

Anémie

Bourková L., OKH FN Brno

Vyšetření retikulocytů

Barvení RNA v erythrocytech:

- mikroskopicky
 - supravitální barvení
- analyzátozem
 - analýza prošlého světla
 - analýza fluorescence

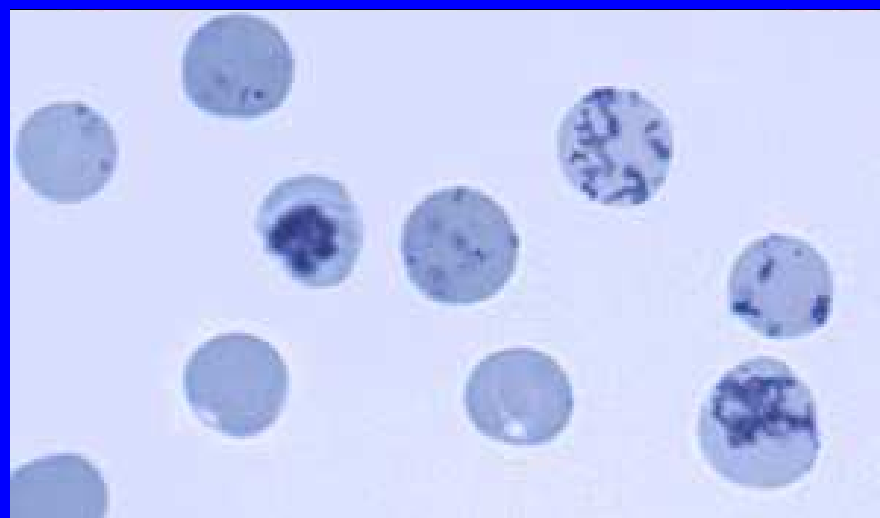
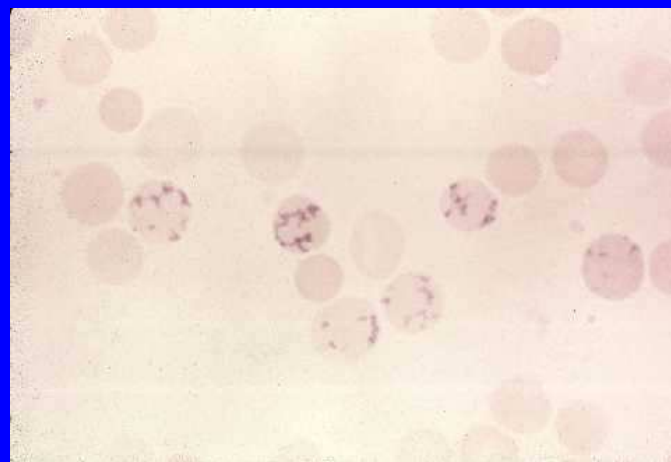
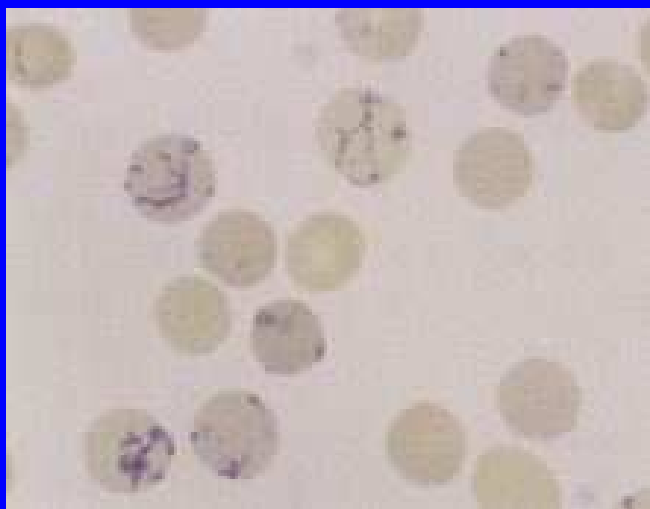
Mikroskopické vyšetření retikulocytů

- V retikulocytech se barví supravitálně (ještě v žijících buňkách) brillantcresylovou modří zbytky RNA.
- Pozitivita se hodnotí v 1000 erytrocytech
 - normální hodnoty: 0,5 – 2,5 %

Vyšetření retikulocytů na analyzátoru

- analýza prošlého světla
měření RNA v retikulocytech obarvených brilliantcresilovou modří
- fluorescenční analýza
měření RNA v retikulocytech obarvených fluorescenčními barvami
- *Normální hodnoty:*
0,5 – 2,5 %
25 – 75 x 10⁹/L

Retikulocyty



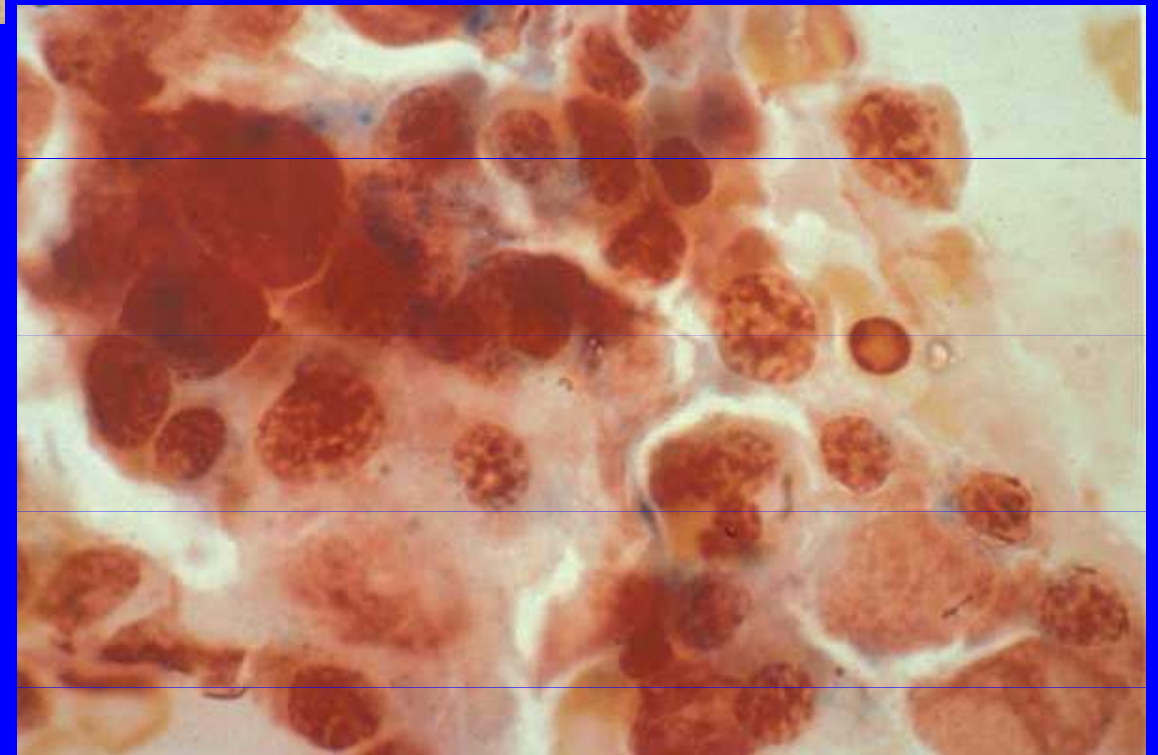
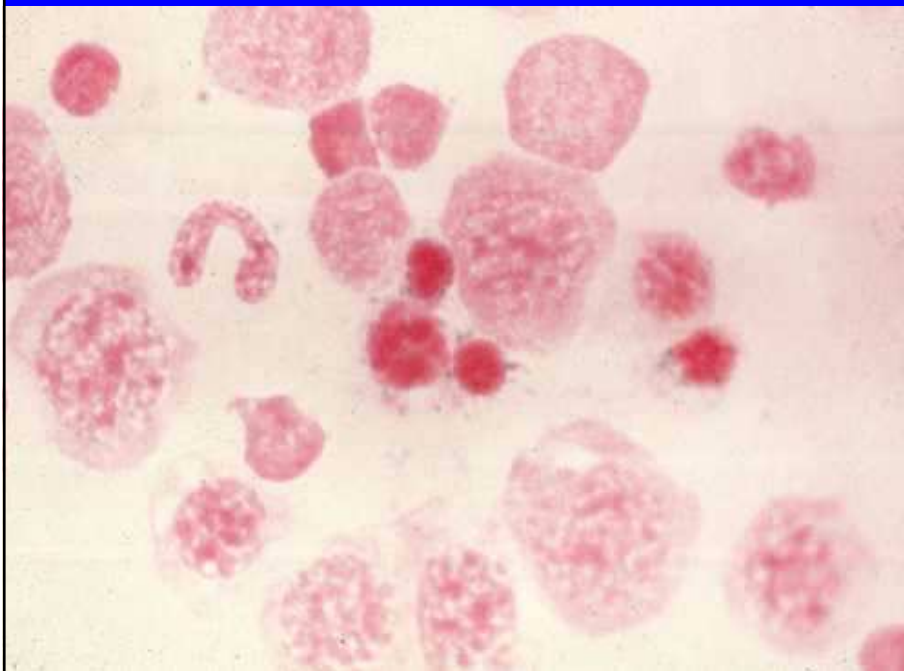
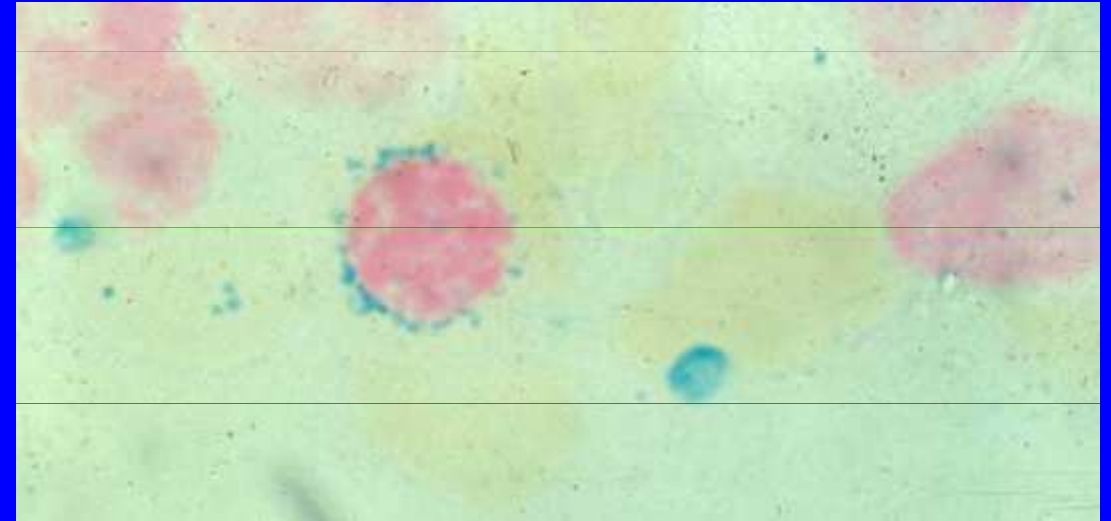
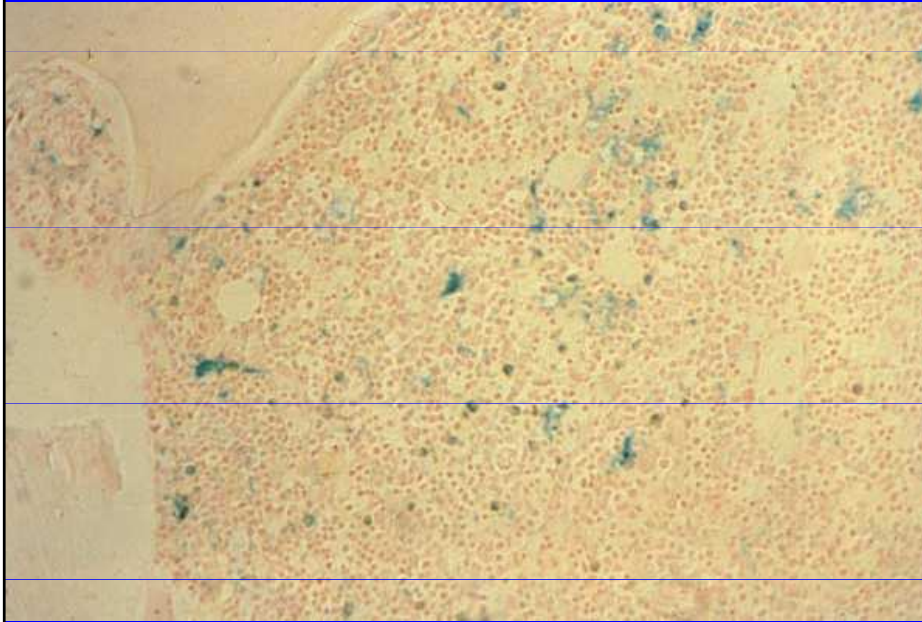
Cytochemické vyšetření zásobního Fe - I

- Provádí se v KD. Zásobní Fe^{3+} je využíváno pro tvorbu hemoglobinu. Je-li tvorba hemoglobinu narušena, zůstává zásobní železo v RBC nebo NRBC ve větších granulích nebo v jejich větším počtu.
- Princip:
komplexem ferrokyanidu draselného a kyseliny chlorovodíkové se barví zásobní nehemové Fe^{3+} , intra- nebo extracelulárně za vzniku Berlínské modři

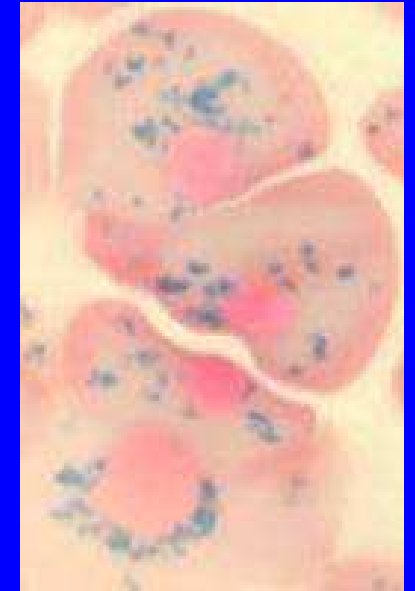
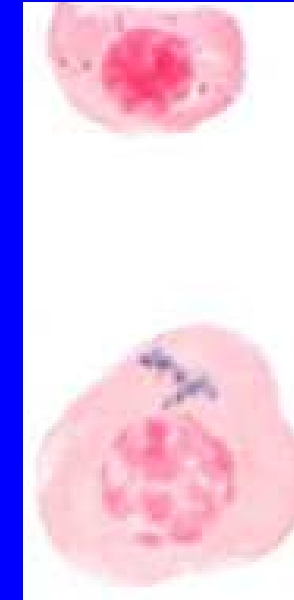
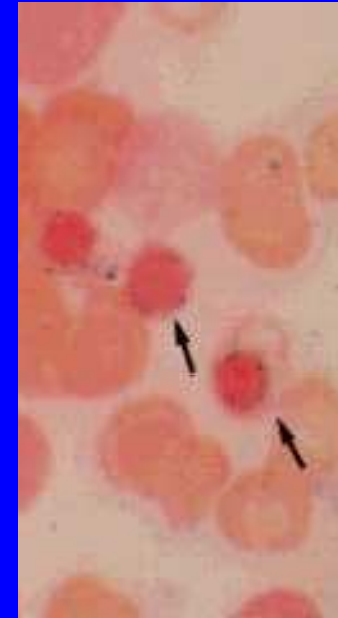
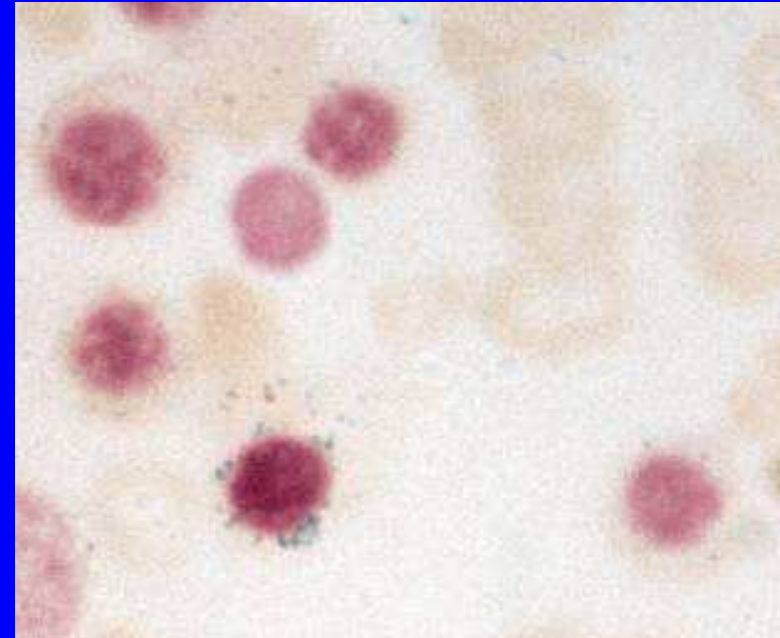
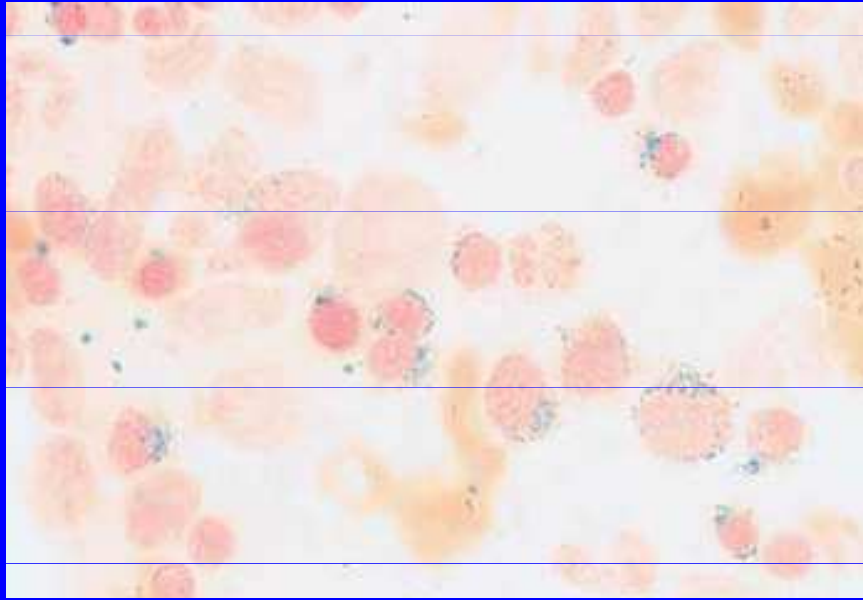
Cytochemické vyšetření zásobního Fe - II

- Hodnocení:
zelenomodrá granula v erythrocytech (siderocyty),
v NRBC (sideroblasty), v makrofázích
(siderofágy), zrnka v NRBC okolo $\frac{2}{3}$ jádra
(prstenčité sideroblasty)
 - normální hodnoty: 20 – 40 % pozitivních NRBC
- Klinický význam:
 - sideroblastická anemie - zásobní Fe zvýšené,
RAS s prstenčitými sideroblasty >15%
 - sideropenická anemie - Fe snižené nebo
nepřítomné
 - MDS, leukémií, HA, magalobl. anémie,
alkoholismu, po splenektomii, po transfúzích -
Fe zvýšené

Barvení Fe³⁺



Barvení Fe³⁺



Porucha syntézy hemu

Sideropenická anémie

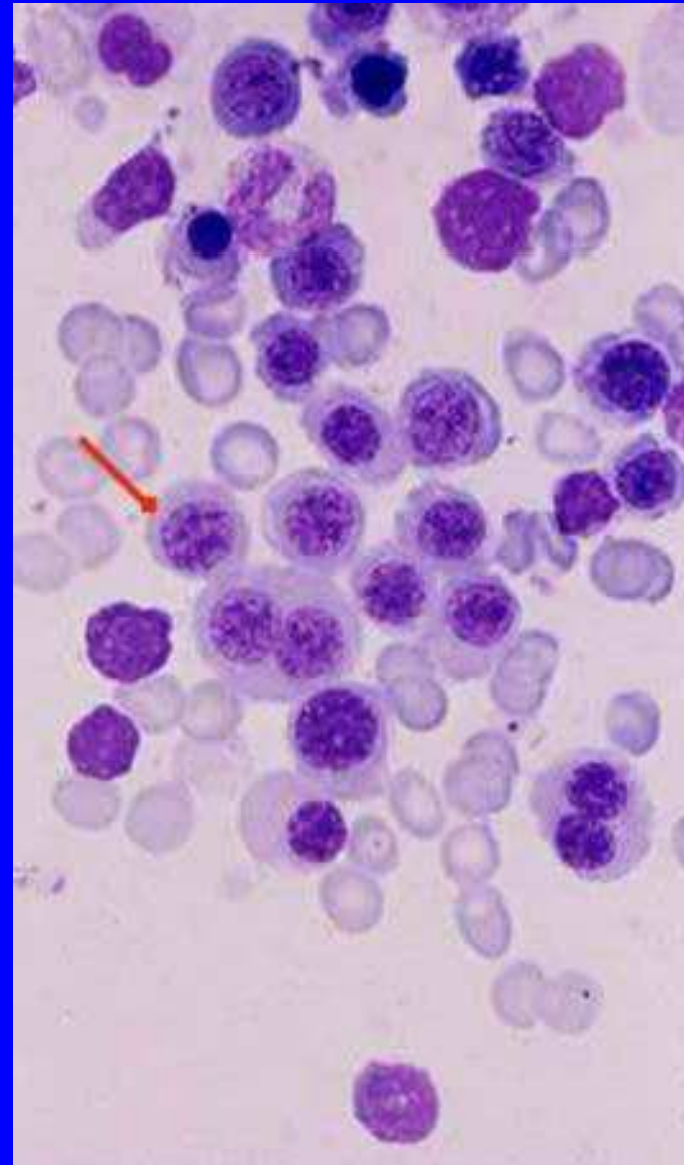
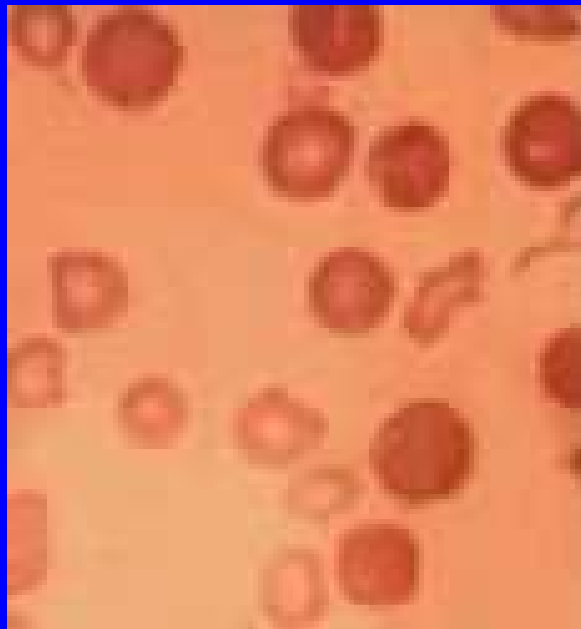
- KO: pokles HGB, MCV, vyšší RDW
- nátěr PK: hypochromní mikrocyty, anulocyty, poikilocyty, bazofilní tečkování
- nátěr KD: lehčí reaktivní změny, vyšší erythropoéza, NRBC - opožděné vyžívání cytoplazmy, vyšetřování zásobního Fe (hodnoty snížené nebo nulové)

Porucha syntézy globinu

Thalasemie

- KO: nižší nebo normál. RBC, nižší nebo normál. HGB, výrazně snížené MCV, vyšší RDW, lehce vyšší WBC, lehce vyšší PLT
- nátěr PK: mikrocytóza, hypochromie, terčovitá ery, polychromázie, bazofilní tečkování, H.J.tělíska, bazofilní tečkování, NRBC, mladší formy WBC
- nátěr KD: hyperplazie erytropoézy, vyšetření zásobního Fe (hodnoty zvýšené)

Thalassémie

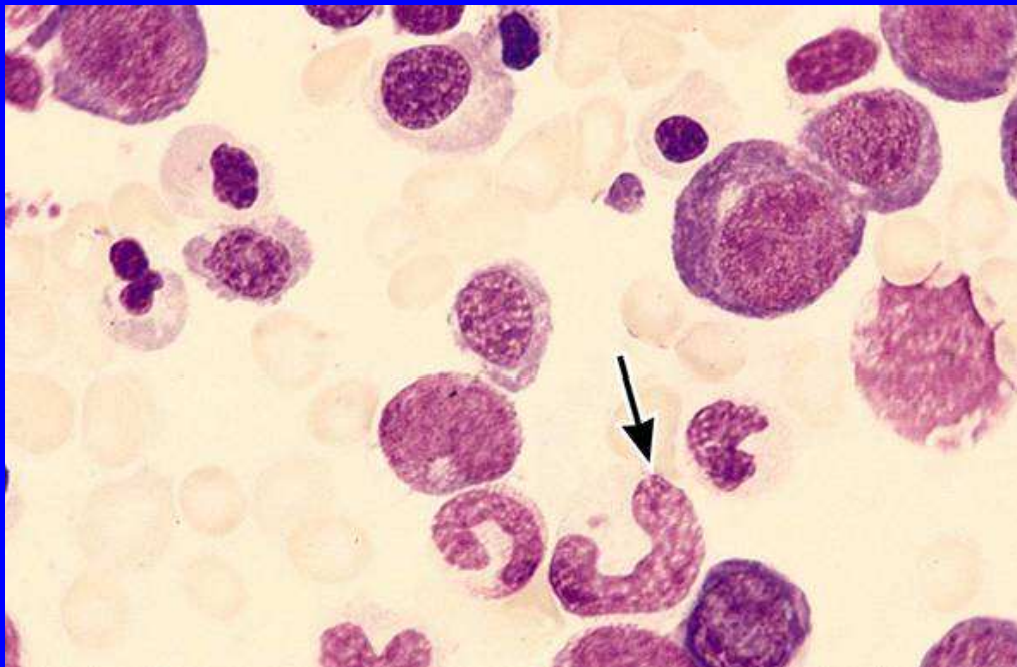
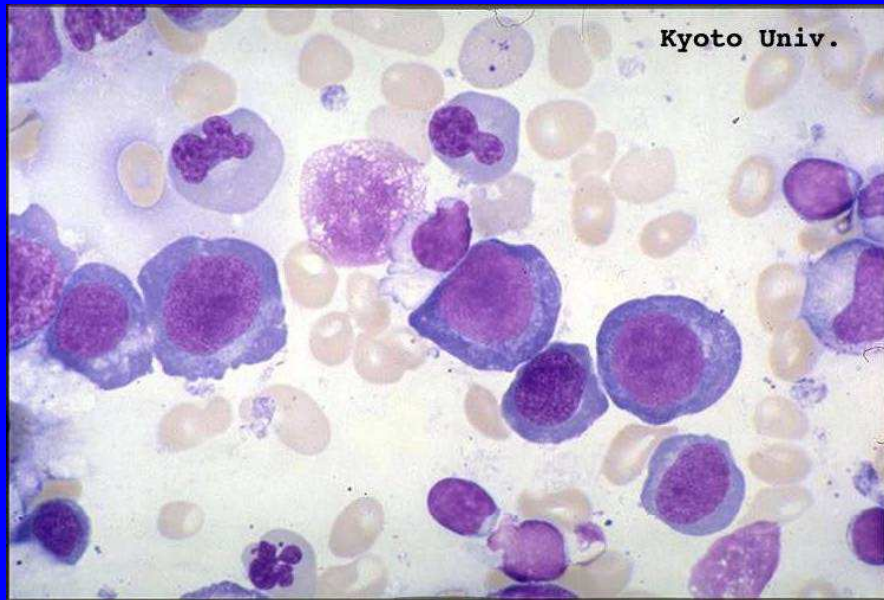


Porucha syntézy DNA

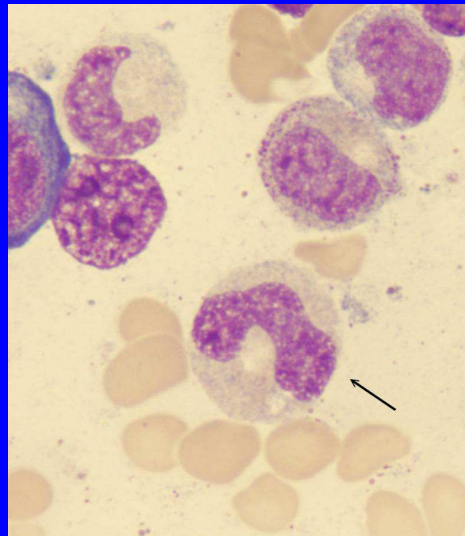
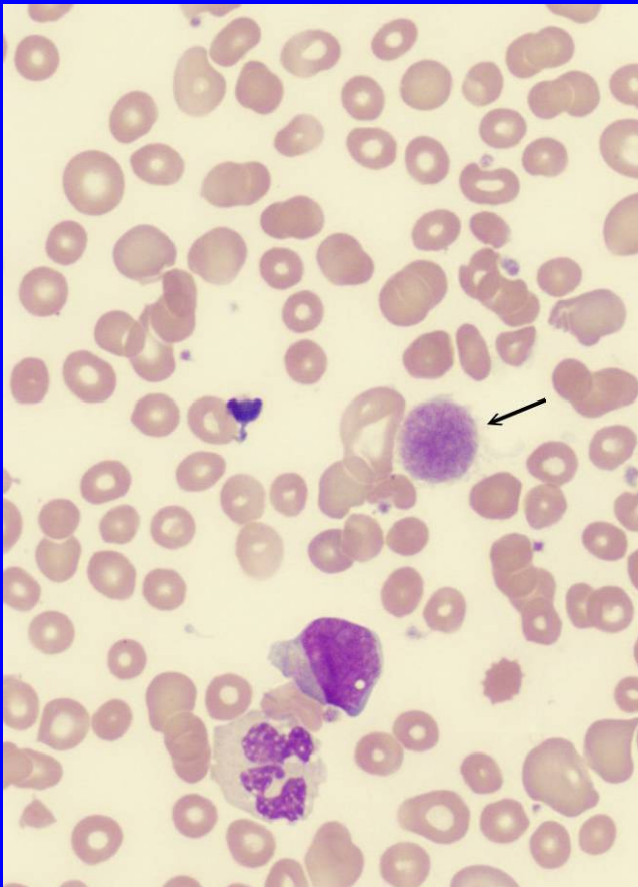
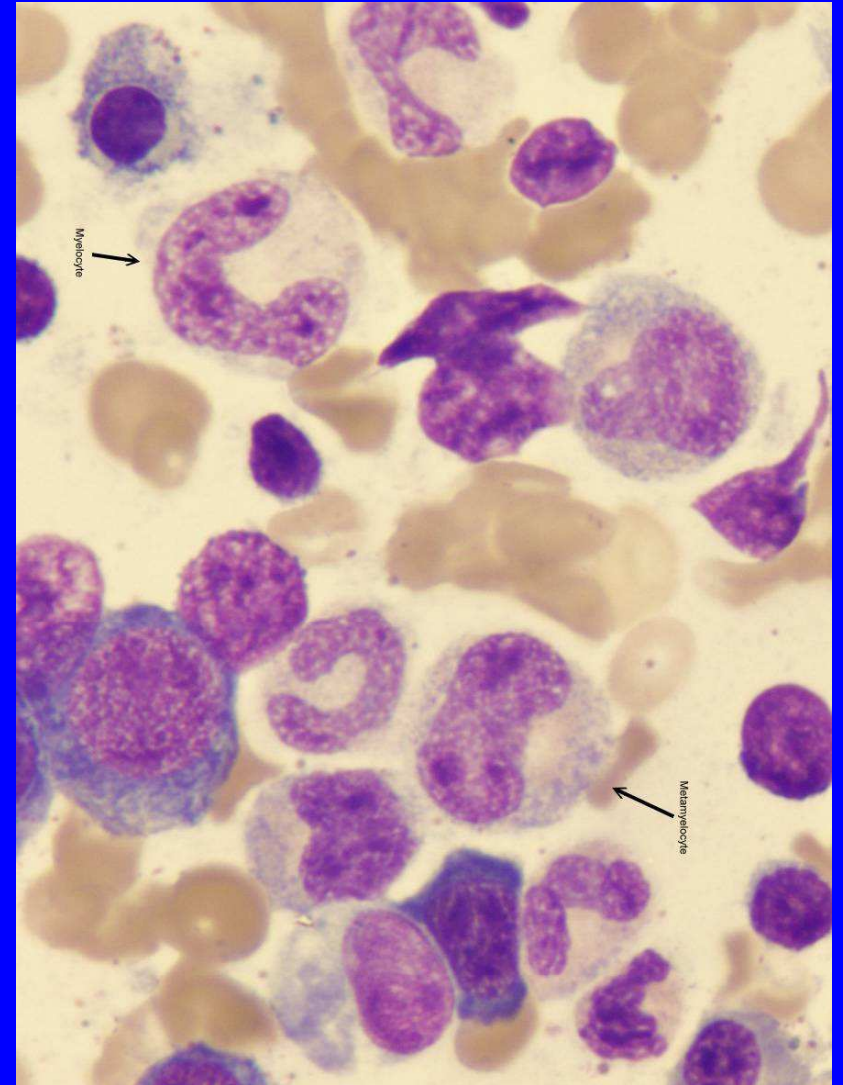
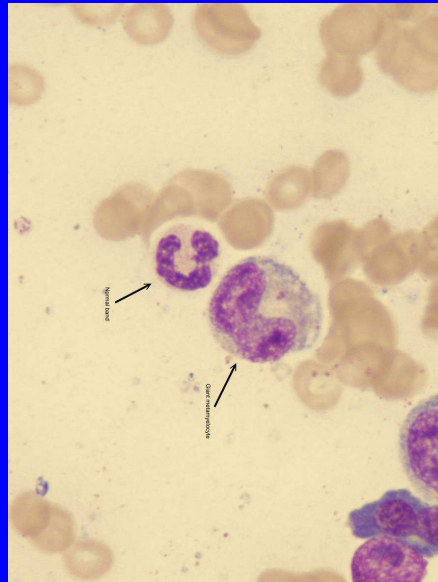
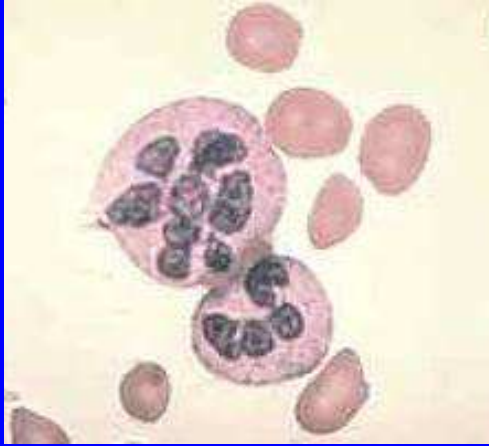
Megaloblastové anémie

- KO: MCV $>100\text{fl}$, HGB až pod 50g/L , vyšší RDW, snížení WBC, NE, PLT
- nátěr PK: makroovalocytóza, poikilocytóza, Cabotovy prstence, bazofilní tečkování, H.J. tělíška, NRBC, NE - hypersegmentace, větší buňky, větší laločnatost jader i u monocytů, velké až gigantické PLT
- nátěr KD: buněčně bohatá, erythropoéza zmnožená, posun k mladším formám, další dysplast. změny, karyorexe, atyp.mitózy, opožděné vyžívání jádra v ery. i granulocyt. řadě (megaloblastová přestavba ve všech vývojových řadách), velké tyče, metamyelocyty, hypersegmentace MGK, vyšetření zásobního Fe (hodnoty zvýšené)

Megaloblastová anémie



Megaloblastová anémie



Aplastické anémie

- per.krev:
pancytopenie nebo alespoň anemie a trombocytopenie,
mírná makrocytóza a anizocytóza
- KD:
obvykle hypoplastická až aplastická, bývá zmnožení
plazm.b. a makrofágů, megaloidní rysy, snížené množství
magakaryocytů (MGK)

Dysplastické anémie

Dysplázie erytropoézy - porucha vyzrávání, morf. abnormality

- Vrozené (kongenitální dyserythropoetické anémie - KDA)
 - KDA I. typ: per.krev - makrocytóza, anizocytóza, poikilocytóza; KD - megal. rysy, vícejaderné NRBC, interpl.můstky, nejsou mitózy, vyšší zásoby Fe
 - KDA II. typ: per.krev - normocytóza, anizocytóza, poikilocytóza; KD - četné vícejaderné NRBC, karyorexe, přítomny mitózy, zásoby Fe nejsou zvýšeny
 - KDA III. typ: per.krev - mírná makrocytóza, anizocytóza, poikilocytóza; KD - gigantické mnohojaderné NRBC, karyorexe, mitózy, vyšší zásoby Fe
- Získané (řadí se mezi MDS)

Anemie ze zvýšené ztráty erytrocytů

Sledovat: vyšetření na HA, hloubku anémie v KO, změny ery (barevné, tvarové, inkluze), změny množství ery. populace v KD

Korpuskulární

- porucha membrány (*hereditární sférocytóza, eliptocytóza, stomatocytóza, akantocytóza*)
- porucha metabolismu
- hemoglobinopatie

Extrakorpuskulární

- imunitní
- neimunitní

Vyšetření na hemolytické anémie (HA)

např.:

- *volný hemoglobin v plazmě*
 - *základní metodika pro vyšetřování hemolýzy v plazmě*
- ✓ *haptoglobin*
- ✓ *feritin*
- ✓ *elektroforéza hemoglobinu*

Speciální vyšetření:

- *osmotická rezistence*
- *hemosiderin v moči*
- *hemoglobin F*
- *Heinzova tělíška*
- *autohemolýza*
- *pink test*

Princip základní metodiky

- *Volný hemoglobin v plazmě*
Volný hemoglobin Hb(Fe²⁺) v plazmě je stanoven fotometricky po jeho oxidaci roztokem, který obsahuje ferrikyanid draselný. Hemoglobin se oxiduje na hemiglobin (Fe³⁺) a ten se potom pomocí kyanidu (CN⁻) draselného přemění na barevný komplex hemiglobinkyanidu, stanovitelný fotometricky.

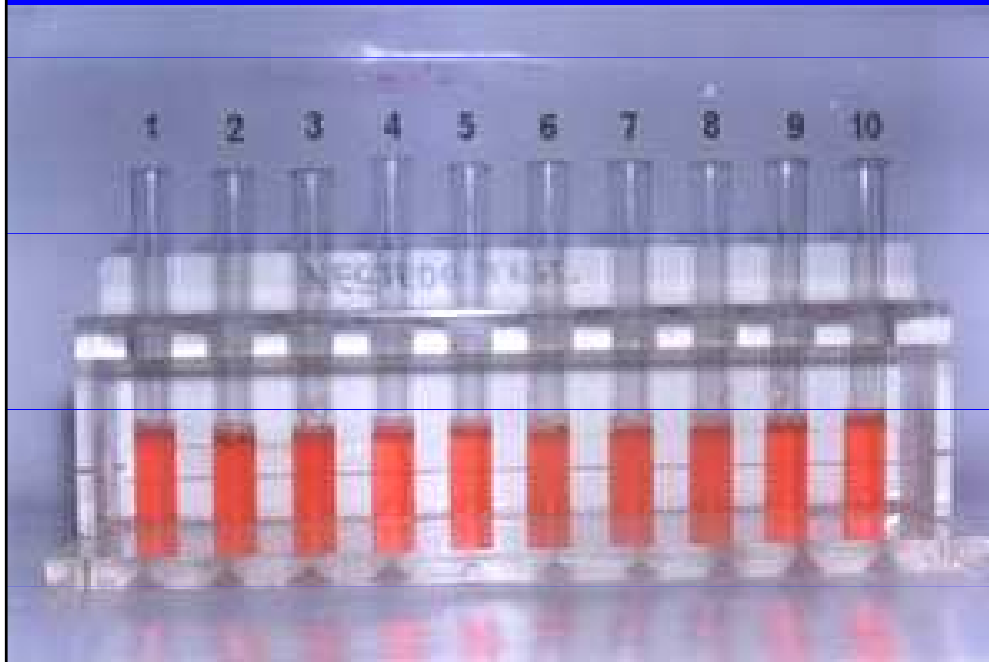
Osmotická rezistence

- Princip

Stanovení odolnosti erytrocytů vůči různě koncentrovaným hypotonickým roztokům NaCl v koncentracích od 0,70 % do 0,22 % (odstupňované po 0,02 %). Jestliže jsou erytrocyty v isotonickém roztoku 0,9% NaCl, dochází na membráně buňky k rovnovážnému stavu a kapalina se nedostává ani z buňky ani do buňky. Jestliže jsou erytrocyty umístěny v prostředí hypotonického roztoku (0,70 - 0,22 % NaCl) tak buďto prasknou a dojde k hemolýze nebo se vytvoří na membráně rovnováha.

Osmotická rezistence

příprava



normál



patologie

Hemosiderin v moči

- Princip

Fe³⁺ v hemosiderinu reaguje s kyselým roztokem ferrokyanidu draselného na ferrokyanid železitý, který vytváří krystalky berlínské modři.

- Hodnocení

přítomnost modrých krystalů v moči

- normální nálezn: negativní
- pozitivní nálezn: + až +++

Hemosiderin v moči



Hemoglobin F

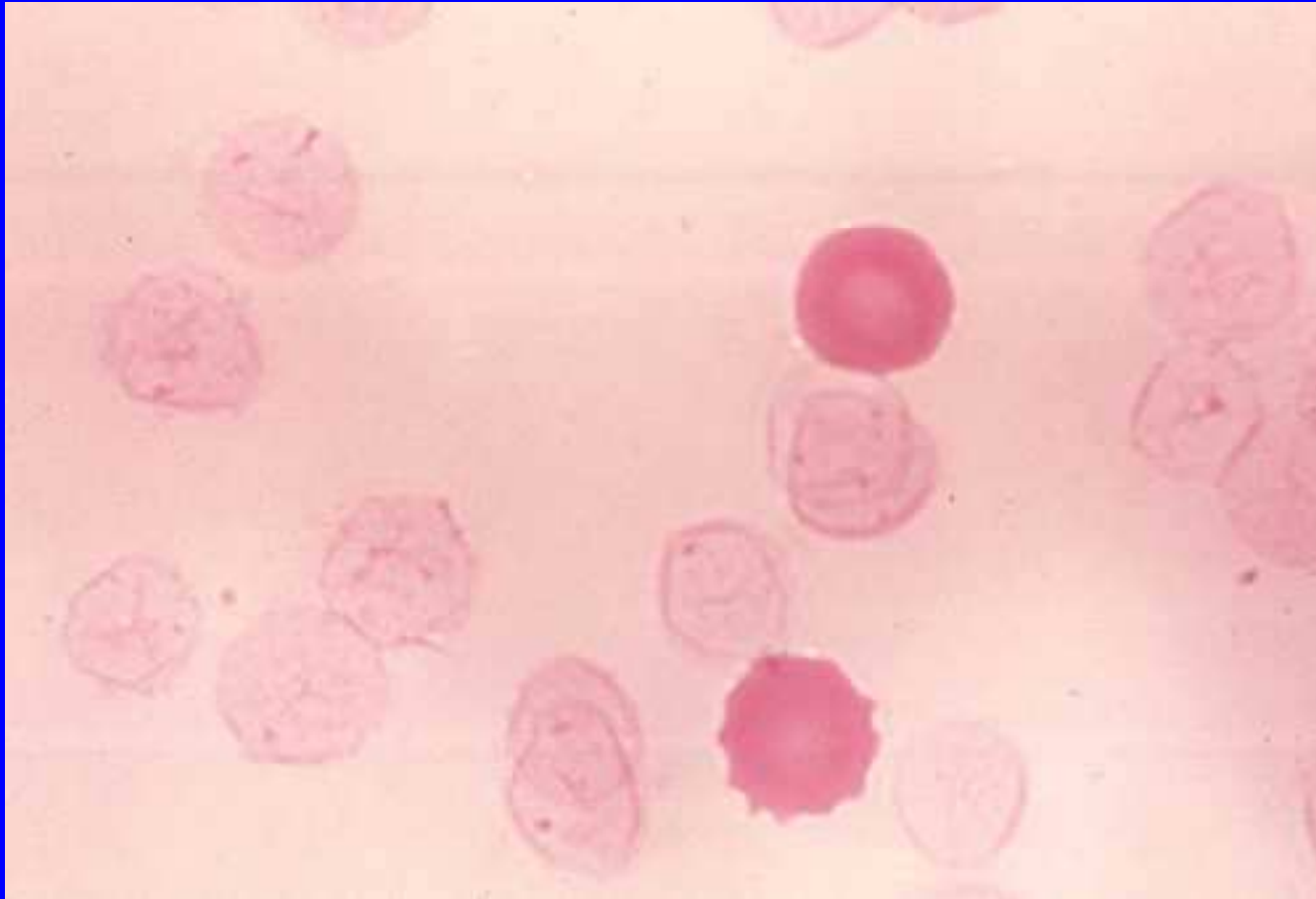
- Princip

Nafixované nátěry se ponoří do pufru pH 3.3. Hemoglobin A (adult hemoglobin) je v buňce rozpuštěn a vyplaven, hemoglobin F (fetální hemoglobin) je ke kyselému prostředí rezistentní a v erytrocytu zůstává. Zbylý hemoglobin F se potom barví a odečítá mikroskopicky.

- Hodnocení

- novorozenci: 50 - 90 % HbF
- věk < 2 roky: 0 - 4 % HbF
- věk > 2 roky: 0 - 2 % HbF

Hemoglobin F



Heinzova tělíška

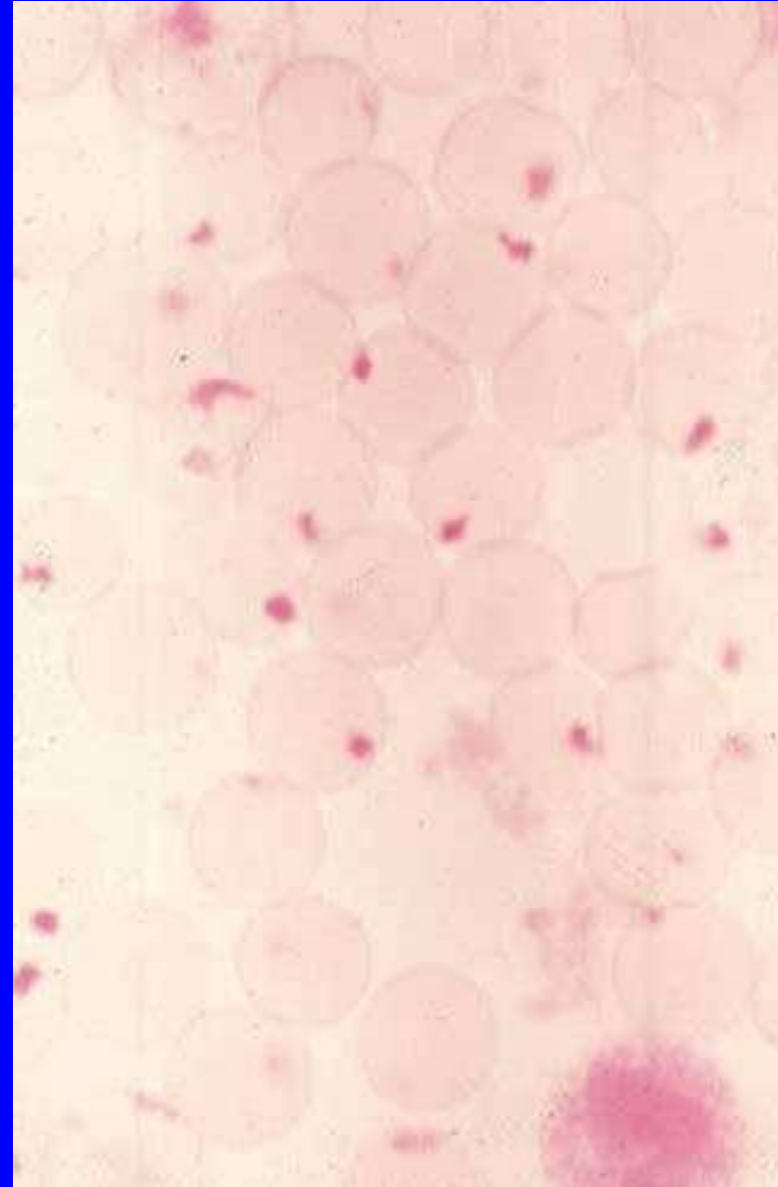
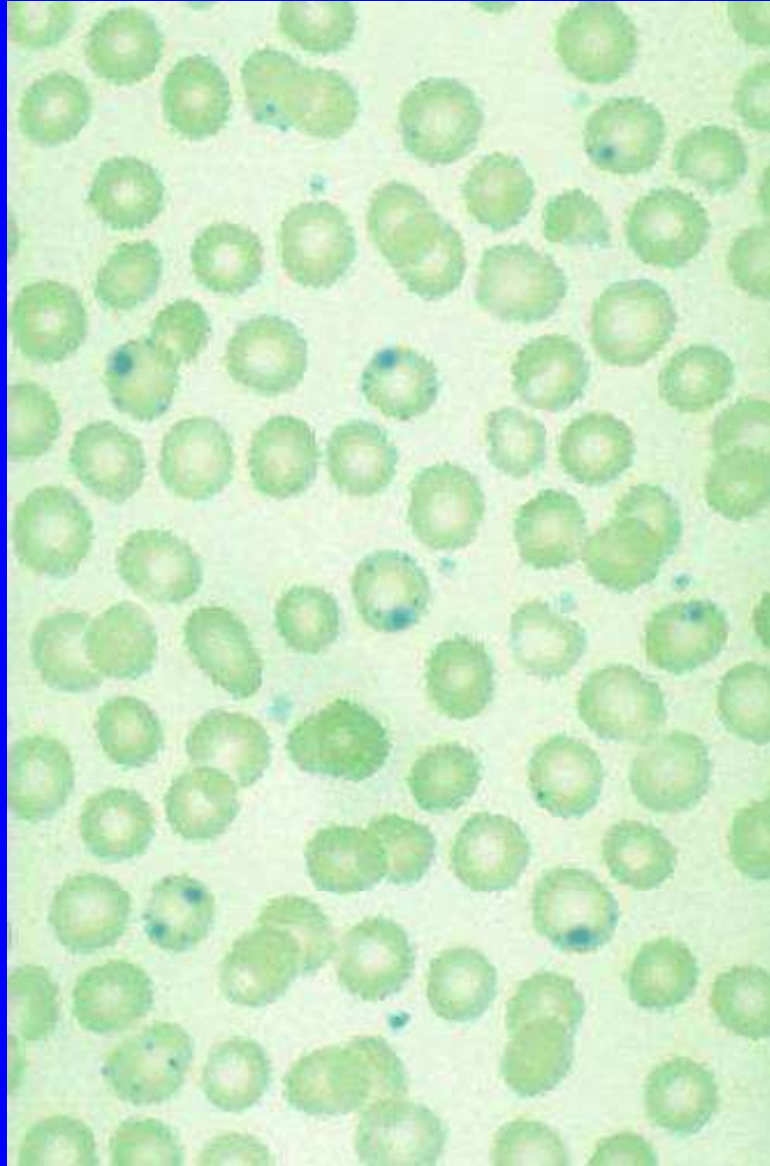
- Princip

Heinzova tělíška znázorňují vysrážený hemoglobin v případě, že glykolytické enzymy erytrocytů nejsou schopny zabránit oxidaci hemoglobinové molekuly. Precipitáty se jeví jako jedno nebo více oválnými tělísky v erytrocytech. Objevují se těsně u buněčné membrány, ke které přiléhají, barví se supravitálně brilliantcresylovou modří.

- Hodnocení

normální erytrocyty jsou negativní

Heinzova tělíska



Vyšetření HA

Fotometrická vyšetření na principu stanovení volného hemoglobinu v plazmě.

- Autohemolýza

Hodnocení spontánní hemolýzy v prostředí fyziologického roztoku, glukózy a ATP po dobu 48 hodin.

- Pink test

Hodnocení hemolýzy červených krvinek v kyselém prostředí glycerolu.