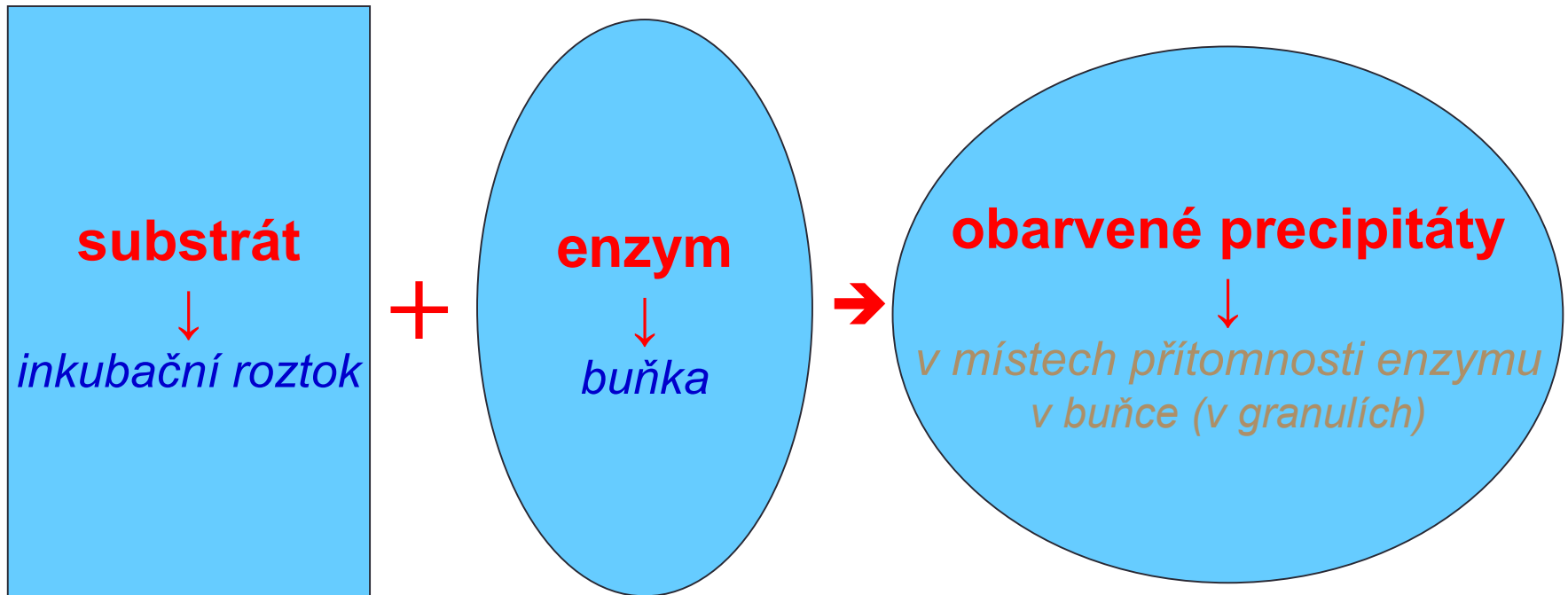


# CYTOCHEMICKÁ VYŠETŘENÍ

---

Vytisková Soňa

# Cytochemická reakce



# Alkalická fosfatáza v neutrofilech

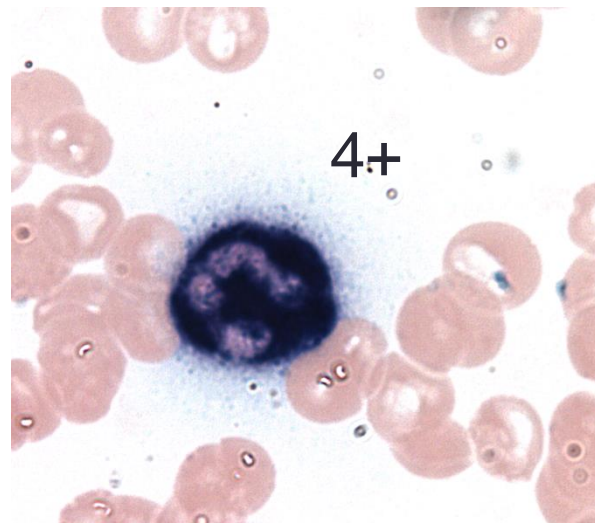
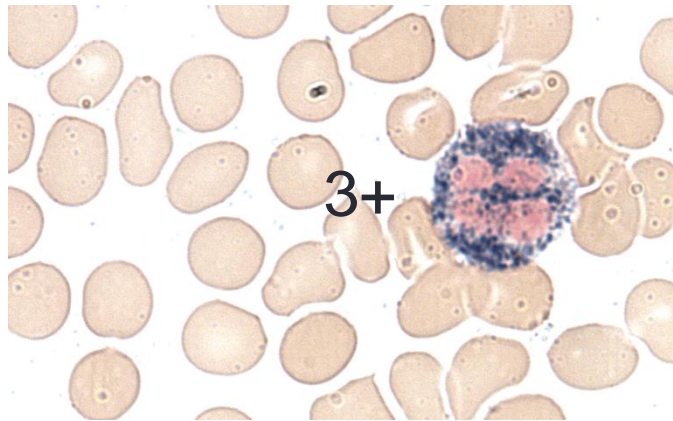
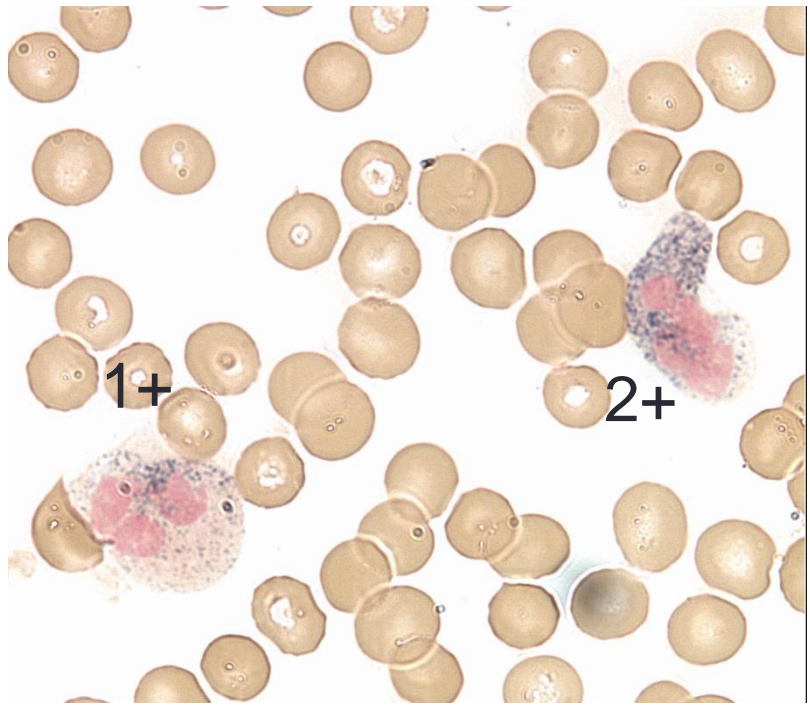
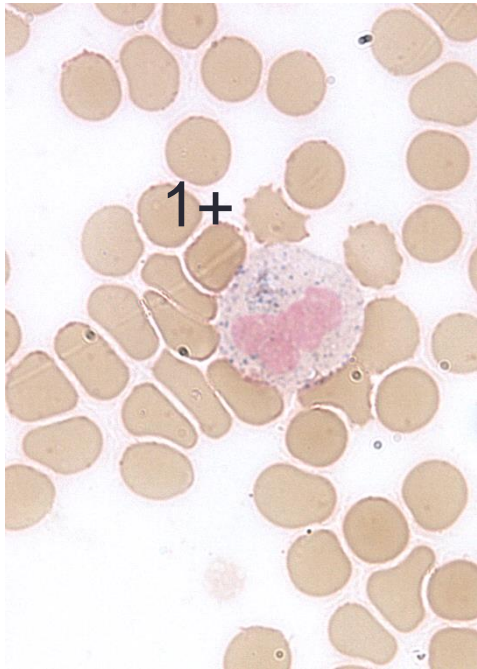
- Princip: reakce substrátu v inkubačním roztoku s leukocytárním enzymem (ALP) v neutrofilních granulích.  
V místě reakce vzniká obarvený precipitát.
- Hodnocení: periferní krev, sekundární granulace v cytoplazmě
  - neutrofilní segmenty
  - neutrofilní tyče
  - Intenzita zbarvení enzymu v cytoplazmě: 0 až ++++
- Klinický význam: odlišení leukemoidní reakce od CML
  - zvýšená ALP: těhotenství, infekce s neutrofilii, polycytemie, aplastické anemie, MDS, mnohočetný myelom
  - snížená ALP: CML, PNH, sférocytární anemie a sideroblastické anemie.

2+



3+





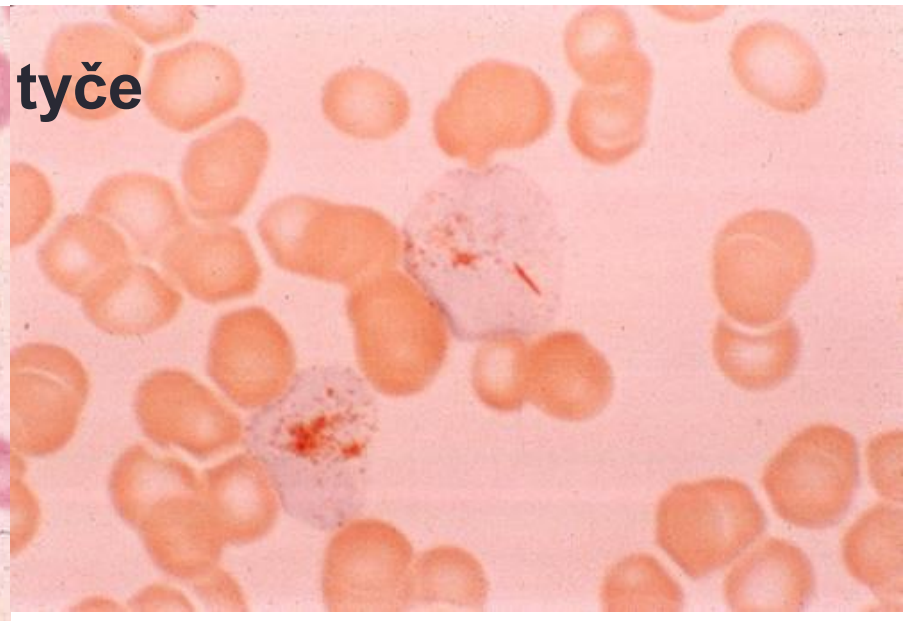
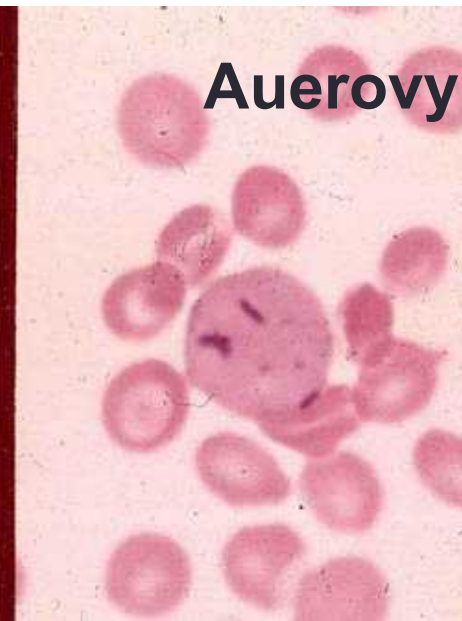
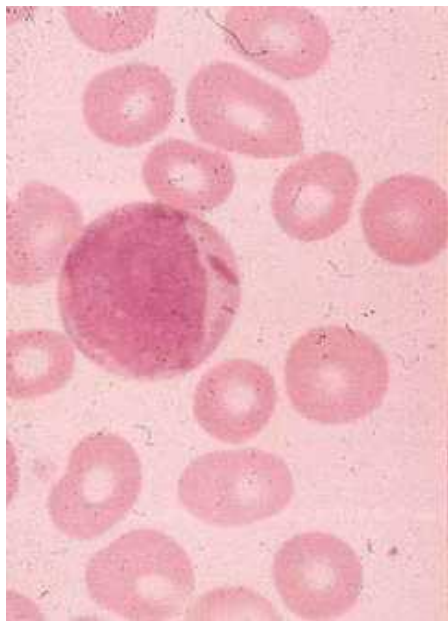
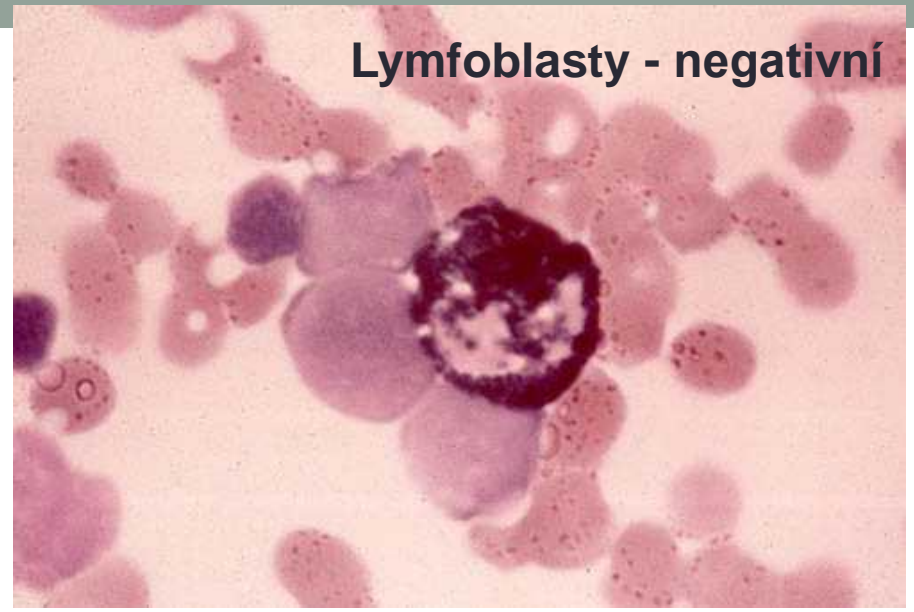
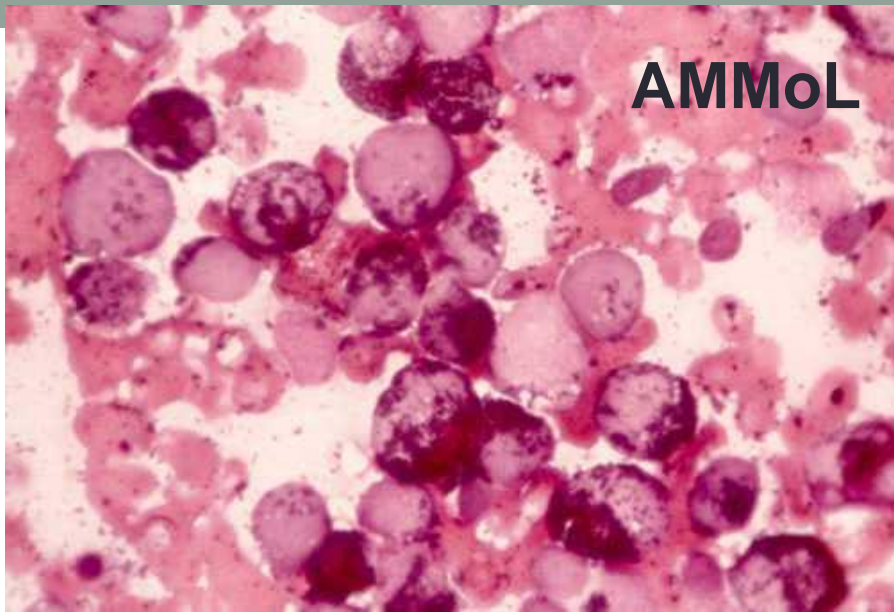
# Myeloperoxidáza

- Peroxidáza je lysozomální kataláza a je přítomna v primárních azurofilních granulích neutrofilů, eozinofilů a monocytů. Peroxidáza nevykazuje aktivitu v erytrocytech a v lymfocytech. S postupným vyzráváním myeloidních buněk přibývá v cytoplasmě peroxidázové aktivity s nejvyšší pozitivitou v neutrofilních segmentech. Eozinofily vykazují také peroxidázovou aktivitu, bazofily jsou negativní. V monocytech je aktivita jemně granulární. Enzym není přítomen v červených krvinkách a lymfocytech.
- Princip: peroxidáza přenáší vodík z vhodného donoru (4-chlor-1-naftol) na peroxid. Donor je oxidován a přeměněn na nerozpustnou sraženinu, ta vzniká v místě peroxidázové aktivity a je následně obarvena.
- Hodnocení: pozitivita v cytoplasmě leukocytů (primární granulace)
  - Intenzita positivity se zvyšuje s vyzráváním buněk
  - Hodnotí se procentuální zastoupení určité positivity (0 až +++)
  - Kromě intenzity se sleduje také barvení Auerových tyčí (nemusí být při panoptickém barvení viditelné, především pokud jsou přes jádro).
  - Blastické buňky bez granulace mohou vykazovat přítomnost peroxidázy, která není ještě zabudována do granulí

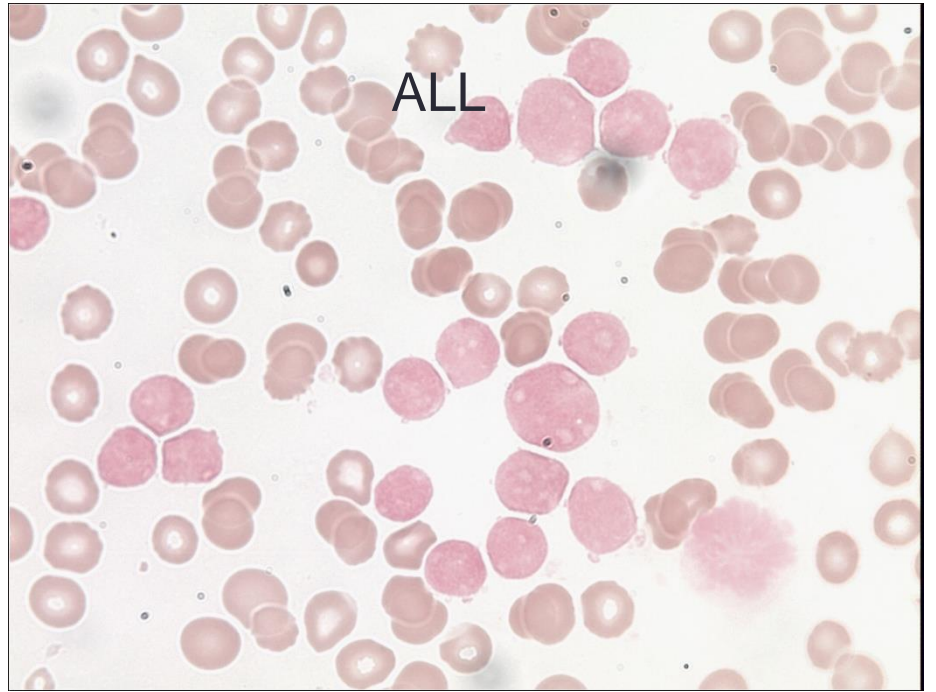
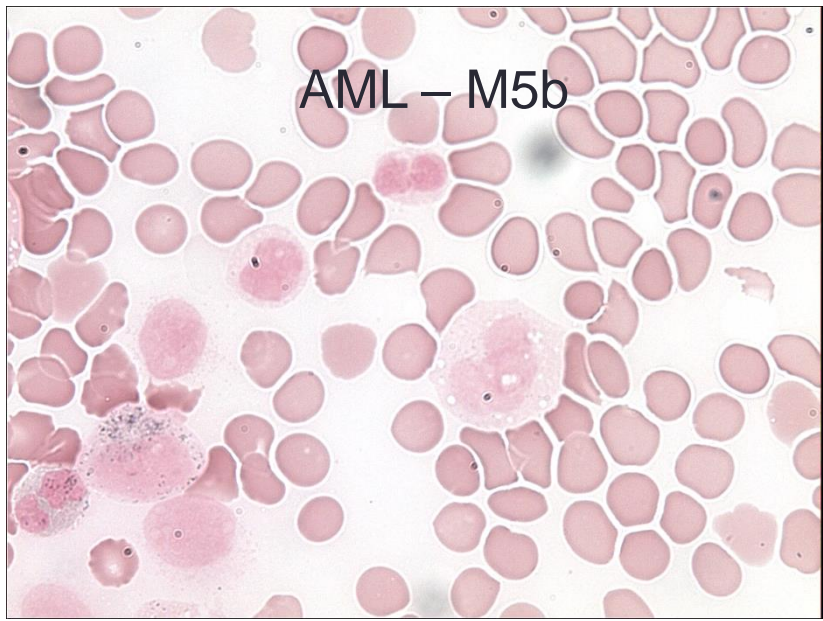
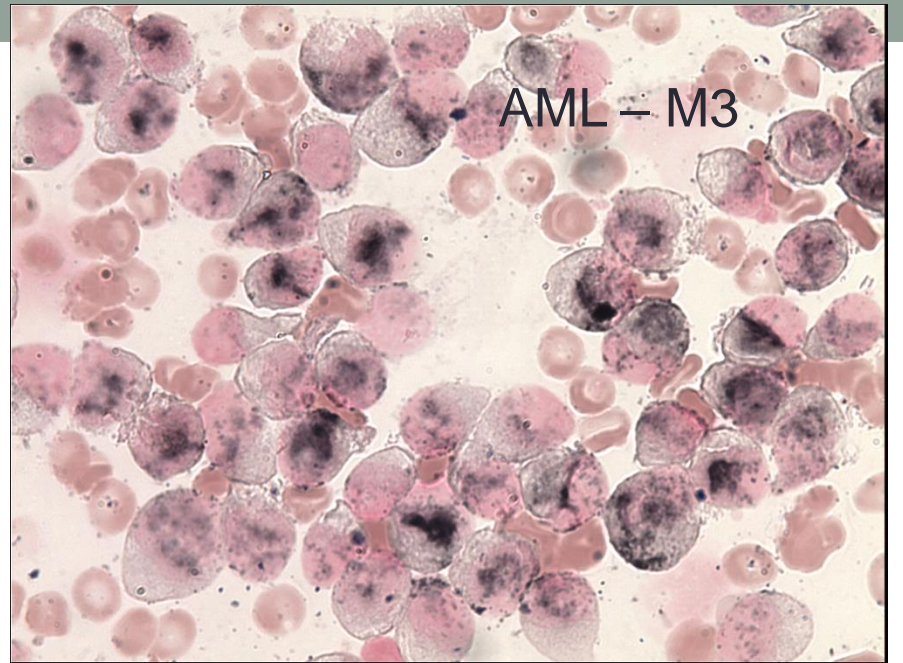
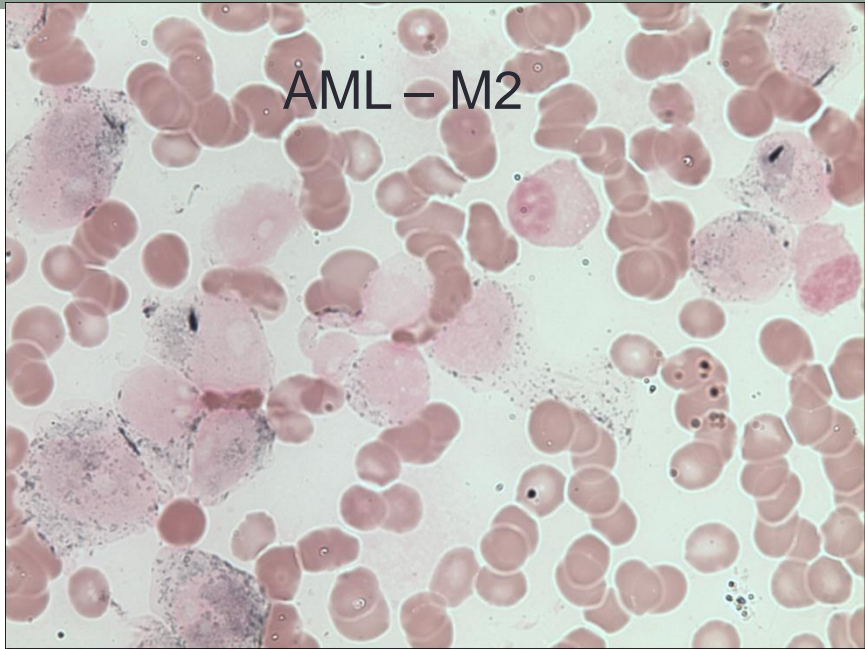
myeloidní buňky	- granulárně pozitivní na + až +++
monocyty	- jemná pozitivita
lymfocyty	- negativní

- Klinický význam:  
pomáhá rozlišit myeloblastickou nebo monoblastickou leukemii od lymfoblastické leukemie





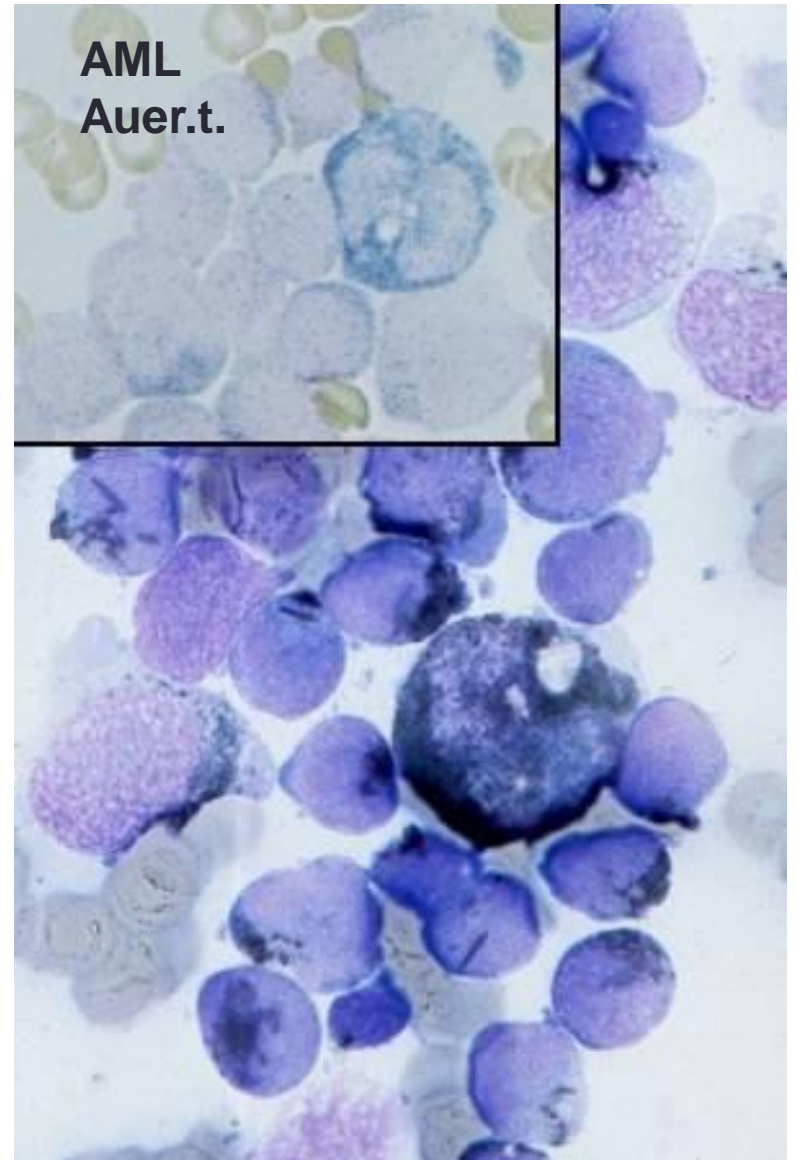
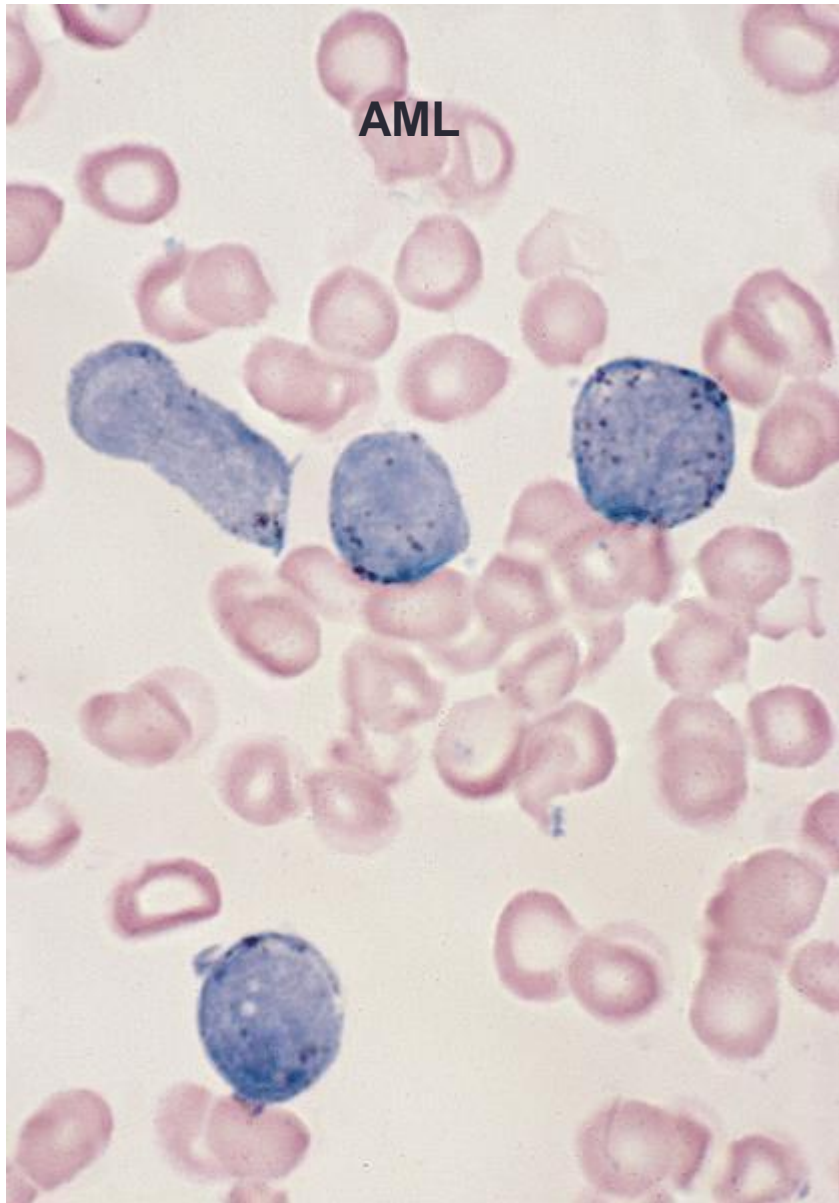






# Barvení lipidů sudanovou černí B

- Princip: sudanová čern B barví různé typy lipidů (steroly, fosfolipidy, neutrální tuky).
- Hodnocení: pozitivita v granulích leukocytů
  - Intenzita positivity se zvyšuje s vyzáváním buněk
  - Kromě intenzity se sleduje také barvení Auerových tyčí (nemusí být při panoptickém barvení viditelné, především pokud jsou přes jádro).
  - NH: myeloidní buňky - pozitivita + až +++
    - monocyty - jemná pozitivita
    - lymfocyty - negativní
- Klinický význam:  
pomáhá rozlišit myeloblastickou nebo monoblastickou leukemii od lymfoblastické leukemie



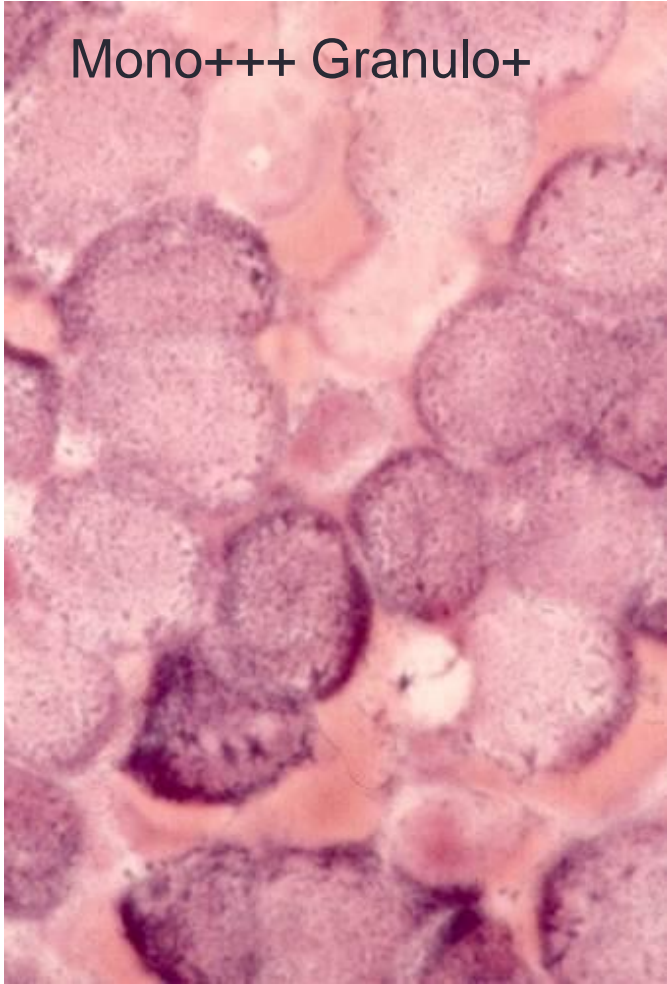
# Nespecifické esterázy

## alfa-naftyl-acetát esteráza, butyrát esteráza

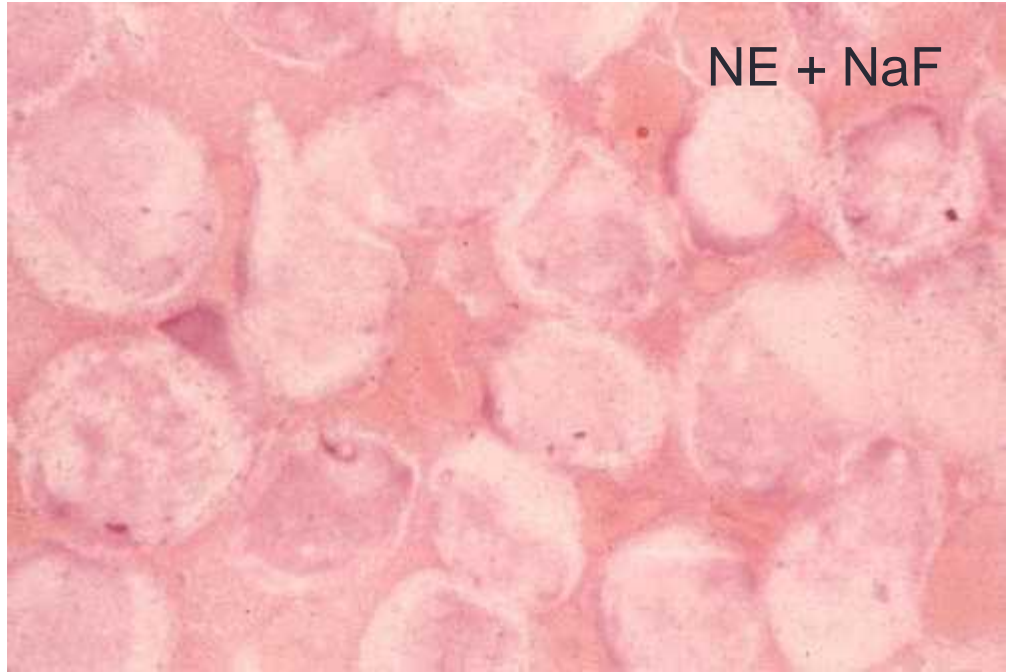
- Princip: Esteráza reaguje se substrátem nebo je reakce blokována NaF. V místě aktivity enzymu vzniká v cytoplazmě obarvená sraženina.
- Hodnocení: pozitivita v cytoplazmě leukocytů (primární granulace)
  - intenzita positivity se zvyšuje s vyžíváním buněk
  - hodnotí se procentuelní zastoupení určité positivity (0 až +++)
  - NH: monocyty - pozitivita + až +++  
myeloidní b., lymfocyty - pozitivita 0 až ++
  - po NaF: monocyty - zeslabení na + nebo 0.  
ostatních b. - pozitivita stejná evt. snížená maximálně o +
- Klinický význam:
  - k rozlišení AMLM4 a AMLM5.
  - zvýšené hodnoty NE a zablokování NE - monocytární charakter buňky

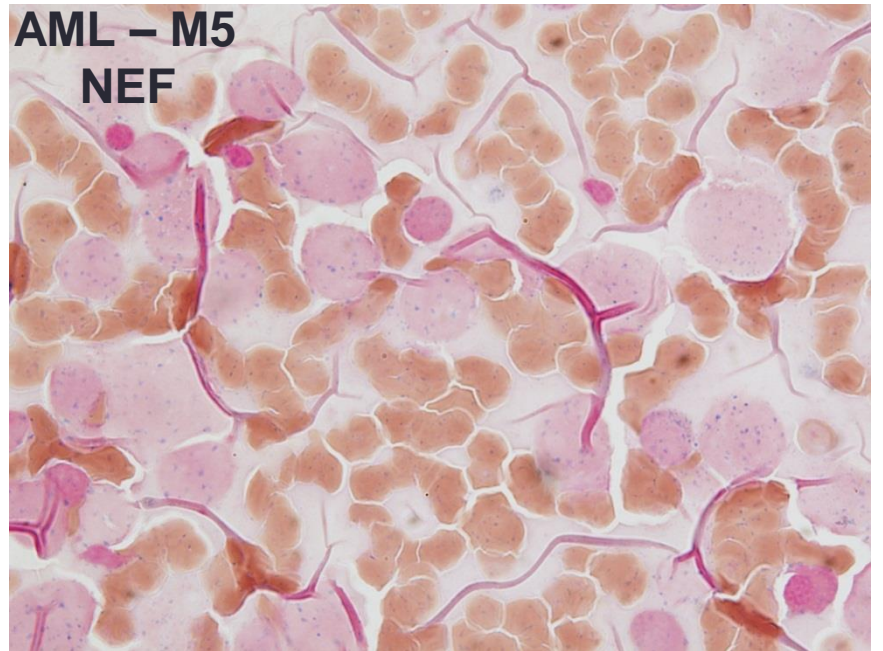
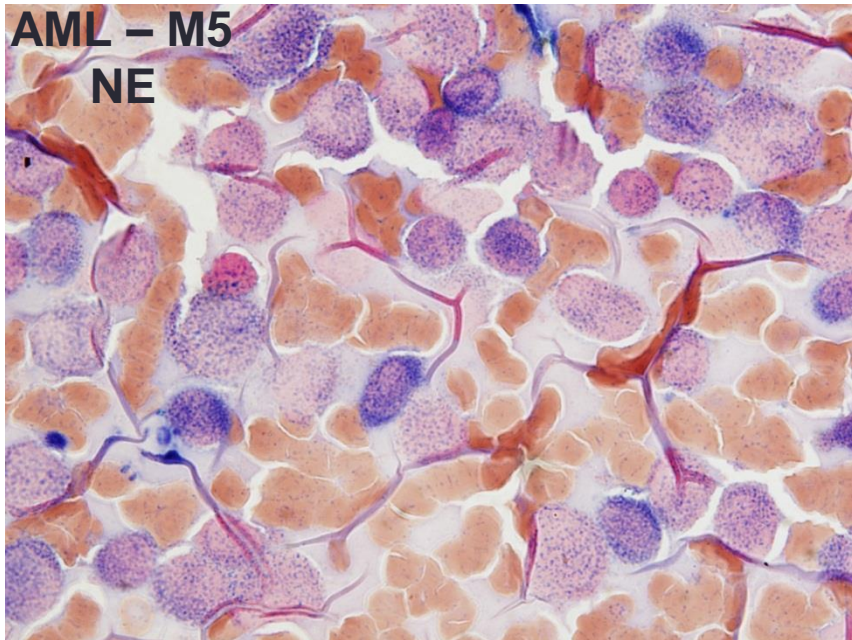
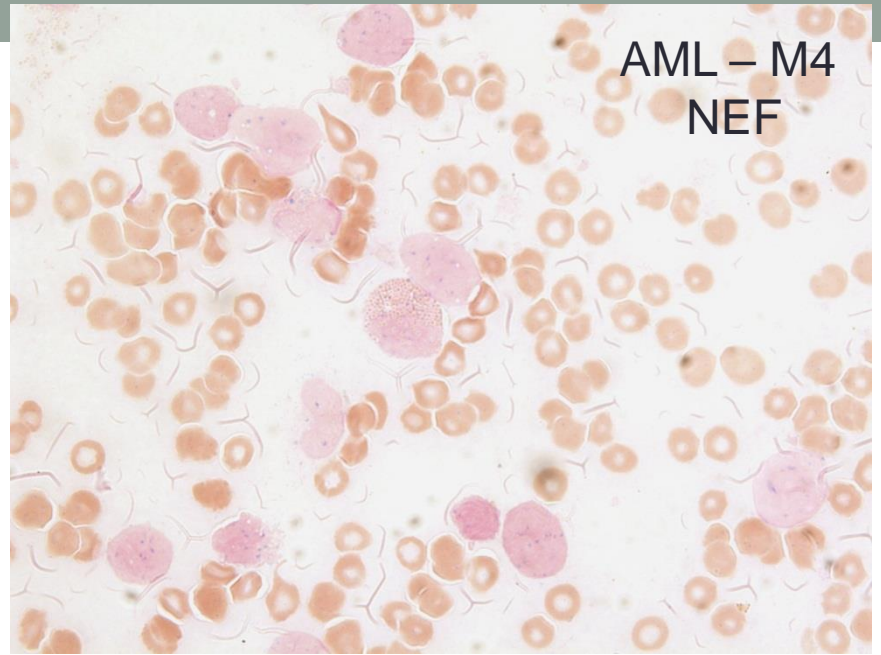
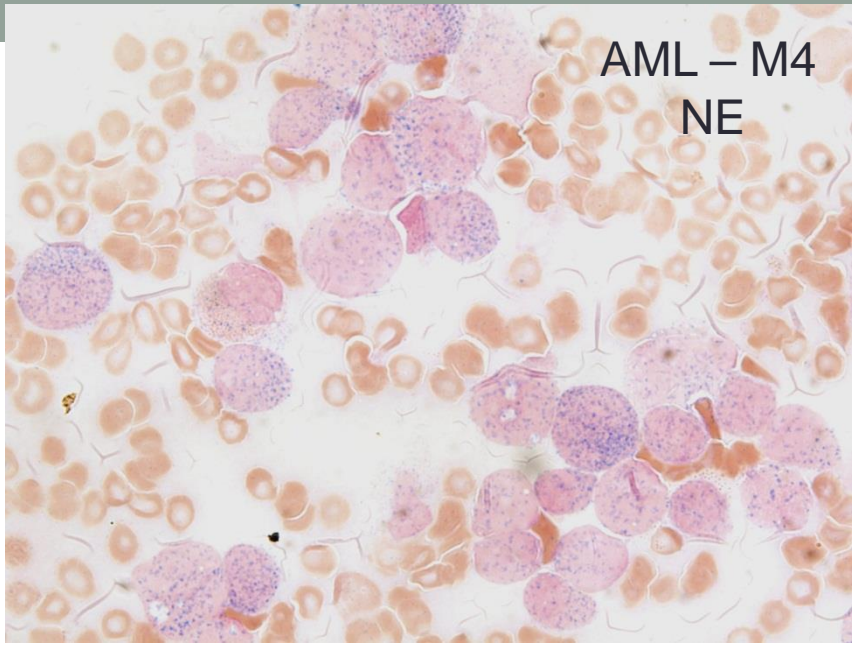


Mono+++ Granulo+



NE + NaF





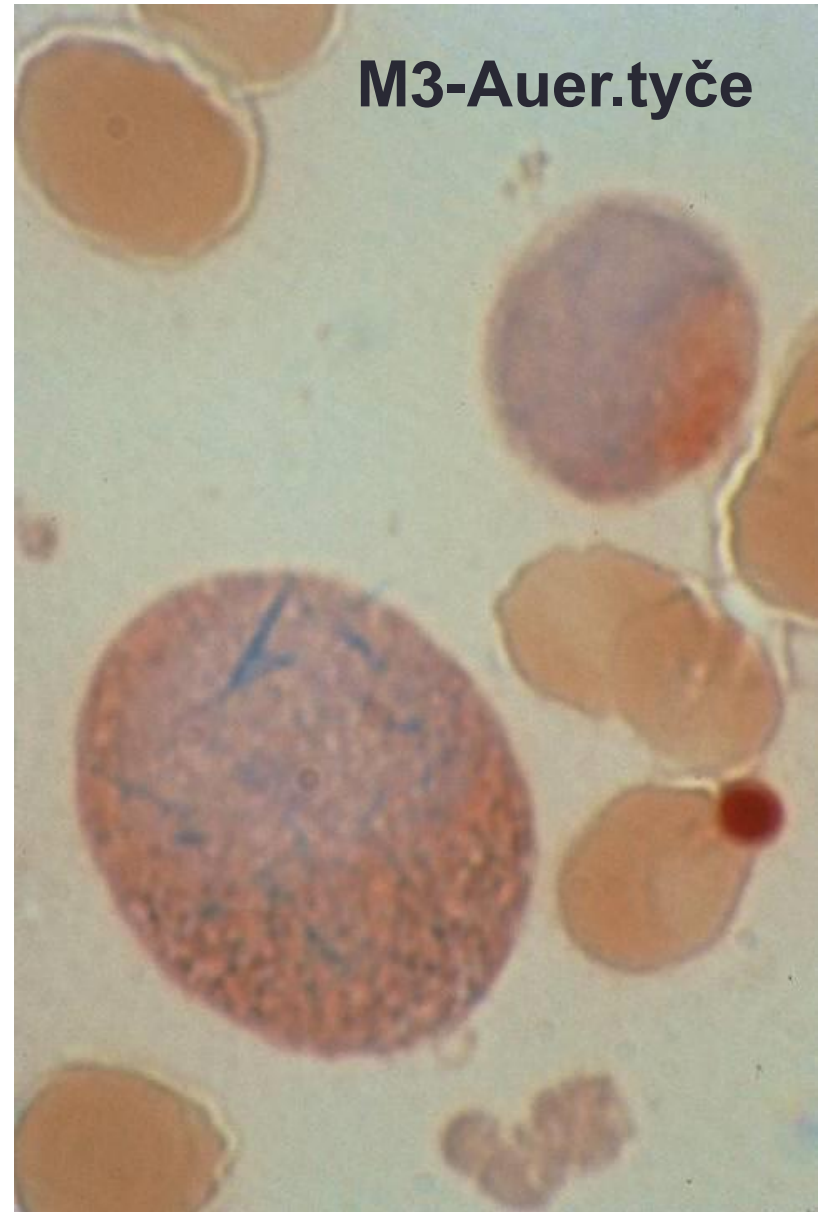
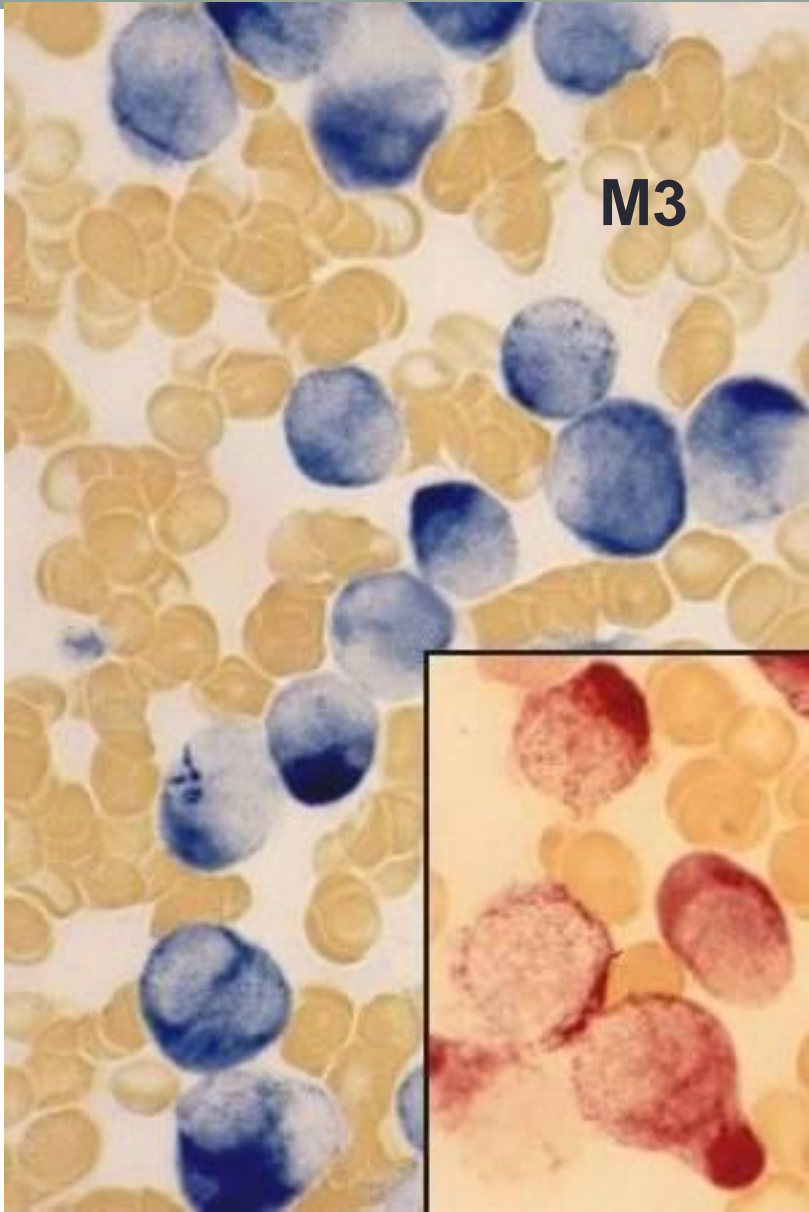


# Chloracetátesteráza

## specifická esteráza

- Princip: enzym (primární granule) reaguje se substrátem, vznik barevné sraženiny v cytoplazmě
- Hodnocení: *pozitivita v cytoplazmě leukocytů (primární granule)*
  - intenzita positivity se zvyšuje s vyzríváním buněk
  - hodnotí se procentuální zastoupení určité positivity (0 až +++)
  - NH: myeloidní b. - od 0 do +++  
monocyty - 0 až +  
často pozitivní Auerovy tyčky.
- Klinický význam:
  - většinou doplňující vyšetření
  - u M4 pomáhá k odlišení granulocytární řady od monocytární.  
(Ize kombinovat dvojité barevné s butyrátesterázou)

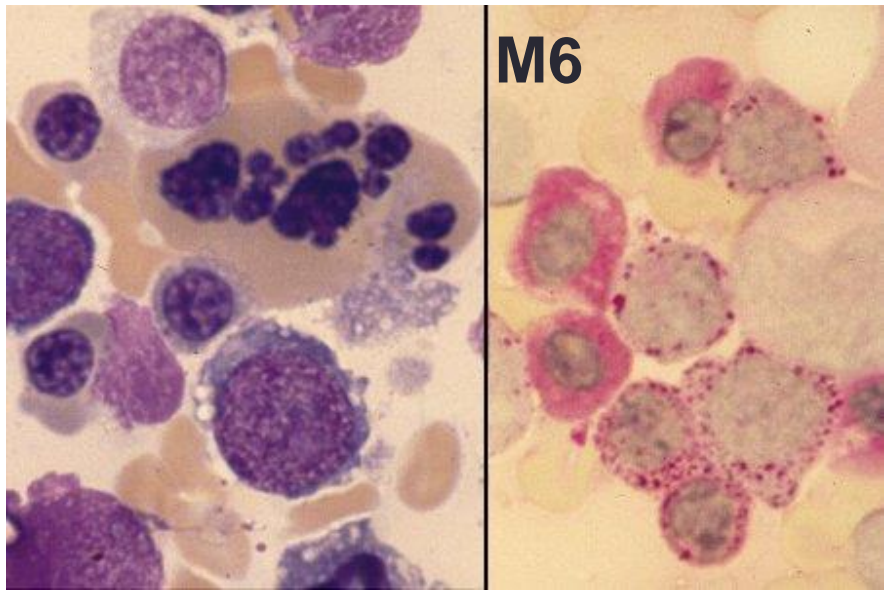
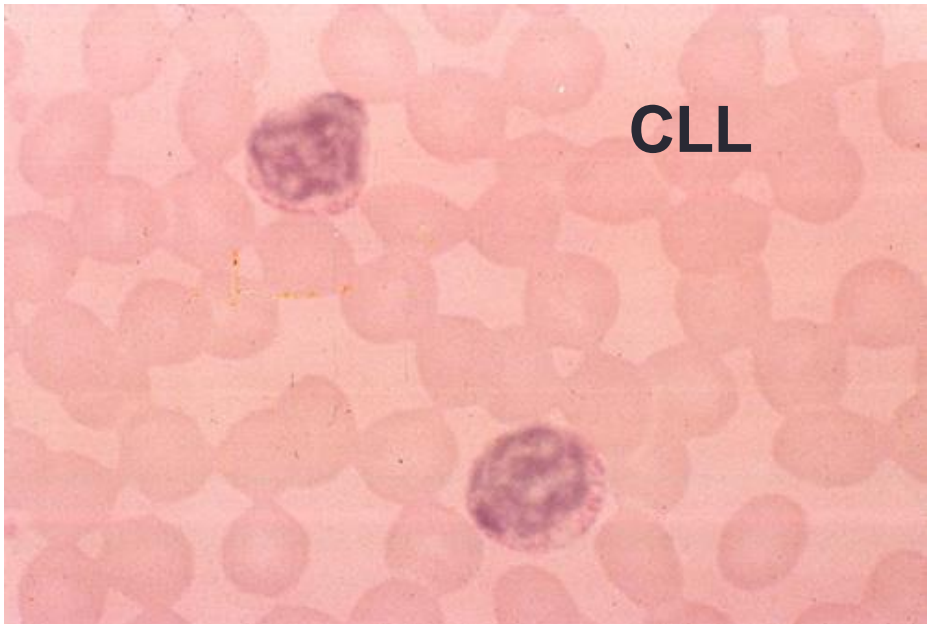
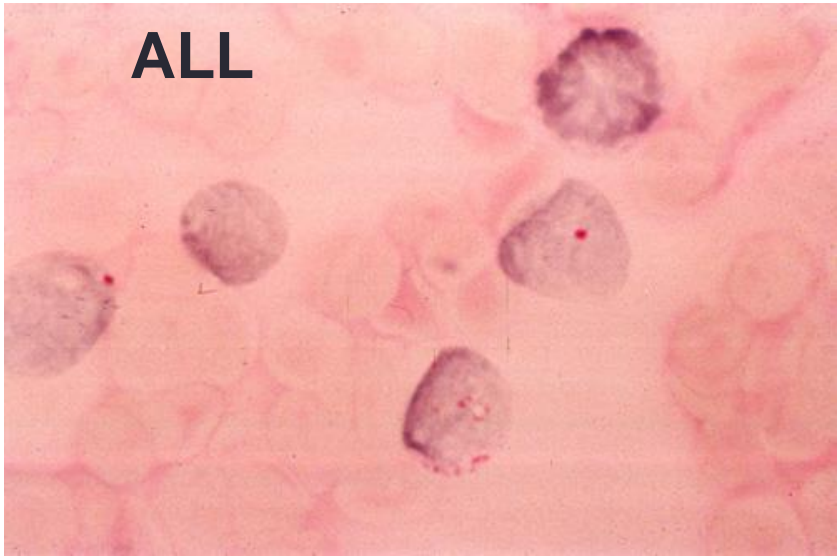




# PAS

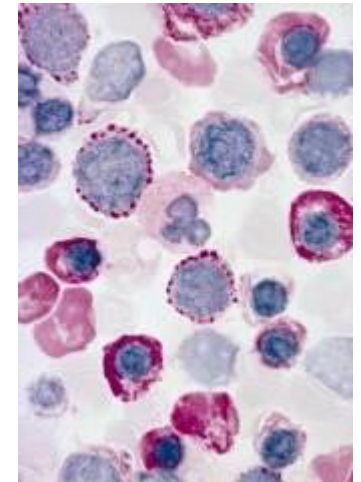
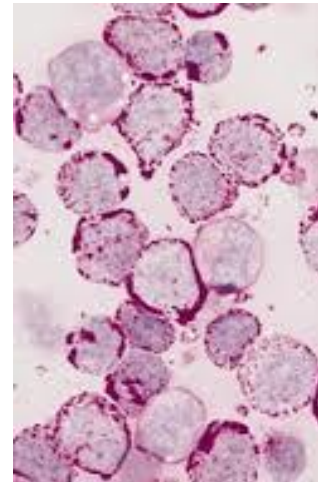
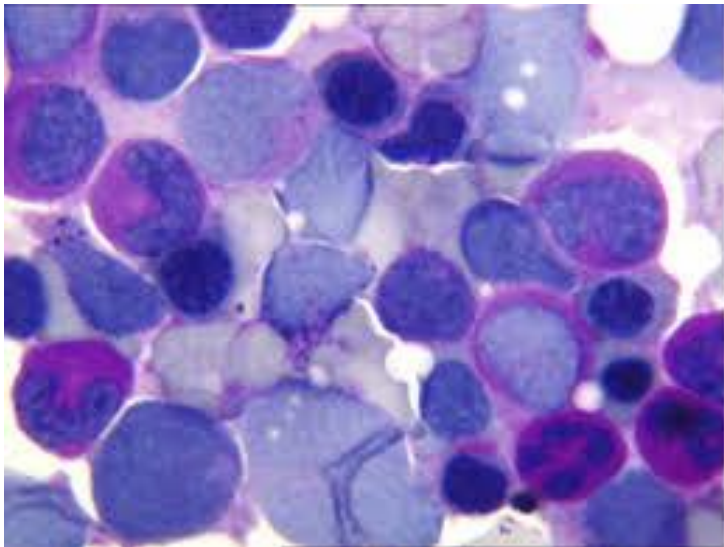
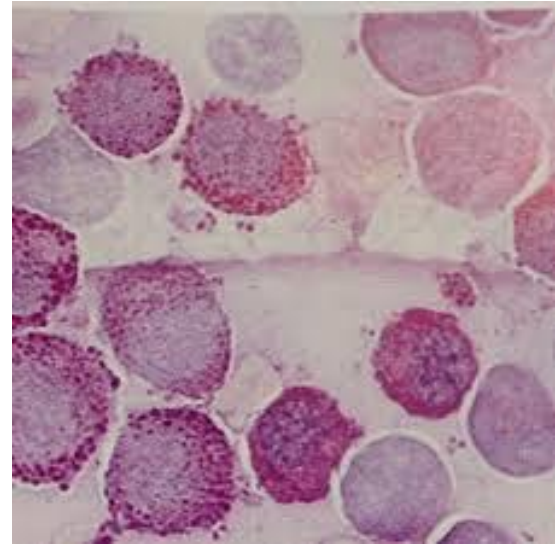
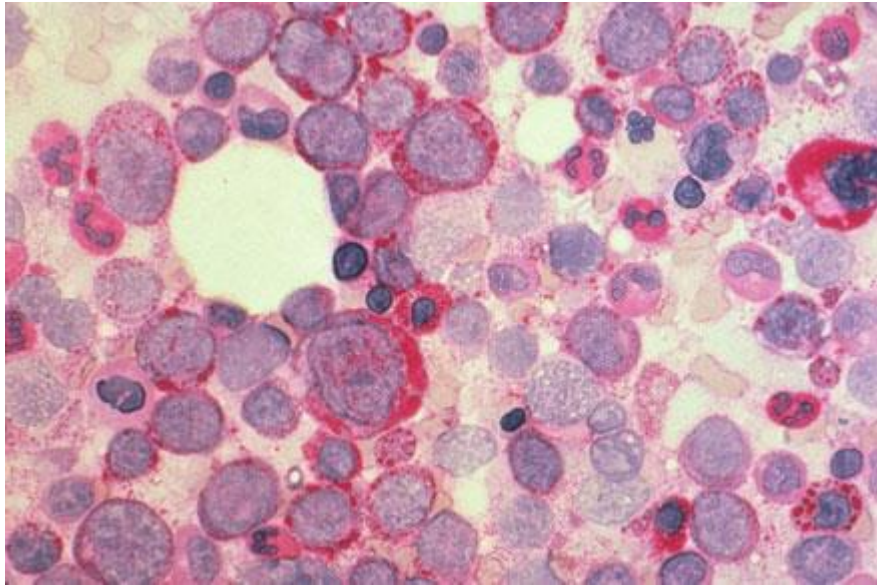
## *PAS - Periodic Acid - Schiff*

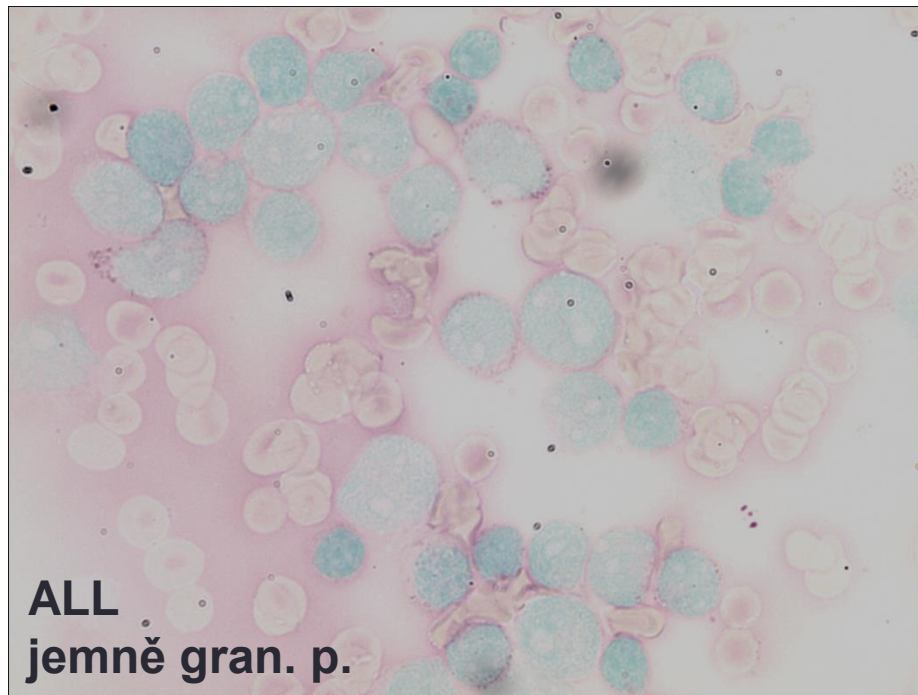
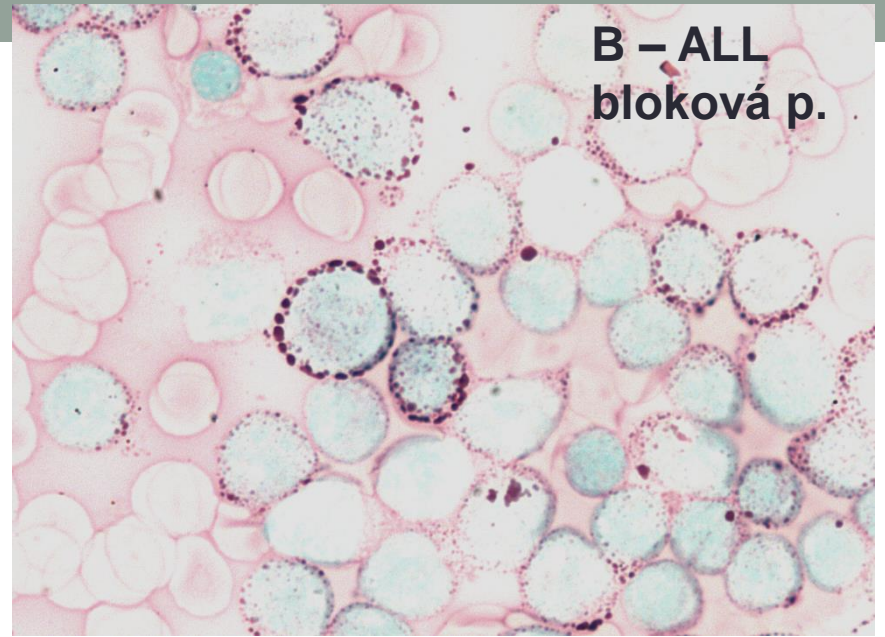
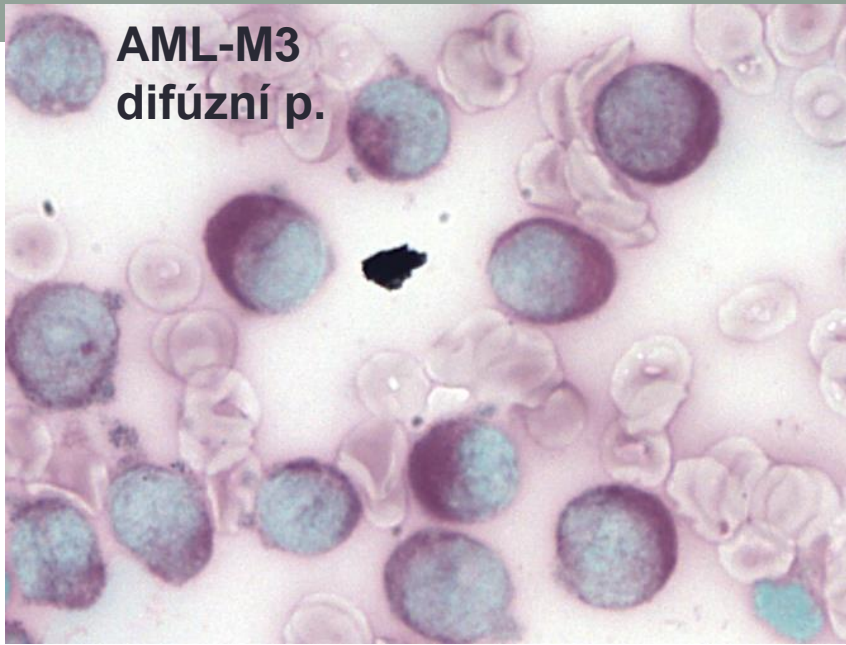
- Princip:  
Průkaz polysacharidů  
Kyselina jodistá rozkládá polysacharidy na dialdehydy, které dávají specifickou červenou barvu se Schiffovým leukoprusinem.
- Hodnocení:
  - procentuální hodnocení typu positivity
  - intenzita positivity se zvyšuje s vyzríváním buněk
  - hodnocení typu positivity
  - typy positivity:
    - myeloidní buňky:** difúzní zbarvení cytoplazmy
    - monocyty:** jemně granulární pozitivita
    - lymfocyty - fyziologické:** negativní nebo ojediněle výraznější granula
    - lymfocyty - CLL:** ve většině lymfocytů výrazná zrnitá pozitivita
    - blasty - ALL, nedif. leukémie:** hrubozrná pozitivita
    - NRBC - fyziologické:** negativní
    - NRBC - patologické:** hrubozrná – kapkovitá pozitivita
    - trombocyty a megakaryocyty:** výrazně pozitivní
- Klinický význam:  
leukémie, MDS, anémie





# Typy pozitivny PAS

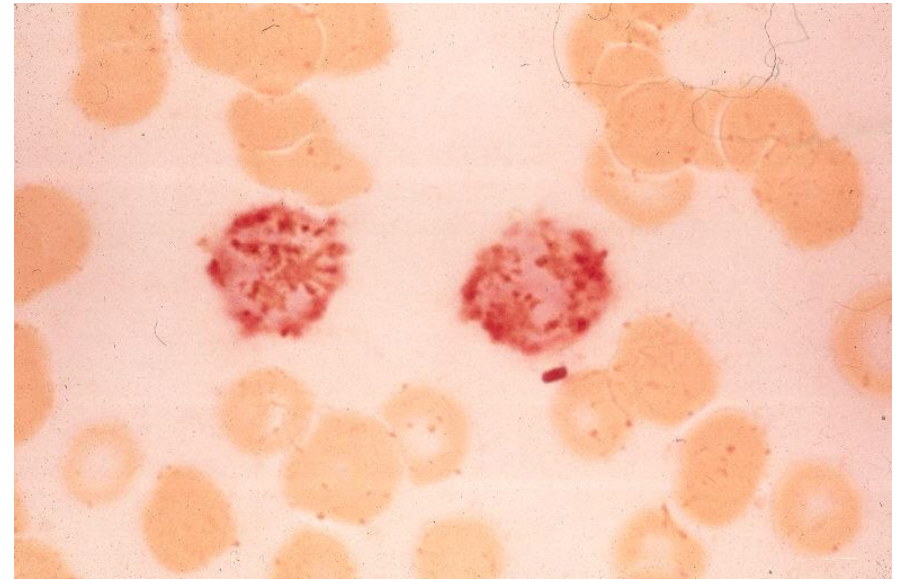
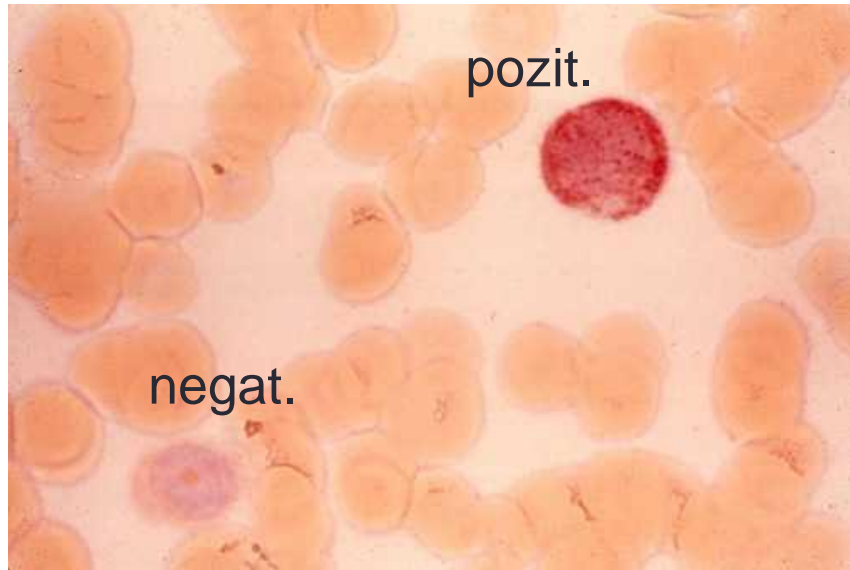
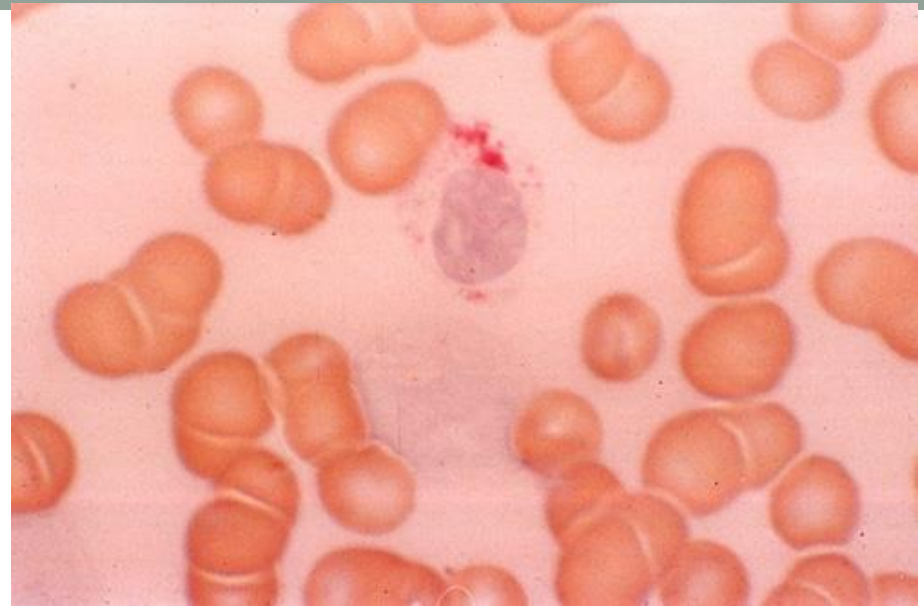
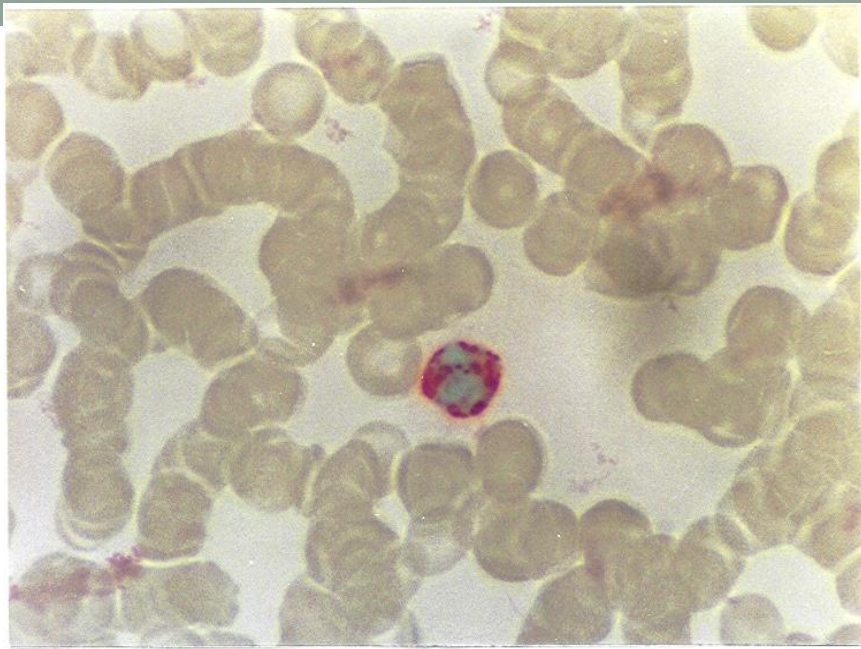


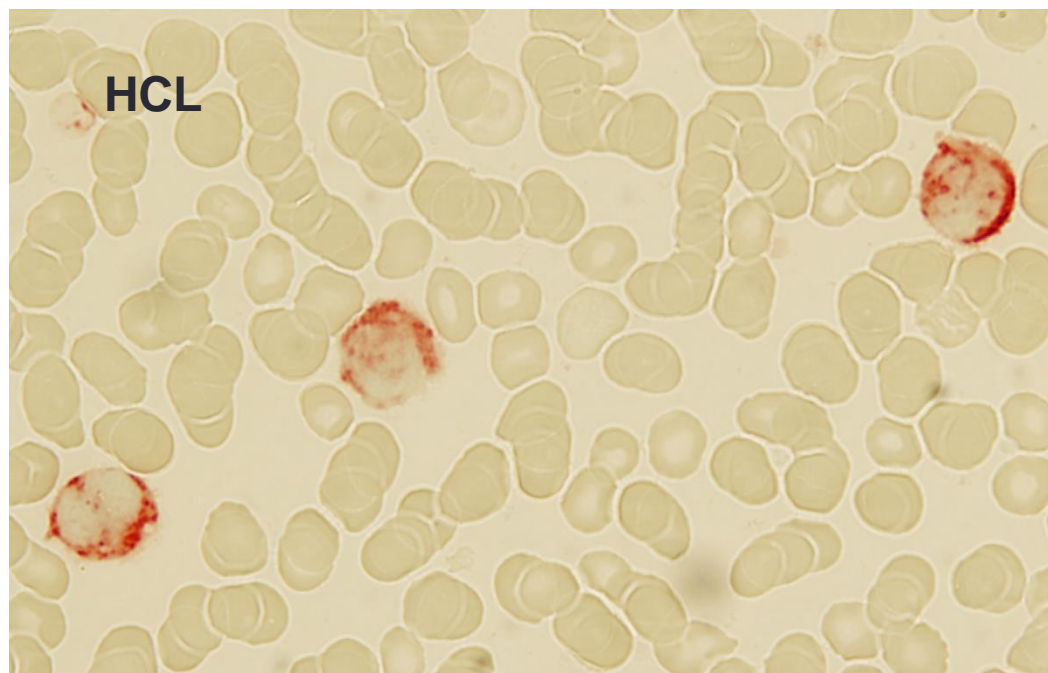
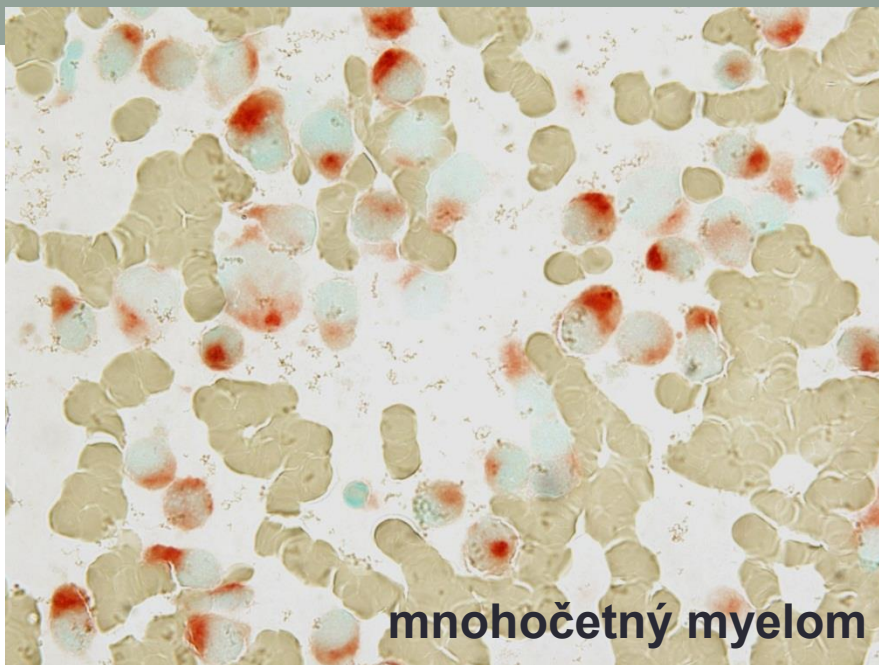


# Kyselá fosfatáza

- Princip:  
Fosfatáza reaguje se substrátem nebo je reakce blokována kyselinou vinnou. Reakce není blokována pro izoenzym 5. V místě aktivity enzymu vzniká v cytoplazmě obarvná sraženina.
- Hodnocení:
  - pozitivita je úměrná množství enzymu v cytoplazmě
  - fyziologická pozitivita:  
lymfocyty, plazmatické buňky  
granulocyty, monocyty, trombocyty
  - pozitivita po kyselině vinné (tartaric acid): pouze v lymfocytech s izoenzymem 5.
- Klinický význam:
  - některé T - ALL, CLL
  - pozitivita v lymfocytech po kyselině vinné pouze u klasické formy vlasaté leukémie (HCL)







# Poznámky

## Cytochemická vyšetření hodnotit v souvislosti s:

- ostatním cytochemickým vyšetřením
- morfologickým hodnocením a rozpočtem kostní dřěně
- stádiem vyzrávání buněk
- nutné barvení kontrolních nátěrů



# Cytochemické reakce

	MPOX	NE	NE+NaF	PAS
myeloid. b.	-/+++	-/+	-/+	-/+
monocyt. b.	-/+	+/>+++	-/+	-/+
erytrocyt. b.	-	-	-	-/+
lymfoc. b.	-	-/+	-/+	-/+
MGK b.	-	+	+	+