tyrimą, taikant citomorfologinio kraujo tepinėlio peržiūros kriterijus matoma, kad nuo 2005 m., kai TLHD pristatė peržiūros kriterijus buvo atliktas ne vienas tyrimas įvairiose pasaulio šalyse, siekiantis nustatyti jų tinkamumą. Šių atliktų tyrimų gausa ir jų išvados bei vis atnaujinami duomenys parodė, jog rezultatai itin varijuoja naudojant skirtingus hematologinius analizatorius, netgi tokius, kurių veikimo principas paremtas panašia technologija. Tad visi šie stebėjimai patvirtina, kad naudojant bet kurios organizacijos citomorfologinio kraujo tepinėlio peržiūros kriterijus, jie turi būti atsakingai ir kruopščiai įvertinti ir pritaikyti kiekvienai technologijai, naudojamai kiekvienoje individualioje laboratorijoje. Siektina, kad visose hematologijos laboratorijose būtų naudojami apibrėžti tarptautiniai, kiekvienai laboratorijai optimizuoti kriterijai, kurių dėka būtų suderintos kraujo tepinėlių peržiūros taisyklės, pagerinta pacientų priežiūros kokybė bei sutaupyta veiklos sąnaudos.

## IŠVADOS

1. Užsakovo skiriami citomorfologinio kraujo tepinėliai sudaro 1/8 visų VUL Santaros Klinikų atliekamų automatizuotų bendro kraujo tyrimų ir jų paskyrimas nėra racionalus.
2. Nustatyta, kad naudojant kiekybinius ir kokybinius automatizuoto BKT peržiūros kriterijus kartu, gaunama mažiausiai užsakovo skiriamų citomorfologinio kraujo tepinėlių klaidingai teigiamų ir klaidingai neigiamų rezultatų, todėl šiuos kriterijus tikslinga naudoti kartu.
3. Nustatyta, kad citomorfologinio tyrimo rezultatus tiksliausiai atspindi automatizuoto BKT peržiūros kiekybiniai kriterijai: leukocitų (AUC:0,83 (PI<sub>95%</sub>: 0,79; 0,86)) ir neutrofilų (AUC:0,85 (PI<sub>95%</sub>: 0,84; 0,87)) skaičius, o mažiausiai tikslus – trombocitų skaičius (AUC:0,44 (PI<sub>95%</sub>: 0,39; 0,50)).
4. Nustatyta, kad VUL Santaros Klinikų bendruose skyriuose 2002 m. automatizuoto BKT peržiūros kriterijai yra tinkamesni (AUC:0,98 (PI<sub>95%</sub>: 0,97; 0,99); J = 0,96) nei 2005 m. (AUC:0,88 (PI<sub>95%</sub>: 0,86; 0,91); J = 0,77), nes rezultatai yra statistiškai reikšmingi ( $p < 0,01$ ).
5. Nustatyta, kad VUL Santaros Klinikų reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose 2002 m. automatizuoto BKT peržiūros kriterijai yra tinkamesni (AUC:0,81 (PI<sub>95%</sub>: 0,72; 0,91); J = 0,65) nei 2005 m. (AUC:0,67 (PI<sub>95%</sub>: 0,55; 0,79); J = 0,21), nes rezultatai yra statistiškai reikšmingi ( $p < 0,05$ ).
6. Nustatyta, kad VUL Santaros Klinikų hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikai nėra tinkami nei 2002 m. automatizuoto BKT peržiūros kriterijai (AUC:0,68 (PI<sub>95%</sub>: 0,63; 0,72); J = 0,49), nei 2005 m. kriterijai (AUC:0,65 (PI<sub>95%</sub>: 0,61; 0,70); J = 0,43), nes rezultatai nėra statistiškai reikšmingi ( $p > 0,05$ ).

## REKOMENDACIJOS

1. Kiekviena laboratorija savo tiriamai pacientų populiacijai turėtų atlikti automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumo analizę ir pagal ją sukurti savo laboratorijai skirtas peržiūros taisykles.
2. Rekomenduojama VUL Santaros Klinikų bendriems ir reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose 2002 m. Gulati ir bendraautorių pateiktus automatizuoto BKT peržiūros kriterijus.
3. VUL Santaros Klinikų hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikai automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumą reikėtų atlikti atskirai dėl specifinės pacientų populiacijos.
4. Norint tikslingai tirti citomorfologinius kraujo tepinėlius, svarbu vertinti automatizuoto hematologinio analizatoriaus kokybinių ir kiekybinių kriterijų visumą.
5. Siekiant sumažinti nereikalingų periferinio kraujo citomorfologinių kraujo tepinėlių paskyrimo kiekį, darbuotojų laiko bei reagentų sąnaudas, svarbu edukuoti užsakovą apie automatizuoto BKT peržiūros kriterijų svarbą ir siekti sumažinti užsakovo nurodymu atliekamų citomorfologinių kraujo tepinėlių kiekį.

## **Citomorfologinio kraujo tepinėlio tyrimo, paskiriamo užsakovo sprendimu, tikslingumo įvertinimas**

### **SANTRAUKA**

Šiuo metu Lietuvoje VUL SK citomorfologinis periferinio kraujo tepinėlio tyrimas atliekamas tik užsakovo sprendimu. Iki šiol Lietuvoje nėra atlikta tyrimų, kurie įvertintų peržiūros kriterijų naudojimo galimybes ir jų tikslingumą, todėl šiuo atžvilgiu mūsų darbas yra pirmasis tokio pobūdžio bandymas. Tad šio darbo tikslas – įvertinti VUL SK skyriuose užsakovo sprendimu paskirtų kraujo citomorfologinių tyrimų pagrįstumą pagal tarptautinius automatizuoto kraujo tyrimo peržiūros kriterijus.

Tyrimo imtis VUL SK 7877 pacientų bendro kraujo, bei iš jų atrinktų 925 pacientų, kuriems papildomai atliktas citomorfologinis kraujo tepinėlis, tyrimo duomenys. Taip pat po 240 pacientų tyrimų duomenų iš reanimacijos – intensyvios terapijos ir hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos. Rezultatai apdoroti naudojantis Microsoft Office Excel 2016 bei RStudio ver. 3.3.3 kompiuterinėmis programomis.

Nustatyta, kad užsakovo skiriami citomorfologinio kraujo tepinėliai sudaro 1/8 visų VUL SK atliekamų automatizuotų bendro kraujo tyrimų ir jų paskyrimas nėra racionalus. Taip pat nustatyta, kad 2005 m. TLHD automatizuoto BKT peržiūros kriterijai generuoja didelį skaičių klaidingai neigiamų ir klaidingai teigiamų BKT rezultatų. 2002 m. kriterijai yra tinkamesni VUL SK bendriems ir reanimacijos – intensyvios terapijos skyriuose, o hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikai reikšmingas skirtumas tarp 2002 m. ir 2005 m. BKT peržiūros kriterijų nenustatytas.

Nustatyta, kad kiekybiniai ir kokybiniai automatizuoto BKT peržiūros kriterijai kartu, geriausiai atitinka užsakovo skiriamų citomorfologinio kraujo tepinėlių reikalingumą, generuoja mažiausiai klaidingai teigiamų ir klaidingai neigiamų rezultatų. Iš visų automatizuoto BKT peržiūros kiekybinių kriterijų citomorfologinio tyrimo pagrįstumą geriausiai atspindi leukocitų ir neutrofilų skaičiaus pokytis, o mažiausiai – trombocitų skaičiaus pokyčiai.

Tad svarbu, kad kiekviena laboratorija savo tiriamai pacientų populiacijai turėtų atlikti automatizuoto BKT peržiūros kriterijų tinkamumo analizę ir pagal ją sukurti savo laboratorijai skirtas peržiūros taisykles.

**Raktiniai žodžiai:** bendras kraujo tyrimas; automatizuotas BKT; citomorfologinis kraujo tepinėlio tyrimas; BKT peržiūros taisyklės.

# **Expediency Assessment of Cytomorphological Blood Smear Analysis Ordered by a Customer**

## **SUMMARY**

Currently the review of cytomorphological smear in Lithuania's VUH SK is performed the ordering physician's decision. In Lithuania no research has been carried out to assess suitability and usage of the automated CBC review criteria. Therefore, this first of a kind research is aiming to evaluate reasonability of blood smear testing by ordering physician against international automated CBC review criteria in VUH SK departments.

The study included 7977 patients' CBC's where in 925 cases cytomorphological blood smear testing was ordered by physician. Moreover, 240 patients cytomorphological blood smear testing data from the Intensive care units (ICU) and hematology – oncology outpatient departments were analysed separately and compared to the results in General departments. Obtained results were processed using Microsoft Office Excel 2016 and RStudio ver. 3.3.3 computer programs.

It has been found that the cytomorphologic blood smears ordered by physician represent 1/8 of all VUH SK's complete blood count (CBC) tests and its ordering procedure is not rational. Furthermore, it was found that the 2005 TLHD CBC review criteria generate a large number of false – negative and false – positive CBC results, while the 2002 CBC review criteria are more suitable for VUH SK's General and ICU departments. Meanwhile there was no difference in application of 2002 and 2005 CBC review criteria for the hematology – oncology outpatient department.

It was found that the least false – positive and false – negative results were obtained using both, quantitative and qualitative CBC review criteria. The cytomorphological smear testing results were most accurately reflected by CBC quantitative review criteria such as: the number of WBC and neutrophil counts, and the least accurate – platelet count.

All laboratories should carry out an analysis of the suitability of automated CBC review criteria for its patient population and develop their own CBC review rules.

**Keywords:** complete blood count; automated CBC; cytomorphologic blood smear; CBC review rules.

## PADĖKA

Už pagalbą rengiant Magistro baigiamąjį darbą dėkojame:

- Šio darbo vadovei, doc., dr. Rėdai Matuzevičienei už suteiktas žinias, pasidalintą profesinę patirtį, daugelį patarimų bei visokeriopą pagalbą ir palaikymą rašant magistro baigiamąjį darbą.
- VUL SK Hematologijos ir bendrosios citologijos laboratorijos vedėjai E. Ostonevičiūtei už patarimus ir pagalbą laboratorijoje.

## LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Adewoyin AS, Nwogoh B. Peripheral Blood Film - A Review. *Annals of Ibadan Postgraduate Medicine* 2014; 12 (2): 71 – 79.
2. Adimy M, Crauste F, Ruan S. Periodic Oscillations in Leukopoiesis Models with Two Delays. *Journal of Theoretical Biology, Elsevier*, 2006, 242, pp.288-299.
3. Adomaitienė D, Janulevičiūtė N, Kazakevičius R, Vaičiuvėnas V. *Klinikinės imunologijos įvadas*. Kaunas: Šviesa 2001.
4. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Molecular Biology of the Cell*. 4th edition. New York: Garland Science; 2002. *Renewal by Multipotent Stem Cells: Blood Cell Formation*.
5. Allan GM, Young J. Complete blood count for screening? *Canadian Family Physician* 2017; 63: 772.
6. Altman DG, Bland JM. Diagnostic Tests 1: sensitivity and specificity. *Statistics Notes*. 1994; 308(6943): 1552.
7. Angelis N, Wang X, Thein SL. MYB – A regulatory factor in hematopoiesis. *Gene* 2018; 665: 6 – 17.
8. Bagwell CB, Hill BL, Wood BL, Wallace PK, Alrazzak M, Kelliher AS, Preffer FI . Human B-cell and progenitor stages as determined by probability state modeling of multidimensional cytometry data. *Cytometry B Clin Cytom*. 2015;88(4):214-26.
9. Bain BJ. Structure and Function of Red and White Blood Cells. *Medicine* 2017; 45 (4): 187 – 193.
10. Barnes PW, McFadden SL, Machin SJ, Simson E. The International Consensus Group for Hematology Review: Suggested Criteria for Action Following Automated CBC and WBC Differential Analysis. *Laboratory Hematology* 2005; 11: 83 – 90.
11. Bartles M, Govers AM, Fleskens V, Lourenço AR, Pals CE, Vervoort SJ, van Gent R, Brenkman AB, Bierings MB, Ackerman SJ, van Loosdregt J, Coffier PJ. Acetylation of C/EBP is a prerequisite for terminal neutrophil differentiation. *Blood* 2015; 125:1782–1792.
12. Beenhouwer DO. *Molecular Pathology: The Molecular Basis of Human Disease*. 2018; 329–345.
13. Benavides GA, Squadrito GL, Mills RW, Patel HD, Isbell TS, Patel RP, Darley-Usmar VM, Doeller JE, Kraus DW. Hydrogen sulfide mediates the vasoactivity of garlic. *PNAS* 2007; 104 (46): 17977-17982.

14. Borriello F, Iannone R, Marone G. Histamine Release from Mast Cells and Basophils. *Histamine and Histamine Receptors in Health and Disease* 2017; 121–139.
15. Britannica.com [internetinè svetainè]. The Editors of Encyclopaedia Britannica; [atnaujinta 2018, cituota 2018 05 13]. Adresas: <https://www.britannica.com/science/white-blood-cell>
16. Buoro S, Mecca T, Seghezzi M, Manenti B, Azzara G, Ottomano C, Lippi G. Validation rules for blood smear revision after automated hematological testing using Mindray CAL-8000. *Wiley Periodicals* 2016; 31 (4): doi: 10.1002/jcla.22067.
17. Buttarello M and Plebani M. Automated Blood Cell Counts. *American Journal of Clinical Pathology* 2008; 130(1), 104–116.
18. Ciesla B. *Hematology in Practice*. Philadelphia: F.A. Davis Company 2007.
19. Cliffsnotes.com [internetinè svetainè]. Houghton Mifflin Harcourt.; [atnaujinta 2016, cituota 2019 01 13]. Adresas: <https://www.cliffsnotes.com/study-guides/anatomy-and-physiology/the-cardiovascular-system/blood-formation>
20. Comar SR, Malvezzi M, Pasquini R. Are there view criteria for automated complete blood counts of the International Society of Laboratory Hematology suitable for all hematology laboratories? *Brazilian Journal of Hematology and Hemotherapy* 2014; 36 (3): 219 – 225.
21. Comar SR, Malvezzi M, Pasquini R. Evaluation of criteria of manual blood smear review following automated complete blood counts in a large university hospital. *Brazilian Journal of Hematology and Hemotherapy* 2017; 39 (4): 306 – 317.
22. Cui W, Wu W, Wang X, Wang G, Hao YY, Chen Y, Luo D, Shou WL, Zhang S, Xiang XF, Si YZ, Chen Q, Cai H, Li T, Shen H, Shang K, Zhang YQ. Development of the personalized criteria for microscopic review following four different series of hematology analyzer in a Chinese large scale hospital. *Chin Med* 2010; 123 (22): 3231 – 3237.
23. Dale DC, Boxer L, Liles WC. The phagocytes: neutrophils and monocytes. *Blood* 2008; 112:935-945.
24. Doulatov S, Notta F, Laurenti E, Dick JE. Hematopoiesis: A Human Perspective. *Cell Stem Cell* 2012; 10: 120 – 136.
25. Eberle JU, Voehringer D. Role of basophils in protective immunity to parasitic infections. *Seminars in Immunopathology* 2016; 38(5), 605–613.
26. Epss.ahrq.gov [internetinè svetainè]. Agency for Healthcare Research an Quality; [cituota 2018 05 16]. Adresas: <https://epss.ahrq.gov/PDA/about.jsp>.



27. Falet H, Hoffmeister KM, Li R. Glycans and the Platelet Life Cycle. *Platelets* 2016; 27 (6): 505 – 511.
28. Free-ed.net [internetinė svetainė]. The Free Education Network; [atnaujinta 2015 04 06, cituota 2018 05 15]. Adresas: <http://www.free-ed.net/free-Ed/Resources/PubServ/EMS/-EMS%-20Primer/emsPrimer01.asp?iNum=704>.
29. French AR and Yokoyama WM. Natural killer cells and autoimmunity. *Arthritis*
30. Fromm P, Isakov E, Barak M. Criteria for reflex peripheral smear review in infants. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation* 2014; 74: 366 – 368.
31. Geering B, Stoeckle C, Conus S, Simon H-U. Living and dying for inflammation: neutrophils, eosinophils, basophils. *Trends in Immunology* 2013; 34(8), 398–409.
32. Gleason CA, Juul SE. Avery's Diseases of the Newborn. 10<sup>th</sup> ed. Elsevier; 2017.p. 1047 – 1055.
33. Gordon – Smith T. Red Blood Cells. *Surgery* 2006; 25 (2): 57 – 60.
34. Gordon S. Phagocytosis: An Immunobiologic Process. *Immunity* 2016, 44(3), 463–475.
35. Greer JP, Adamko DJ, Agarwal N. Wintrobe's Clinical Hematology 12th Edition. Lippincott Williams & Wilkins Philadelphia 530 Walnut Street, Philadelphia, PA 19106 USA 2009.
36. Greer JP, Adamko DJ, Agarwal N. Wintrobe's Clinical Hematology 12th Edition. Lippincott Williams & Wilkins Philadelphia 530 Walnut Street, Philadelphia, 2009.
37. Guilliams M, Mildner A, Yona S. Developmental and Functional Heterogeneity of Monocytes. *Immunity* 2018; 49(4), 595–613.
38. Gulati GL, Alomari M, Kocher W, Schwarting R. Criteria for Blood Smear Review. *Laboratory Medicine* 2002; 5 (33): 374 – 377.
39. Guo T, Wang X, Qu Y, Yin Y, Jing T, Zhang Q. Megakaryopoiesis and platelet production: insight into hematopoietic stem cell proliferation and differentiation. *Stem Cell Investigation* 2015; 2(3): doi: 10.3978/j.issn.2306-9759.2015.02.01.
40. healthtestingcenters.com [internetinė svetainė]. USA: Health Testing Centers; [atnaujinta 2018, cituota 2018 05 16]. Adresas: <https://www.healthtestingcenters.com/complete-blo-od-count/>.
41. Hegde RB, Prasad K, Hebbar H, Sandhya I. Peripheral Blood Smear Analysis Using Image Processing Approach For Diagnostic Purposes: A review. *Biocybernetics and Biomedical Engineering* 2018; 38: 467 – 480.
42. Helms CC, Gladwin MT, Kim-Shapiro DB. Erythrocytes and Vascular Function: Oxygen and Nitric Oxide. *Frontiers in Physiology* 2018; 9 (125): doi: 10.3389/fphys.2018.00125

43. Hematology.org [internetinė svetainė]. Washington DC: American Society of Hematology; [atnaujinta 2018, cituota 2018 05 05]. Adresas: <http://www.hematology.org/Patients/Basics/>
44. Hoffmann JML. Reticulated platelets: analytical aspects and clinical utility. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 2014; 52 (8): 1107 – 1117.
45. Hofmann W, Aufenanger J, Hoffmann G. *Laboratory Diagnostic Pathways– Clinical Manual of Screening Methods and Stepwise Diagnosis*. Walter de Gruyter GmbH and Co KG, 2016.
46. Hutson PR, Johnson AM. *Hematology: Red And White Blood Cell Tests*. American Society of Health-System Pharmacists, 2013.
47. Yoon J, Kim K, Park HJ, Choi C, Jang S, Park YK. Label-free characterization of white blood cells by measuring 3D refractive index maps. *Biomed. Opt. Express* 2015; 6, 3865-3875.
48. Jiang N, Chen W, Jothikumar P, Patel JM, Shashidharamurthy R, Selvaraj P, Zhu C. Effects of anchor structure and glycosylation of Fcγ receptor III on ligand binding affinity. *Molecular Biology of the Cell* 2016; 3377-3685.
49. Jiang N, Tan NS, Ho B, Ding JL. Respiratory protein–generated reactive oxygen species as an antimicrobial strategy. *Nature* 2007; 8: 1114 – 1122.
50. Jobling L, Eyre L. Haemostasis, blood platelets and coagulation. *Anesthesia and Intensive Care Medicine* 2013; 14 (2): 51 – 53.
51. Josefowicz SZ, Lu LF, Rudensky AY. Regulatory T Cells: Mechanisms of Differentiation and Function. *Annual Review of Immunology* 2012; 30(1), 531–564.
52. Jung S. Macrophages and monocytes in 2017: Macrophages and monocytes: of tortoises and hares. *Nature Reviews Immunology* 2018; 18(2), 85–86.
53. Juozaitytė E, Adukauskienė D, Basevičius A, Dambrauskienė R, Gerbutavičius R, Inčiūra A, Jančiauskienė R, Janulytė T, Karaivičė L, Liutkauskienė S, Mongirdienė A, Remeikienė D, Rudtianskienė M, Simaškienė E, Skorupskienė D, Skrodenienė E, Steponavičiūtė R, Ugenskienė R, Verygienė R, Vitkauskienė A. *Onkologija ir hematologija*, Kaunas: Vitae Litera 2014.
54. Karsten E, Breen E, Herbert BR. Red blood cells are dynamic reservoirs of cytokines. *Scientific Reports* 2018; 8 (3103): doi:10.1038/s41598-018-21387-w
55. Keohene EM, Smith LJ, Walenga JM. *Rodak's Hematology. Clinical Principles and Applications*. Elsevier, 5th ed., 2016. p.86.
56. Kėvelaitis E. *Žmogaus fiziologija*. Kaunas: LSMU 2009.

57. Kraujas.lt [internetinė svetainė]. Lietuva: Asociacija kraujas; [atnaujinta 2017; cituota 2018 05 14]. Adresas: <http://kraujas.lt/ligos-ir-gydymas/diagnostika/diagnostika-3/>.
58. Krogsbøll LT, Jørgensen KJ, Grønhøj C, Gøtzsche PC. General health checks in adults for reducing morbidity and mortality from disease: Cochrane systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2012; 345: doi: 10.1136/bmj.e7191.
59. Kruger P, Saffarzadeh M, Weber ANR, Rieber N, Radsak M, von Bernuth H, Benarafa C, Roos D, Skokowa J, Hartl D. Neutrophils: Between Host Defence, Immune Modulation, and Tissue Injury. *PLoS Pathog* 2015; 11(3): e1004651.
60. Kubo M. Mast cells and basophils in allergic inflammation. *Current Opinion in Immunology* 2018; 54, 74–79.
61. Kurioka A, Ussher JE, Cosgrove C, Clough C, Fergusson JR, Smith K, Kang YH, Walker LJ, Hansen TH, Willberg CB, Klenerman P. MAIT cells are licensed through granzyme exchange to kill bacterially sensitized targets. *Mucosal Immunology* 2015; 429-440.
62. Kurosaki T, Kometani K, Ise W. Memory B cells. *Nature Reviews Immunology* 2015; 15(3), 149-159.
63. Labcompare.com [internetinė svetainė]. Hematology Analyzers —From Complete Blood Counts to Cell Morphology; [atnaujinta 2014; cituota 2019 02 20]. Adresas: <https://www.labcompare.com/10-Featured-Articles/162042-Hematology-Analyzers-From-Complete-Blood-Counts-to-Cell-Morphology/>
64. Labtestsonline.org [internetinė svetainė]. USA: American Association for Clinical Chemistry; [atnaujinta 2018; cituota 2018 05 14]. Adresas: <https://labtestsonline.org/tes-ts/blood-smear>.
65. Lam FW, Vijayan V, Rolando E. Platelets and their interactions with other immune cells. *Comprehensive Physiology* 2015; 5 (3): 1265 – 1280.
66. Lam VC, and Lanier LL. NK cells in host responses to viral infections. *Current Opinion in Immunology* 2017, 44, 43–51.
67. Lawrence SM, Corriden R, Nizet V. The Ontogeny of a Neutrophil: Mechanisms of Granulopoiesis and Homeostasis. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 2018; 82(1), e00057–17.
68. LeBien TW and Tedder TF. B lymphocytes: how they develop and function. *Blood* 2008; 112, 1570-1580.
69. Levi M. Platelets. *Crit Care Med* 2005; 33 (12): 523 – 525.
70. Lietuvos Sveikatos Statistika. Tyrimai ir procedūros 2016. Higienos Instituto Sveikatos Informacijos Centras. ISSN 1648-0899.

71. Lin KW, Duane MR. Are Some Screening Tests Doing More Harm Than Good? *American Family Physician* 2007; 76 (3): 351 – 252.
72. Luckheeram RV, Zhou R, Verma AD, Xia B. CD4+ T Cells: Differentiation and Functions. *Clinical and Developmental Immunology* 2012; 925135.
73. Machlus KR, Thon JN, Italiano Jr JE. Interpreting the developmental dance of the megakaryocyte: a review of the cellular and molecular processes mediating platelet formation. *British Journal of Haematology* 2014; 165: 227 – 236.
74. McKenna K, Beignon A, Bhardwaj N. Plasmacytoid Dendritic Cells: Linking Innate and Adaptive Immunity. *J. Virol.* 2005; 79 (1):17-27.
75. Medvinsky A, Rybtsov S, Taoudi S. Embryonic origin of the adult hematopoietic system: advances and questions. *Development* 2011; 138: 1017 – 1031.
76. Merenstein D, Daumit GL, Powe NR. Use and Costs of Nonrecommended Tests During Routine Preventive Health Exams. *American Journal of Preventive Medicine* 2006; 30 (6): 521 – 527.
77. Metcalfe DD, Pawankar R, Ackerman SJ, Akin C, Clayton F, Falcone FH, Gleich GJ, Irani A-M, Johansson MW, Klion AD, Leiferman KM, Levi-Schaffer F, Nilsson G, Okayama Y, Prussin C, Schroeder JT, Schwartz LB, Simon H-U, Walls A, Triggiani M. Biomarkers of the involvement of mast cells, basophils and eosinophils in asthma and allergic diseases. *World Allergy Organization Journal* 2016; 9:7.
78. Michelson A. Platelets. 3<sup>rd</sup> ed. USA: Academic Press; 2012.p. 45 – 71.
79. Montecino-Rodriguez E and Dorshkind K. New perspectives in B-1 B cell development and function. *Trends in Immunology* 2006; 27(9), 428–433.
80. Orphanidou-Vlackou E, Tziakouri-Shiakalli C, Georgiades SC. Extramedullary Hemopoiesis. *Seminars in Ultrasound CT and MRI* 2014; 35: 255 – 262.
81. Palmer L, Briggs C, McFadden S, Zini G, Burthem J, Rozenberg G, Proytcheva M, Machin SJ. ICSH recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphological features. *International Journal of Laboratory Hematology* 2015; 37: 287 – 303.
82. Parkin J and Cohen B. An overview of the immune system. *The Lancet* 2001; 357(9270), 1777-1789.
83. Pipitone S, Germagnoli L, Da Rin G, Di Fabio A, Fanelli A, Fiorini F, Francione S, Marini A, Papa A, Benegiamo A, Lari T, Siviero F, Lorubbio M, Borin M, Seghezzi M, Ciardelli ML, Dima F, Giola M, Buoro S. Comparing the performance of three panels rules of blood smear review criteria on an Italian multicenter evaluation. *International Journal of Laboratory Hematology* 2017; 39: 645 – 652.

84. Poli A, Michel T, Patil N, Zimmer J. Revisiting the Functional Impact of NK Cells. *Trends in Immunology* 2018; 39(6), 460–472.
85. Popi AF, Longo-Maugeri IM, Mariano M. An Overview of B-1 Cells as Antigen – Presenting Cells. *Front. Immunol* 2016; 7:138
86. Porwit A, McCullough J, Erber W. *Blood and Bone Marrow Pathology*. 2<sup>nd</sup> ed. USA: Churchill Livingstone; 2011.p. 63 – 67.
87. Powell AK, Yates EA, Fernig DG, Turnbull JE. Interactions of heparin/heparan sulfate with proteins: Appraisal of structural factors and experimental approaches. *Glycobiology* 2004; 17-30.
88. Pratumvinit B, Wongkrajang P, Reesukumal K, Klinbua C, Niamjoy P. Validation and Optimization of Criteria for Manual Smear Review Following Automated Blood Cell Analysis in a Large University Hospital. *Arch Pathol Lab Med* 2013; 137: 408 – 414.
89. Prochazka AV, Lundahl K, Pearson W, Oboler SK, Anderson RJ. Support Of Evidence-Based Guidelines For The Annual Physical Examination: A Survey Of Primary Care Providers. *Arch Intern Med* 2005; 165:1347 – 1352.
90. Revilla-i-Domingo R, Bilic I, Vilagos B, Tagoh H, Ebert A, Tamir IM, Busslinger M. The B-cell identity factor Pax5 regulates distinct transcriptional programmes in early and late B lymphopoiesis. *The EMBO Journal* 2012; 31(14), 3130–3146.
91. Rich EC, Crowson TW, Connelly DP. Effectiveness Of Differential Leukocyte Count In Case Finding In The Ambulatory Care Setting. *JAMA* 1983; 249 (5): 633 – 6.
92. Richard H, Aster MD, Bougie DW. Drug – Induced Immune Thrombocytopenia. *The New England Journal of Medicine* 2007; 357: 580 – 87.
93. Rieger MA and Schroeder T. Hematopoiesis. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 4 2012;4(12): a008250.
94. Ruttimann S, Clemencon D, Dubach UC. Usefulness of Complete Blood Counts as a Case-finding Tool in Medical Outpatients. *Ann Intern Med* 1992; 116 (1): 44 – 50.
95. Scanlon VC. *Essentials of Anatomy & Physiology*. 7<sup>th</sup> ed. F.A. Davis Company 2015,
96. Schenkel JM, Fraser KA, Vezys V, Masopust D. Sensing and alarm function of resident memory CD8+ T cells. *Nature Immunology* 2013, 14(5), 509–513.
97. Schiffman J, Maese L. Recommendations and Research Growing for Pediatric Cancer Predisposition Syndromes. *The Hematologist* 2017; 14 (5): 12 – 14.
98. Shabnam I, Chuphal DS, Joshi BC. Ethylenediaminetetraacetic Acid (EDTA) – Dependent Pseudothrombocytopenia: A Case Report. *J Clin Diagn Res*. 2014; 8 (10): FL03–FL04.

99. Skinner BM, Johnson EEP. Nuclear morphologies: their diversity and functional relevance *Chromosoma* 2017; 126:195.
100. Sonmez O, Sonmez M. Role of Platelets in Immune system and Inflammation. *Porto Biomedical Journal* 2017; 2 (6): 311 – 314.
101. Spits H, Bernink JH, Lanier L. NK cells and type 1 innate lymphoid cells: partners in host defense. *Nature Immunology* 2016, 17(7), 758–764.
102. Steele B, Wu NC, Whitcomb C. White Blood Cell and Platelet Counting Performance by Hematology Analyzers: A Critical Evaluation. *Laboratory Hematology* 2001; 7 p. 255-266.
103. Thermofisher.com [internetinė svetainė]. MA: Thermo Fisher Scientific; [atnaujinta 2018, cituota 2018 05 06]. Adresas: <http://www.thermofisher.com/lt/en/home/life-science>.
104. Tsiftoglou A, Vizirianakis, Strouboulis J. Erythropoiesis: Model Systems, Molecular Regulators, and Developmental Programs. *Life* 2009; 61 (8): 800 – 830.
105. Van der Helm HJ, HischeEAH. Application of Bayes`s Theorem to Results of Quantitative Clinical Chemical Determinations. *Clin.Chem.* 1979; 25(6):985-988.
106. Versteeg HH, Heemskerk JWM, Levi M, Reitsma PH. New Fundamentals in Hemostasis. *Physiological Reviews* 2013; 93: 327 – 358.
107. Voskoboinik I, Whisstock JC, Trapani JA. Perforin and granzymes: function, dysfunction and human pathology. *Nature Reviews Immunology* 2015, 15(6), 388–400.
108. Ward JM, Cherian S, Linden MA. Hematopoietic and Lymphoid Tissues. *Comparative Anatomy and Histology* 2018; 365–401.
109. Weller PF, Spencer LA. Functions of tissue-resident eosinophils. *Nature Reviews Immunology* 2017; 17(12), 746–760.
110. White JG. Platelets are coverocytes, not phagocytes: uptake of bacteria involves channels of the open canalicular system. *Platelets* 2005; 16(2):121-31.
111. Winterbourn CC, Kettle AJ, Hampton MB. Reactive Oxygen Species and Neutrophil Function. *Annual Review of Biochemistry* 2016; 85(1), 765–792.
112. Zhu J and Paul WE. CD4 T cells: fates, functions, and faults. *Blood* 2008; 112:1557-1569.
113. Zhu LY, Lin AF, Shao T, Nie L, Dong WR, Xiang LX, Shao JZ. B cells in teleost fish act as pivotal initiating APCs in priming adaptive immunity: an evolutionary perspective on the origin of the B-1 cell subest and B7 molecules. *J Immunol* 2014; 192(6):2699-714.

**1.1. lentelė.** 2005 m. Tarptautinės Laboratorinės Hematologijos Draugijos (TLHD) (angl. *International Society For Laboratory Hematology, ISLH*) automatizuoto BKT analizės kriterijai.

Leukocitai (x10 <sup>9</sup> /l)	<4 arba >30
Hemoglobinas (g/l)	V. 58-180
	M. 47-165
MCV (fl)*	>105
MCHC (g/l)**	310-372
RDW (%)***	>22
Trombocitai (x10 <sup>9</sup> /l)	<100 arba >1000
Neutrofilai (x10 <sup>9</sup> /l)	<1 arba >20
Limfocitai (x10 <sup>9</sup> /l)	>5
Monocitai (x10 <sup>9</sup> /l)	>1,5
Eozinofilai (x10 <sup>9</sup> /l)	>2
Bazofilai (x10 <sup>9</sup> /l)	>0,5
Normoblastai(x10 <sup>9</sup> /l)	>0

MCV (fl)\* - vidutinis eritrocitų tūris;

MCHC (g/l)\*\* - vidutinė hemoglobino koncentracija eritrocituose;

RDW (%)\*\*\* - eritrocitų pasiskirstymo plotis.

**1.2. lentelė.** 2002 m. Gulati ir bendraautorių automatizuoto BKT analizės kriterijai.

Leukocitai (x10 <sup>9</sup> /l)	>30
Hemoglobinas (g/l)	60 -180
MCV (fl)	<75 arba >105
MCHC (g/l)	>360
Trombocitai (x10 <sup>9</sup> /l)	<50 arba >999
Limfocitai (x10 <sup>9</sup> /l)	>4
Monocitai (x10 <sup>9</sup> /l)	>2
Eozinofilai (x10 <sup>9</sup> /l)	>1
Bazofilai (x10 <sup>9</sup> /l)	>1
Normoblastai (x10 <sup>9</sup> /l)	>2

MCV (fl)\* - vidutinis eritrocitų tūris;

MCHC (g/l)\*\* - vidutinė hemoglobino koncentracija eritrocituose;

**1.3. lentelė.** 2002 m. Gulati ir bendraautorių mikroskopijos kriterijai.

<b>Eritrocitai</b>	Anizocitozė	≥3
	Poikilocitozė	≥3
	Hipochromija	≥3
	Polichromazija	≥3
	Eliptocitai	≥3
	Stomatocitai	≥3
	Mikrocitai	≥2
	Makrocitai	≥2
	Ląstelės taikiniai	≥2
	Ašaros tipo ląstelės	≥1
	Šistocitai	≥1
	Sferocitai	≥1
	Akantocitai	≥1
<b>Leukocitai</b>	Hiposegmentacija	≥2
	Hipersegmentacija	≥1
	Toksinis grūdėtumas	>0
<b>Trombocitai</b>	Gigantiniai trombocitai	≥2
	Trombocitų satelizmas	≥1



**2.1. lentelė.** VUL SK bendrų skyrių 2002 m. kiekvieno kiekybinio kriterijaus analizės rezultatai.

*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.

<b>Leukocitai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	57	240
Neigiama mikroskopija	4	624

<b>Hemoglobinas</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	30	267
Neigiama mikroskopija	1	627

<b>Vidutinis eritrocitų tūris (MCV)</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	28	269
Neigiama mikroskopija	14	614

<b>Vidutinė hemoglobino koncentracija eritrocituose (MCHC)</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	3	294
Neigiama mikroskopija	0	628

<b>Eritrocitų pasiskirstymo plotis (RDW)</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	20	277
Neigiama mikroskopija	10	618

<b>Trombocitai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	11	286
Neigiama mikroskopija	40	588

<b>Neutrofilai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	28	267
Neigiama mikroskopija	0	630

<b>Limfocitai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	13	284
Neigiama mikroskopija	1	627

<b>Monocitai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	20	277
Neigiama mikroskopija	19	609

<b>Eozinofilai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	1	296
Neigiama mikroskopija	0	628

<b>Bazofilai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	1	296
Neigiama mikroskopija	0	628

<b>Normoblastai (NRBC)</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	44	253
Neigiama mikroskopija	3	625

**3.1. lentelė.** VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyrių 2002 m. kiekvieno kiekybinio kriterijaus analizės rezultatai.

*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.

<b>Leukocitai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	45	164
Neigiama mikroskopija	3	28

<b>Hemoglobinas</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	25	184
Neigiama mikroskopija	1	30

<b>Vidutinis eritrocitų tūris (MCV)</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	24	185
Neigiama mikroskopija	11	20

<b>Vidutinė hemoglobino koncentracija eritrocituose (MCHC)</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	2	207
Neigiama mikroskopija	0	31

<b>Eritrocitų pasiskirstymo plotis (RDW)</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	18	191
Neigiama mikroskopija	7	24

<b>Trombocitai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	22	153
Neigiama mikroskopija	21	44

<b>Neutrofilai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	26	183
Neigiama mikroskopija	0	31

<b>Limfocitai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	12	197
Neigiama mikroskopija	1	30

<b>Monocitai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	18	191
Neigiama mikroskopija	16	15

<b>Eozinofilai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	1	208
Neigiama mikroskopija	0	31

<b>Bazofilai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	1	208
Neigiama mikroskopija	0	31

<b>Normoblastai (NRBC)</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	39	170
Neigiama mikroskopija	2	29

**4.1. lentelė.** VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos 2002 m. kiekvieno kiekybinio kriterijaus analizės rezultatai.

*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.

<b>Leukocitai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	24	30
Neigiama mikroskopija	4	182

<b>Hemoglobinas</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	2	52
Neigiama mikroskopija	1	185

<b>Vidutinis eritrocitų tūris (MCV)</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	11	43
Neigiama mikroskopija	6	180

<b>Vidutinė hemoglobino koncentracija eritrocituose (MCHC)</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	3	51
Neigiama mikroskopija	1	183

<b>Eritrocitų pasiskirstymo plotis (RDW)</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	5	49
Neigiama mikroskopija	2	184

<b>Trombocitai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	7	47
Neigiama mikroskopija	16	176

<b>Neutrofilai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	11	43
Neigiama mikroskopija	5	181

<b>Limfocitai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	7	47
Neigiama mikroskopija	2	184

<b>Monocitai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	4	50
Neigiama mikroskopija	3	183

<b>Eozinofilai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	2	52
Neigiama mikroskopija	1	185

<b>Bazofilai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	2	52
Neigiama mikroskopija	1	185

<b>Normoblastai (NRBC)</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	21	33
Neigiama mikroskopija	3	183

## 5.1. lentelė. VUL SK bendrų skyrių kiekvieno kokybinio kriterijaus analizės rezultatai.

Šaltinis: sudaryta autorių, 2019 m.

<b>Šistocitai/mikrocitiniai eritrocitai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	21	334
Neigiama mikroskopija	0	570

<b>Dimorfinės eritrocitų populiacijos</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	30	325
Neigiama mikroskopija	0	570

<b>Nuokrypis į kairę</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	25	330
Neigiama mikroskopija	0	570

<b>Neutrofilų blastai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	9	346
Neigiama mikroskopija	0	570

<b>Limfocitų blastai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	2	353
Neigiama mikroskopija	0	570

<b>Monocitų blastai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	2	353
Neigiama mikroskopija	0	570

<b>Reakciniai limfocitai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	15	340
Neigiama mikroskopija	0	570

<b>Nesubrendę granulocitai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	9	346
Neigiama mikroskopija	0	570

<b>Gigantiniai trombocitai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	16	339
Neigiama mikroskopija	1	569

<b>Trombocitų nuolaužos</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	16	339
Neigiama mikroskopija	0	570



**6.1. lentelė.** VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyrių kiekvieno kokybinio kriterijaus analizės rezultatai.

*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.

<b>Šistocitai/mikrocitiniai eritrocitai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	10	210
Neigiama mikroskopija	0	20

<b>Dimorfinės eritrocitų populiacijos</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	19	201
Neigiama mikroskopija	0	20

<b>Nuokrypis į kairę</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	43	177
Neigiama mikroskopija	0	20

<b>Neutrofilų blastai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	11	209
Neigiama mikroskopija	0	20

<b>Limfocitų blastai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	3	217
Neigiama mikroskopija	0	20

<b>Monocitų blastai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	2	218
Neigiama mikroskopija	0	20

<b>Reakciniai limfocitai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	13	207
Neigiama mikroskopija	0	20

<b>Nesubrendę granulocitai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	8	212
Neigiama mikroskopija	0	20

<b>Gigantiniai trombocitai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	21	199
Neigiama mikroskopija	1	19

<b>Trombocitų nuolaužos</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	19	201
Neigiama mikroskopija	0	20

**7.1. lentelė.** VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos kiekvieno kokybinio kriterijaus analizės rezultatai.

*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.

<b>Šistocitai/mikrocitiniai eritrocitai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	1	54
Neigiama mikroskopija	4	181

<b>Dimorfinės eritrocitų populiacijos</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	5	50
Neigiama mikroskopija	3	182

<b>Nuokrypis į kairę</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	11	44
Neigiama mikroskopija	4	181

<b>Neutrofilų blastai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	2	53
Neigiama mikroskopija	1	184

<b>Limfocitų blastai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	5	50
Neigiama mikroskopija	1	184

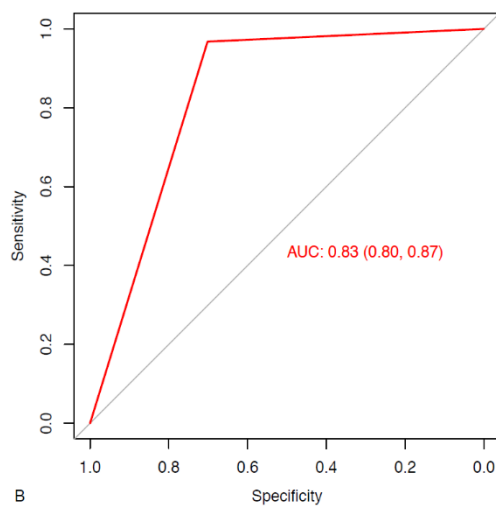
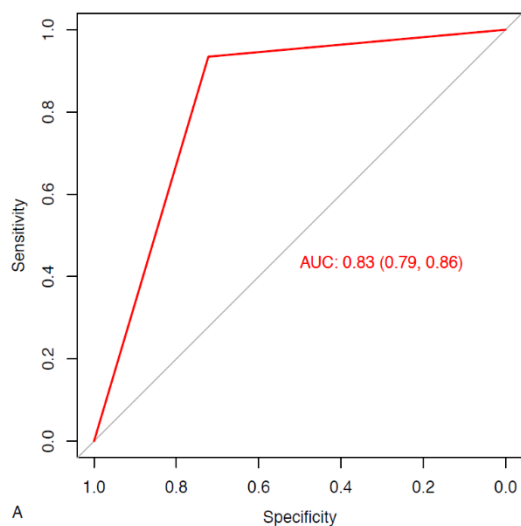
<b>Monocitų blastai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	3	52
Neigiama mikroskopija	1	187

<b>Reakciniai limfocitai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	20	35
Neigiama mikroskopija	5	180

<b>Nesubrendę granulocitai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	14	41
Neigiama mikroskopija	4	181

<b>Gigantiniai trombocitai</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	9	46
Neigiama mikroskopija	3	182

<b>Trombocitų nuolaužos</b>		
	Teigiama automatizacija	Neigiama automatizacija
Teigiama mikroskopija	3	52
Neigiama mikroskopija	1	184

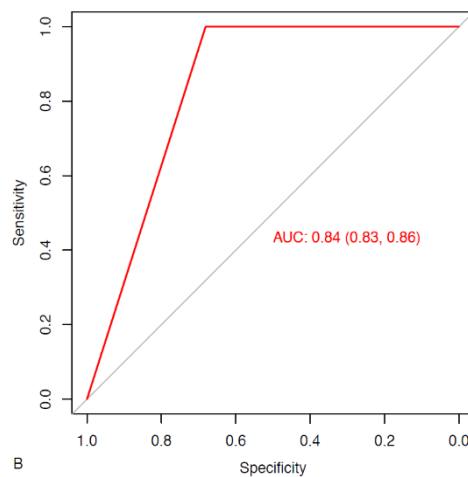
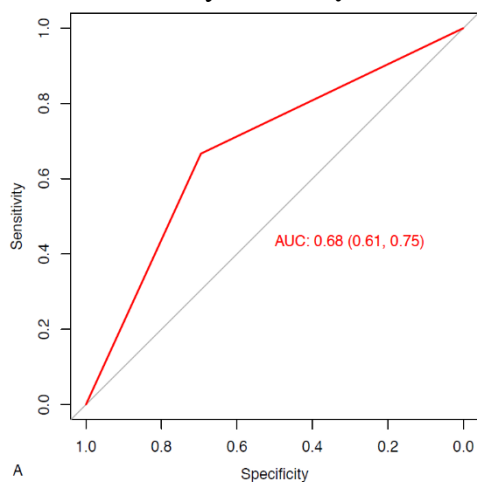


A

B

**8.1. pav.** VUL SK bendrų skyrių ROC kreivės. A. Leukocytų kiekybinis kriterijus. B. Hemoglobino kiekybinis kriterijus.

*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.

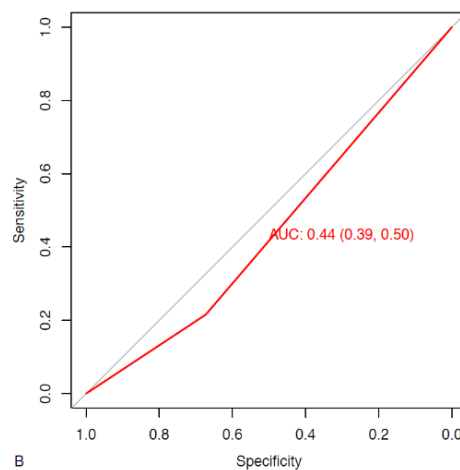
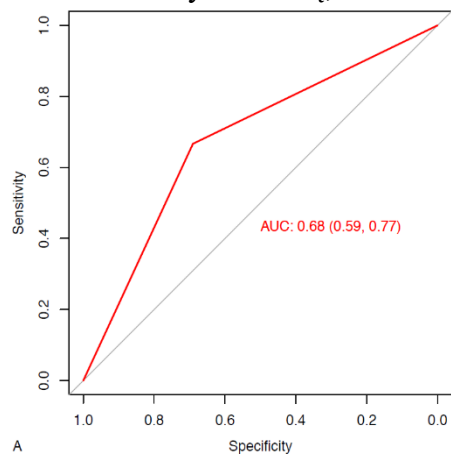


A

B

**8.2. pav.** VUL SK bendrų skyrių ROC kreivės. A. MCV kiekybinis kriterijus. B. MCHC kiekybinis kriterijus.

*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.

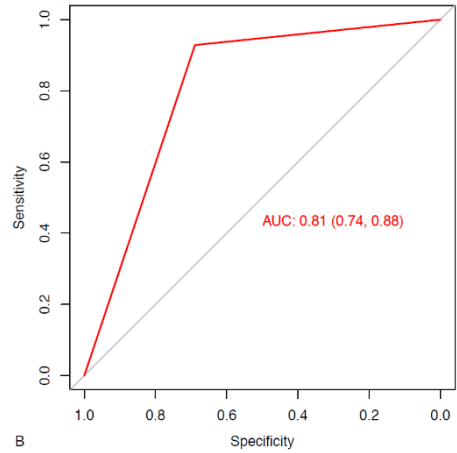
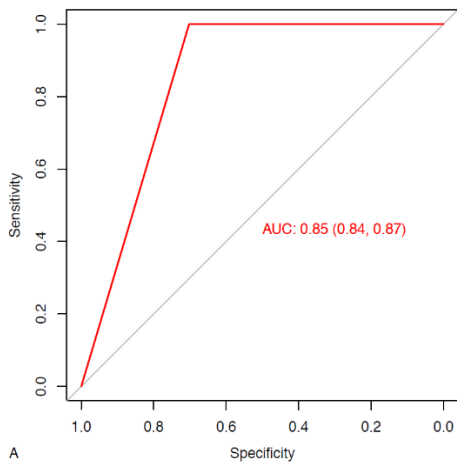


A

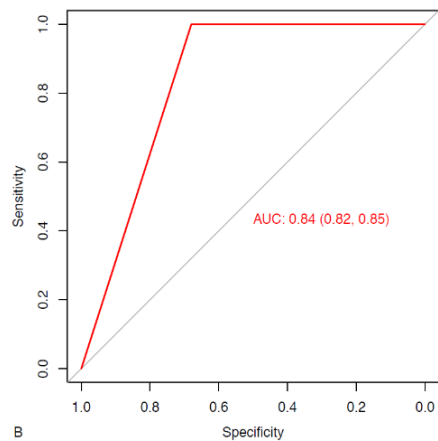
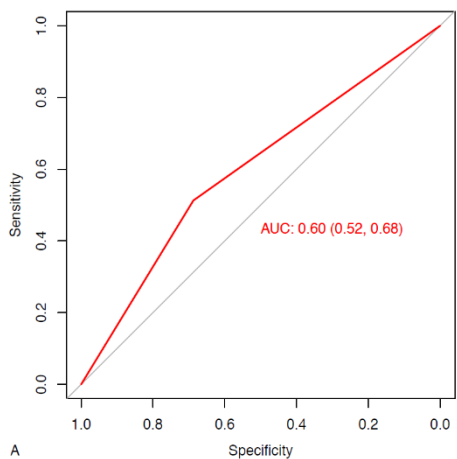
B

**8.3. pav.** VUL SK bendrų skyrių ROC kreivės. A. RDW kiekybinis kriterijus. B. Trombocitų kiekybinis kriterijus.

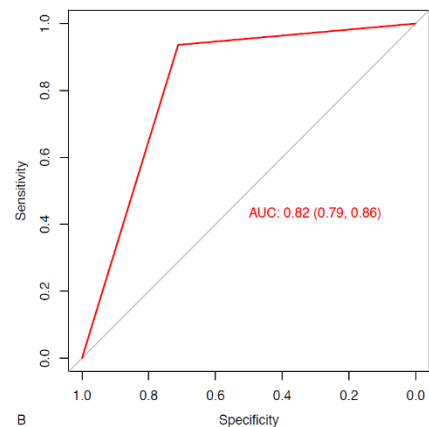
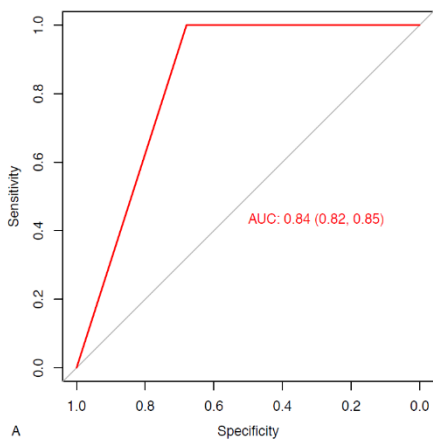
*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.



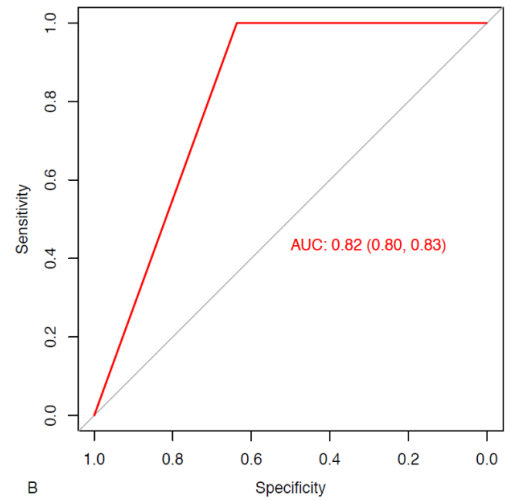
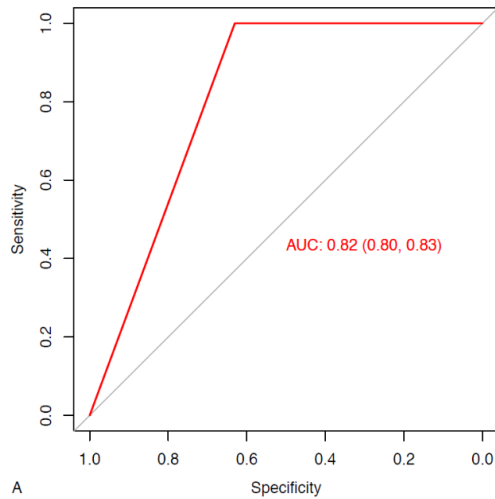
**8.4. pav.** VUL SK bendrų skyrių ROC kreivės. A. Neutrofilų kiekybinis kriterijus. B. Limfocitų kiekybinis kriterijus.  
*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.



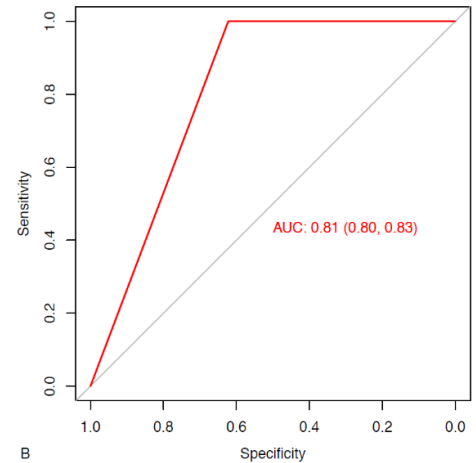
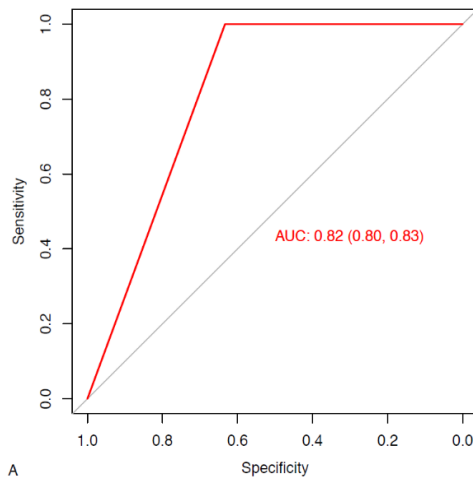
**8.5. pav.** VUL SK bendrų skyrių ROC kreivės. A. Monocitų kiekybinis kriterijus. B. Eozinofilų kiekybinis kriterijus.  
*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.



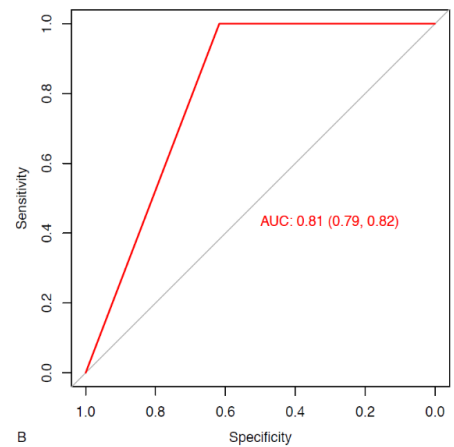
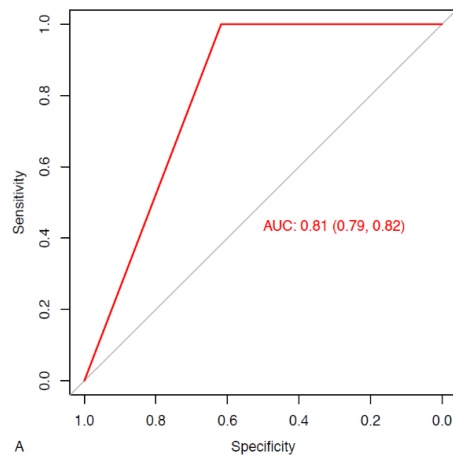
**8.6. pav.** VUL SK bendrų skyrių ROC kreivės. A. Bazofilų kiekybinis kriterijus. B. Normoblastų kiekybinis kriterijus.  
*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.



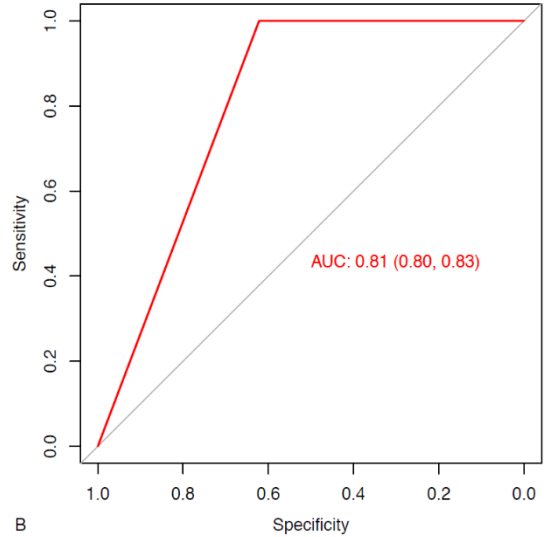
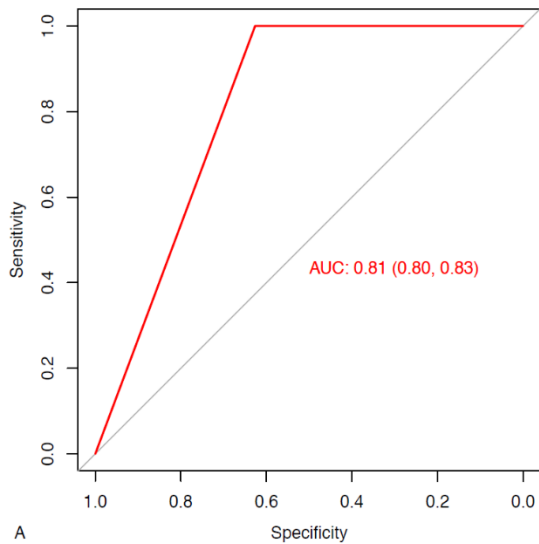
**8.7. pav.** VUL SK bendrų skyrių ROC kreivės. A. Šistocitų/mikrocitinių eritrocitų kokybinis kriterijus. B. Dimorfinių eritrocitų populiacijos kokybinis kriterijus.  
*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.



**8.8. pav.** VUL SK bendrų skyrių ROC kreivės. A. Nuokrypio į kairę kokybinis kriterijus. B. Neutrofilų blastų kokybinis kriterijus.  
*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.

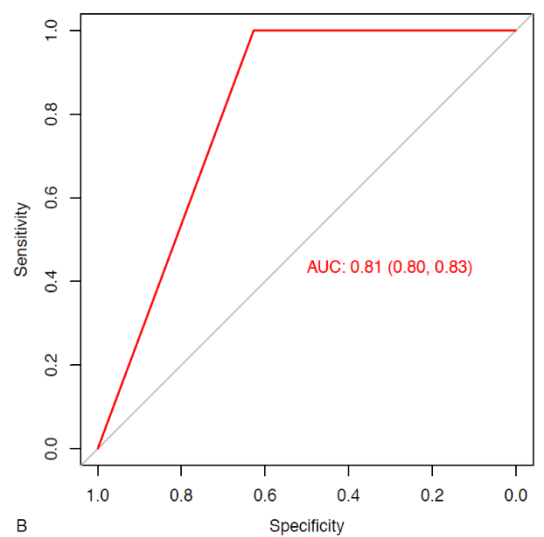
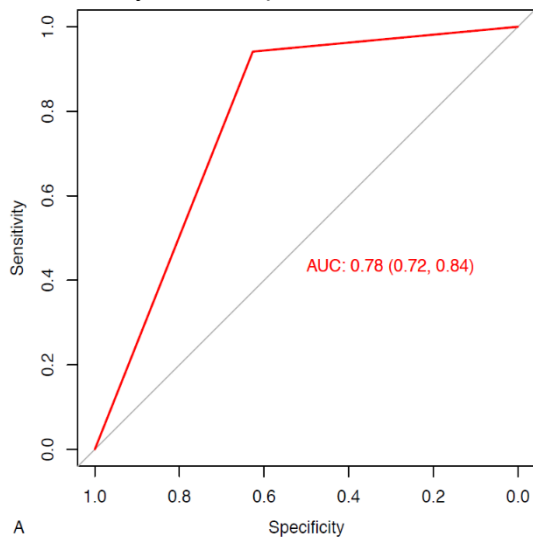


**8.9. pav.** VUL SK bendrų skyrių ROC kreivės. A. Limfocitų blastų kokybinis kriterijus. B. Monocitų blastų kokybinis kriterijus.  
*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.



**8.10. pav.** VUL SK bendrų skyrių ROC kreivės. A. Reakcinių limfocitų kokybinis kriterijus. B. Nebrandžių granulocitų kokybinis kriterijus.

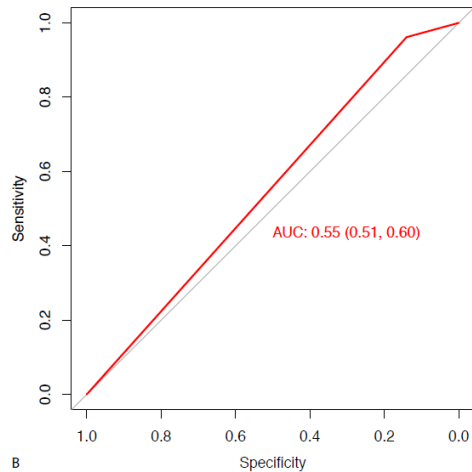
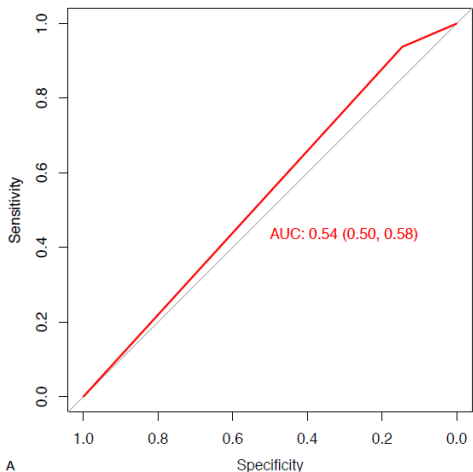
Šaltinis: sudaryta autorių, 2019 m.



**8.11. pav.** VUL SK bendrų skyrių ROC kreivės. A. Gigantinių trombocitų kokybinis kriterijus. B. Trombocitų nuolaužų kokybinis kriterijus.

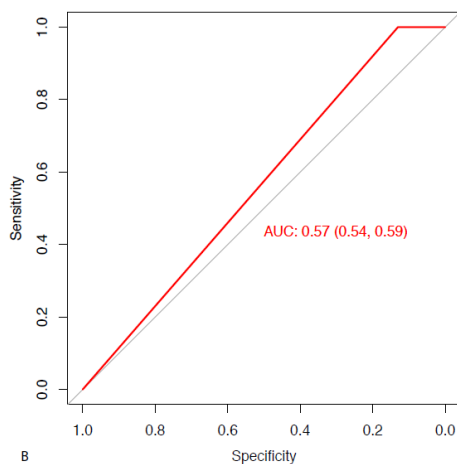
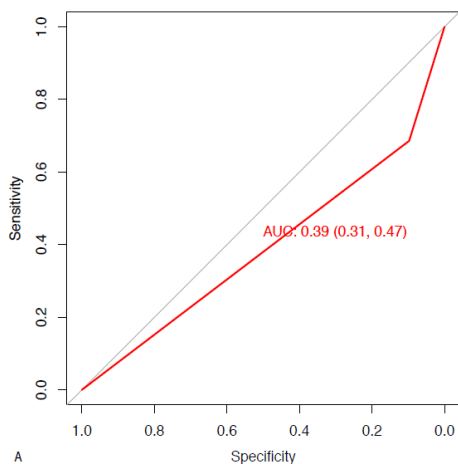
Šaltinis: sudaryta autorių, 2019 m.





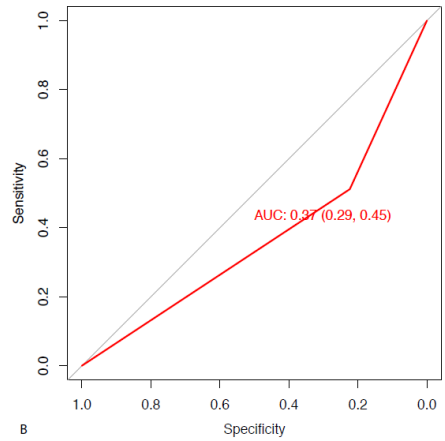
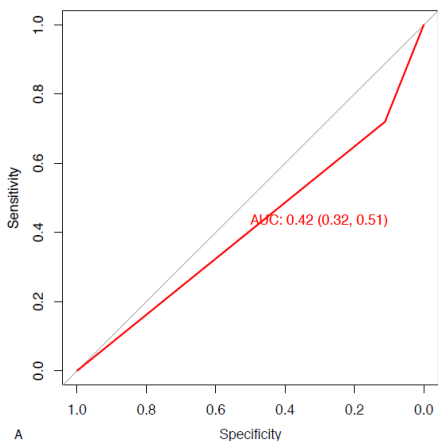
**9.1. pav.** VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyrių ROC kreivės. A. Leukocitų kiekybinis kriterijus. B. Hemoglobino kiekybinis kriterijus.

Šaltinis: sudaryta autorių, 2019 m.



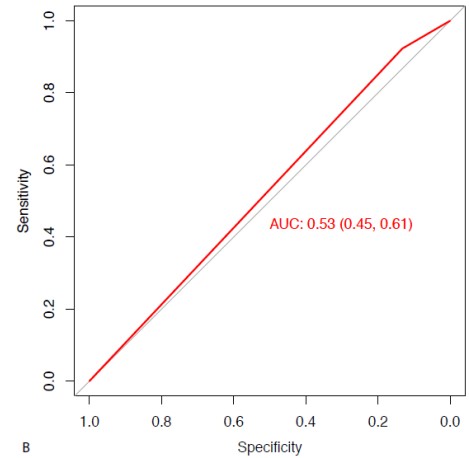
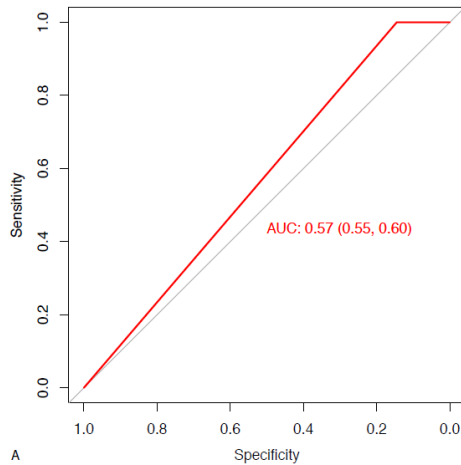
**9.2. pav.** VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyrių ROC kreivės. A. MCV kiekybinis kriterijus. B. MCHC kiekybinis kriterijus.

Šaltinis: sudaryta autorių, 2019 m.



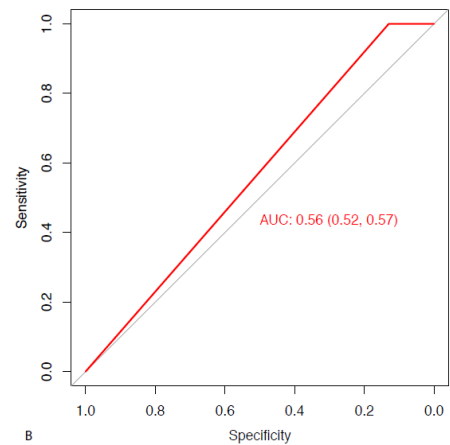
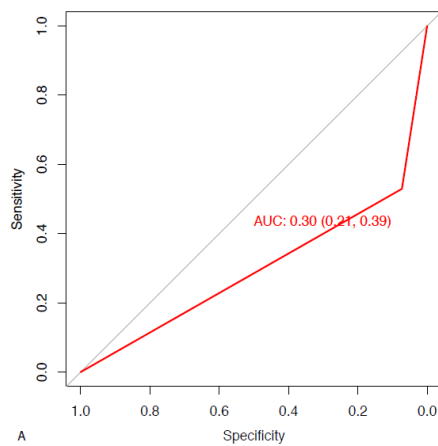
**9.3. pav.** VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyrių ROC kreivės. A. RDW kiekybinis kriterijus. B. Trombocitų kiekybinis kriterijus.

Šaltinis: sudaryta autorių, 2019 m.



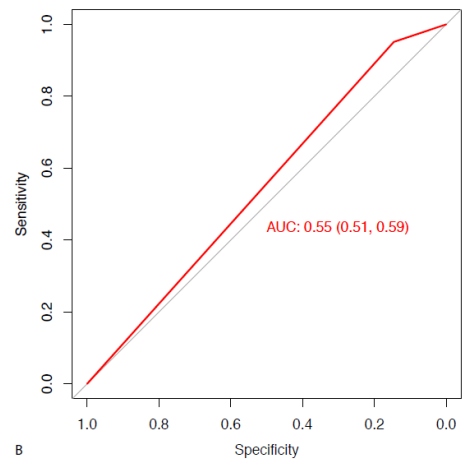
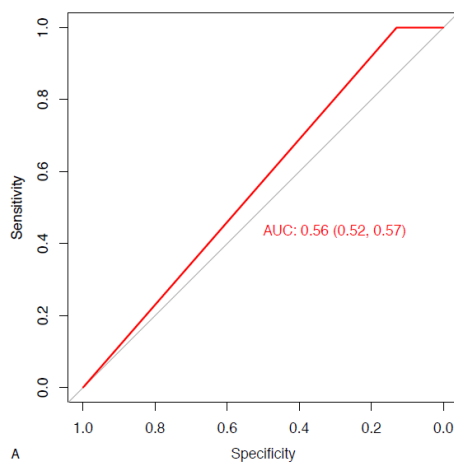
**9.4. pav.** VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyrių ROC kreivės. A. Neutrofilų kiekybinis kriterijus. B. Limfocitų kiekybinis kriterijus.

*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.



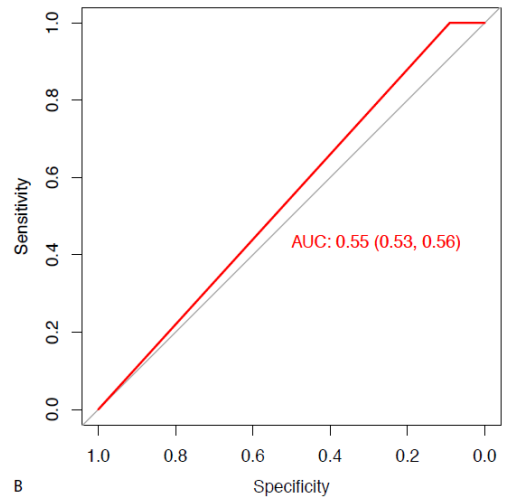
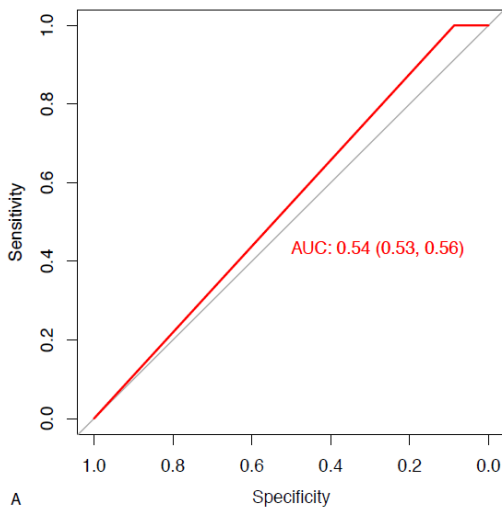
**9.5. pav.** VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyrių ROC kreivės. A. Monocitų kiekybinis kriterijus. B. Eozinofilų kiekybinis kriterijus.

*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.



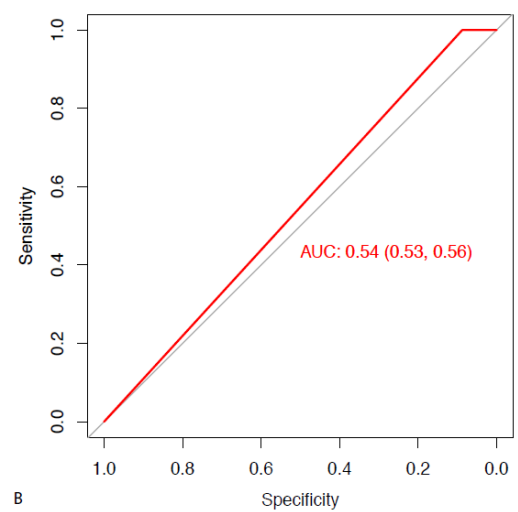
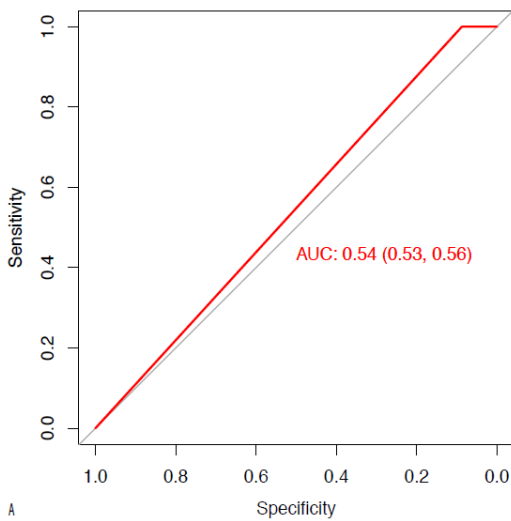
**9.6. pav.** VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyrių ROC kreivės. A. Bazofilų kiekybinis kriterijus. B. Normoblastų kiekybinis kriterijus.

*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.



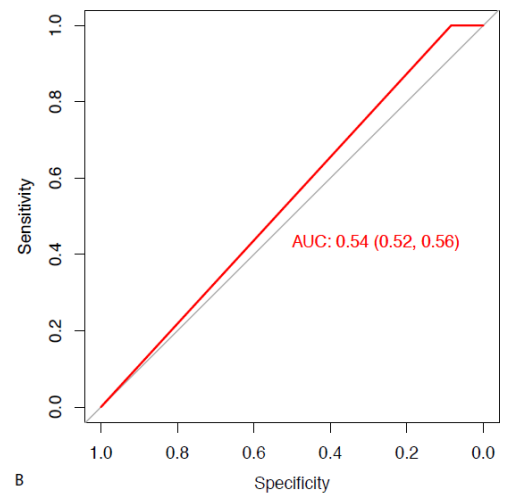
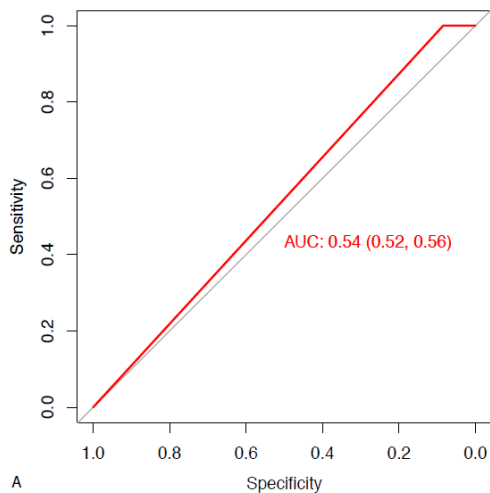
**9.7. pav.** VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyrių ROC kreivės. A. Šistocitų/mikrocitinių eritrocitų kokybinis kriterijus. B. Dimorfinių eritrocitų populiacijos kokybinis kriterijus.

*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.

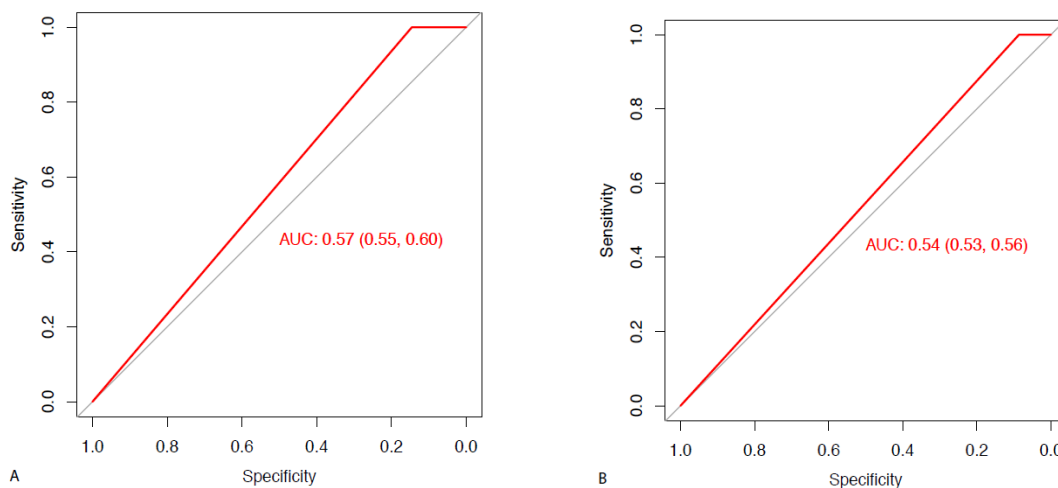


**9.8. pav.** VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyrių ROC kreivės. A. Nuokrypio į kairę kokybinis kriterijus. B. Neutrofilų blastų kokybinis kriterijus.

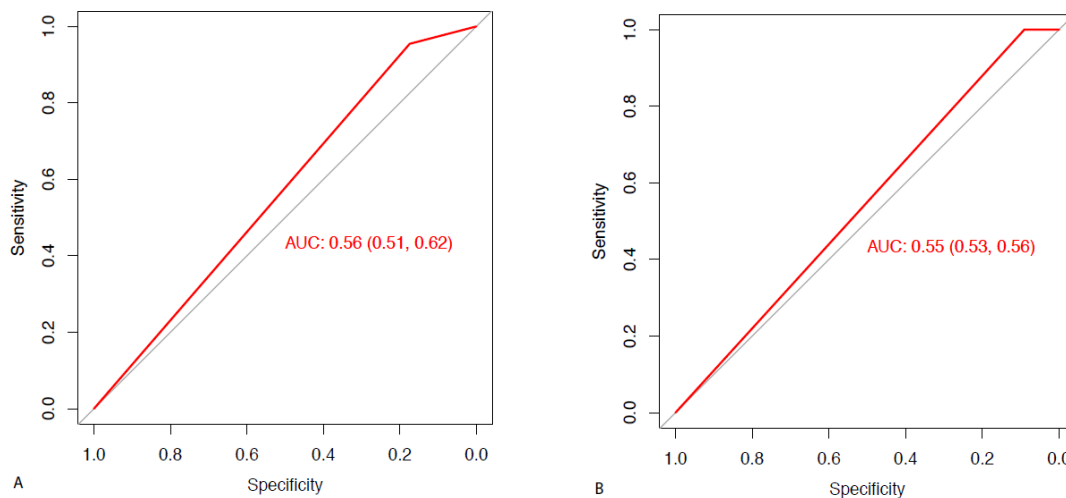
*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.



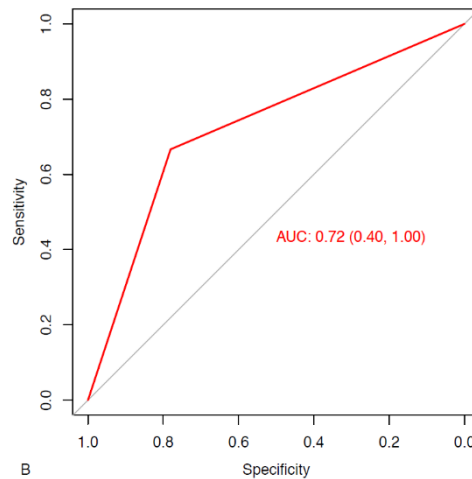
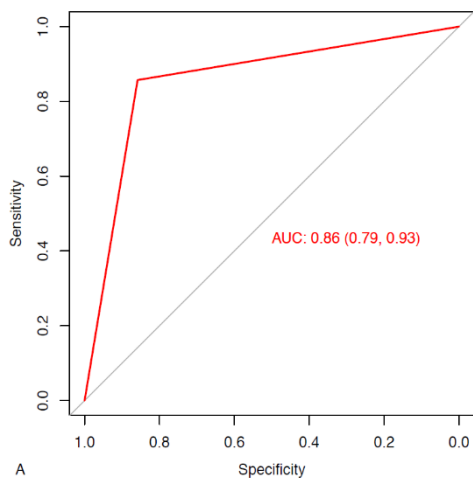
**9.9. pav.** VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyrių ROC kreivės. A. Limfocitų blastų kokybinis kriterijus. B. Monocitų blastų kokybinis kriterijus.  
*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.



**9.10. pav.** VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyrių ROC kreivės. A. Reakcinių limfocitų kokybinis kriterijus. B. Nebrandžių granulocitų kokybinis kriterijus.  
*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.

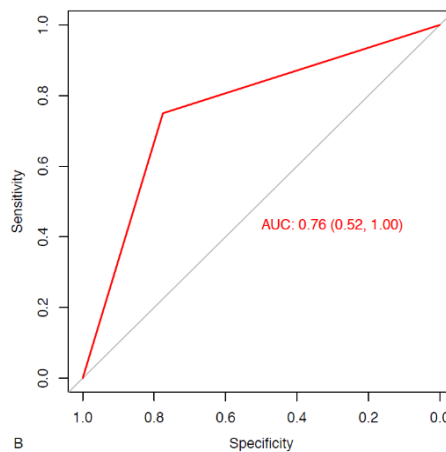
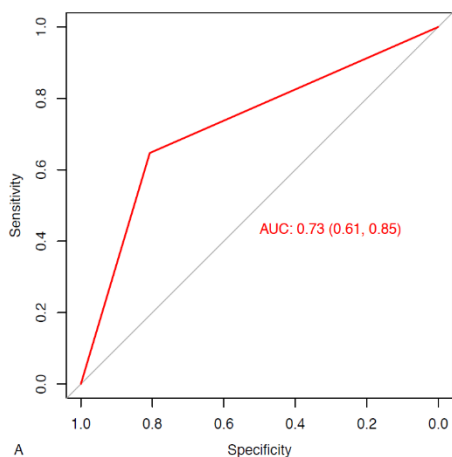


**9.11. pav.** VUL SK reanimacijos – intensyvios terapijos skyrių ROC kreivės. A. Gigantinių trombocitų kokybinis kriterijus. B. Trombocitų nuolaužų kokybinis kriterijus.  
*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.

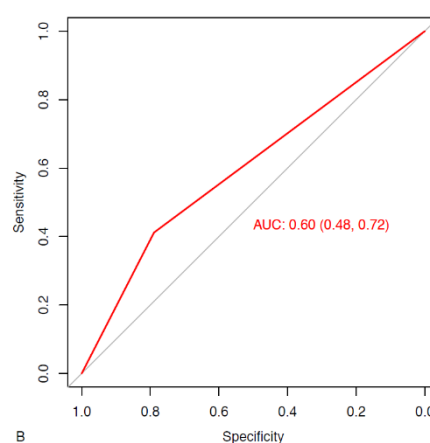
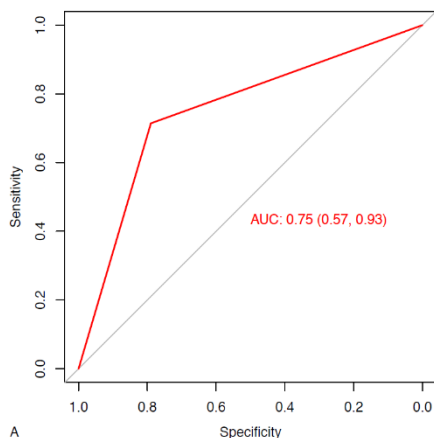


**10.1. pav.** VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos ROC kreivės. A. Leukocitų kiekybinis kriterijus. B. Hemoglobino kiekybinis kriterijus.

*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.

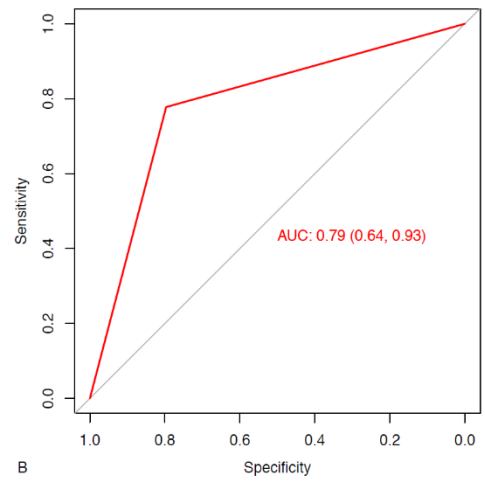
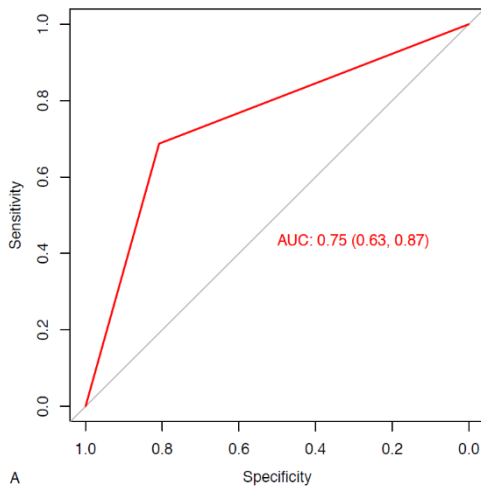


**10.2. pav.** VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos ROC kreivės. A. MCV kiekybinis kriterijus. B. MCHC kiekybinis kriterijus. Sudarė: sudaryta autorių, 2019 m.

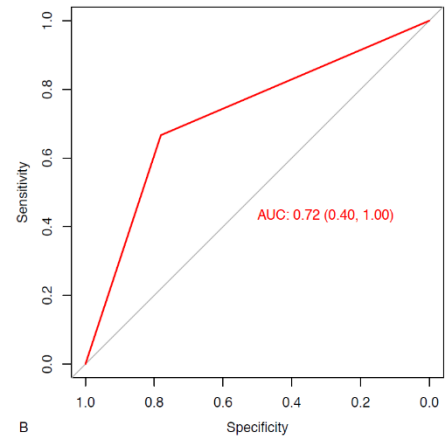
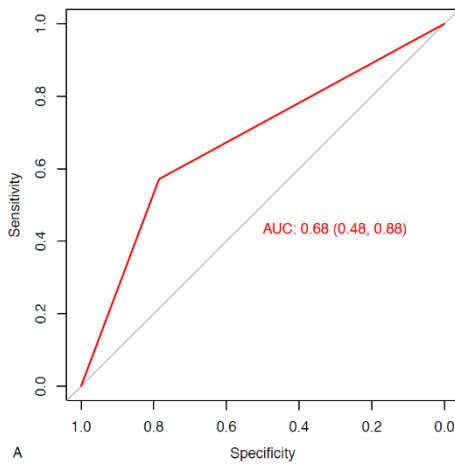


**10.3. pav.** VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos ROC kreivės. A. RDW kiekybinis kriterijus. B. Trombocitų kiekybinis kriterijus.

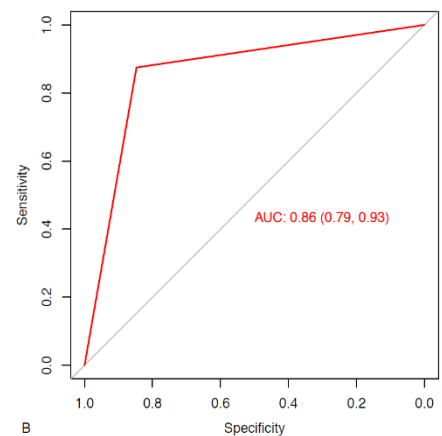
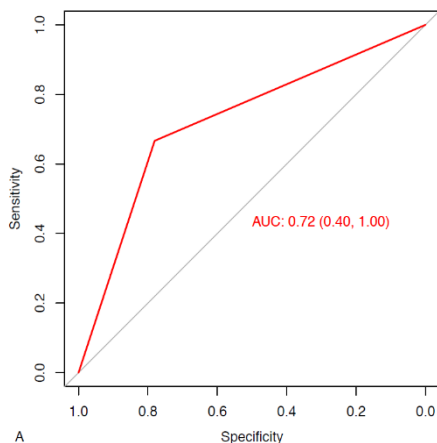
*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.



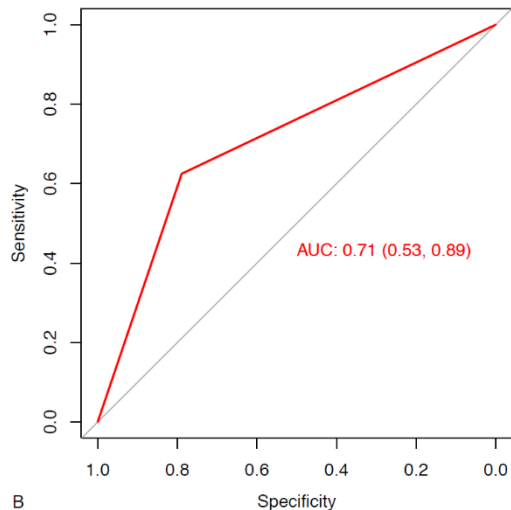
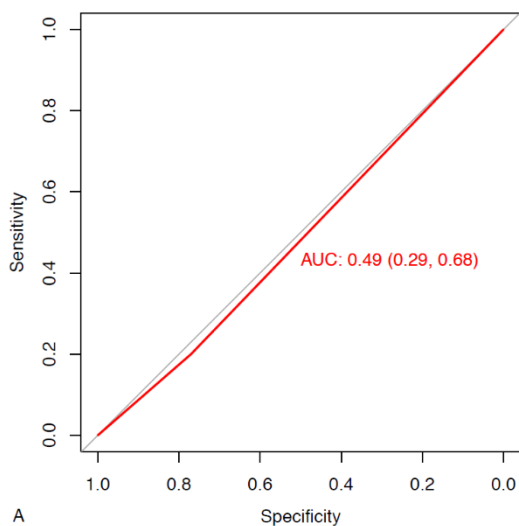
**10.4. pav.** VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos ROC kreivės. A. Neutrofilų kiekybinis kriterijus. B. Limfocitų kiekybinis kriterijus.  
*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.



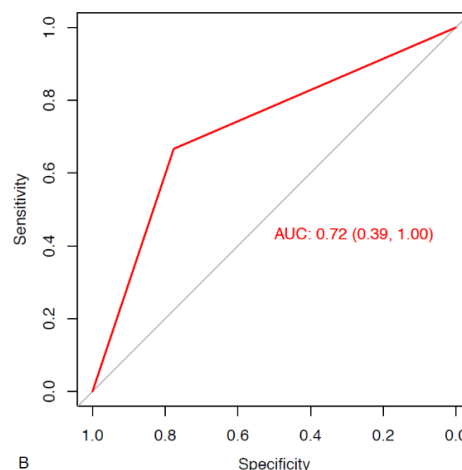
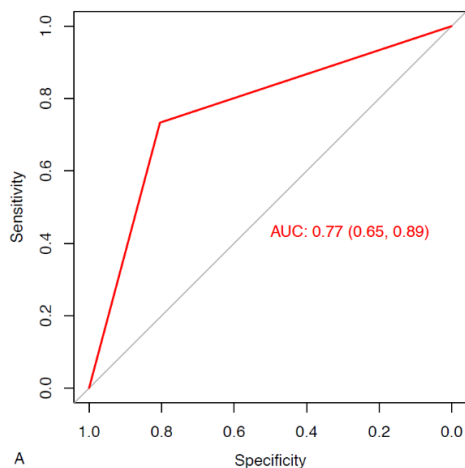
**10.5. pav.** VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos ROC kreivės. A. Monocitų kiekybinis kriterijus. B. Eozinofilų kiekybinis kriterijus.  
*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.



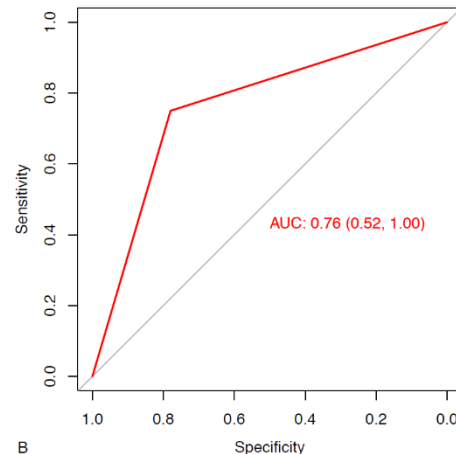
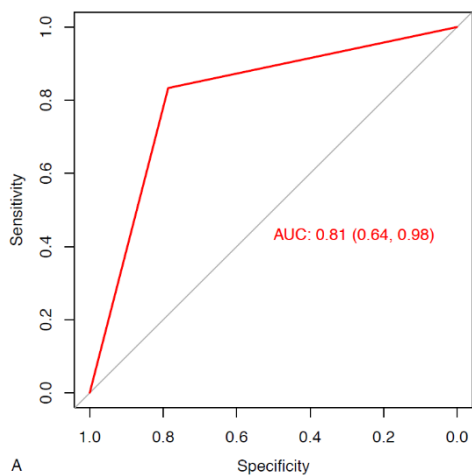
**10.6. pav.** VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos ROC kreivės. A. Bazofilų kiekybinis kriterijus. B. Normoblastų kiekybinis kriterijus.  
*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.



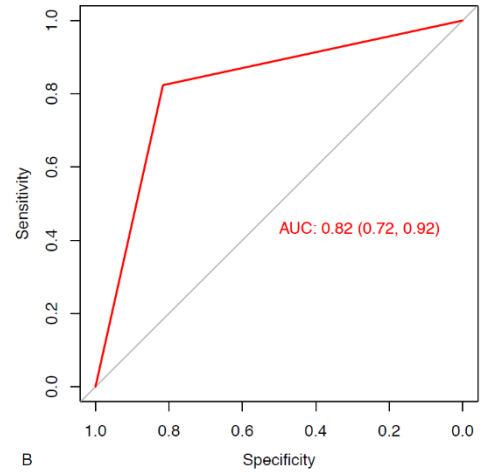
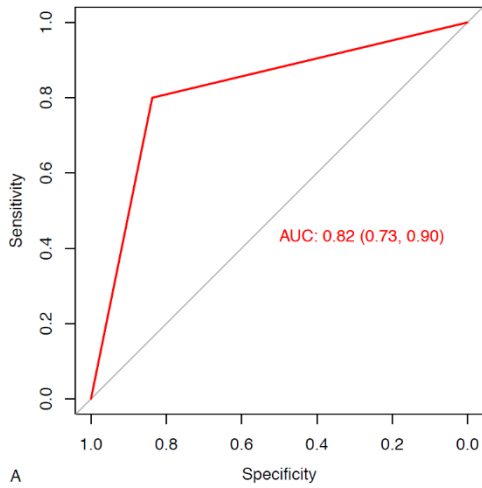
**10.7. pav** VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos ROC kreivės. A. Šistocitų/mikrocitinių eritrocitų kokybinis kriterijus. B. Dimorfinių eritrocitų populiacijos kokybinis kriterijus. *Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.



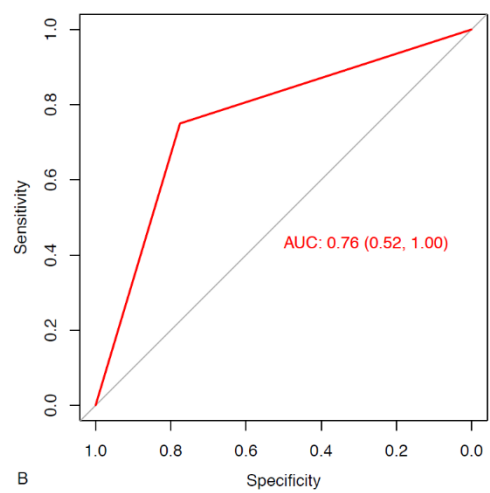
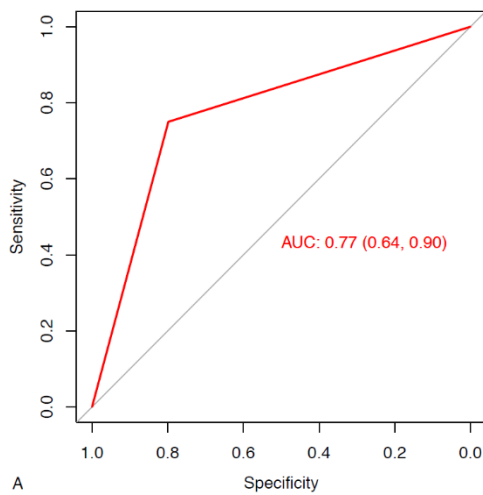
**10.8. pav.** VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos ROC kreivės. A. Nuokrypio į kairę kokybinis kriterijus. B. Neutrofilų blastų kokybinis kriterijus. *Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.



**10.9. pav.** VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos ROC kreivės. A. Limfocitų blastų kokybinis kriterijus. B. Monocitų blastų kokybinis kriterijus. *Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.



**10.10. pav.** VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos ROC kreivės. A. Reakcinių limfocitų kokybinis kriterijus. B. Nebrandžių granulocitų kokybinis kriterijus.  
*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.



**10.11. pav.** VUL SK hematologijos bei onkologijos konsultacijų poliklinikos ROC kreivės. A. Gigantinių trombocitų kokybinis kriterijus. B. Trombocitų nuolaužų kokybinis kriterijus.  
*Šaltinis:* sudaryta autorių, 2019 m.