

Anémie

Bourková L., OKH FN Brno

Sledování vyšetření

Sledovat:

- hloubku anémie v KO
- morfologické změny erytrocytů v periferní krvi (barevné, tvarové, inkluze)
- morfologické a množstevní změny erytrocytární populace v KD

Vyšetření retikulocytů

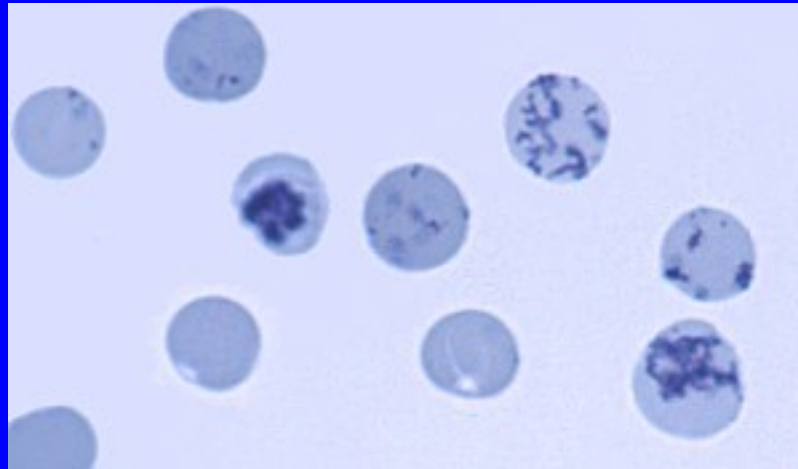
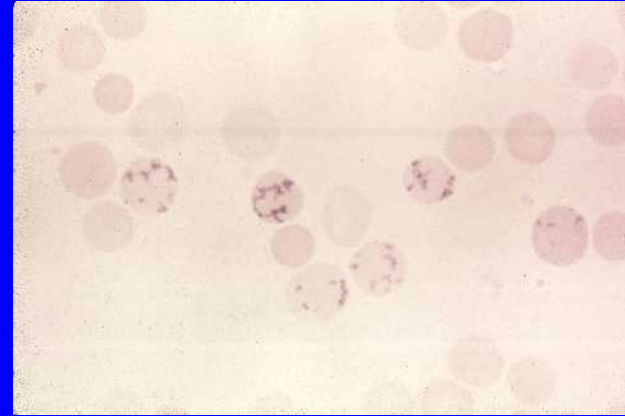
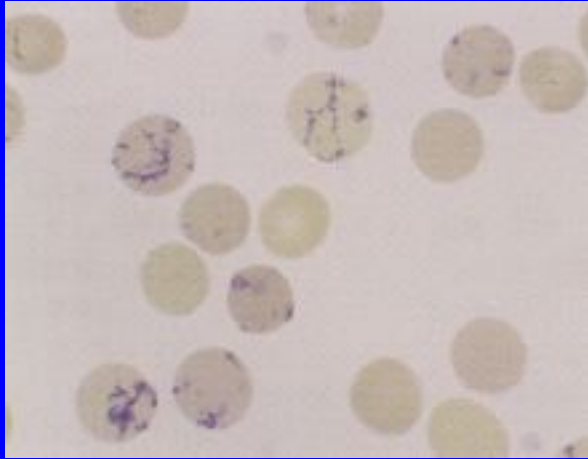
Barvení RNA v erythrocytech:

- mikroskopicky
 - supravitální barvení (*bez fixace preparátu*)
- analyzátozem
 - analýza prošlého a odraženého světla
 - analýza fluorescence

Mikroskopické vyšetření retikulocytů

- V retikulocytech se barví supravitálně brillantcresylovou modří zbytky RNA.
- Pozitivita se hodnotí v 1000 erythrocytech
 - normální hodnoty: 0,5 – 2,5 %

Retikulocyty



Vyšetření retikulocytů na analyzátoru

- analýza prošlého a odraženého světla
probíhá na precipitovaných síťových strukturách RNA v retikulocytech, precipitáty jsou obarveny methylenovou nebo brillantcresilovou modří
- fluorescenční analýza
vlákna RNA jsou obarvena fluorescenčními barvami, množství RNA je úměrné intenzitě fluorescence
- *Normální hodnoty:*
0,5 – 2,5 %
25 – 75 x 10⁹/L

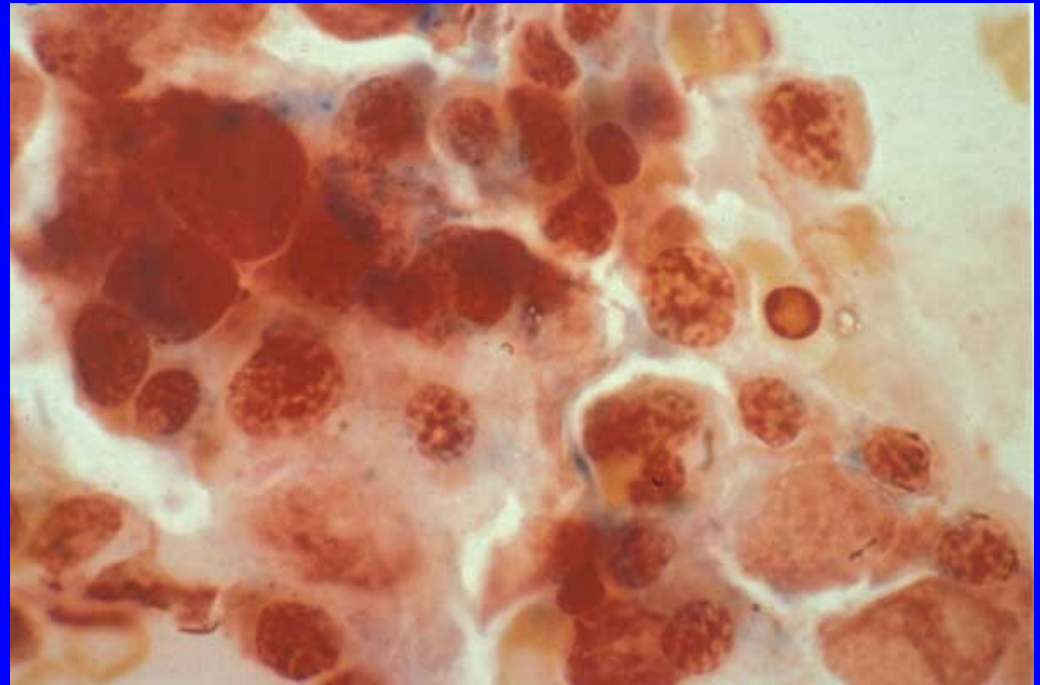
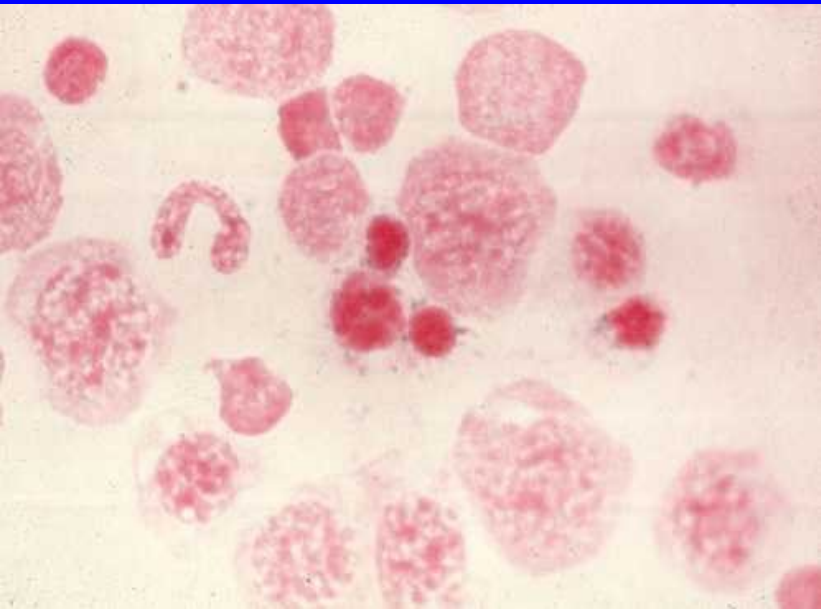
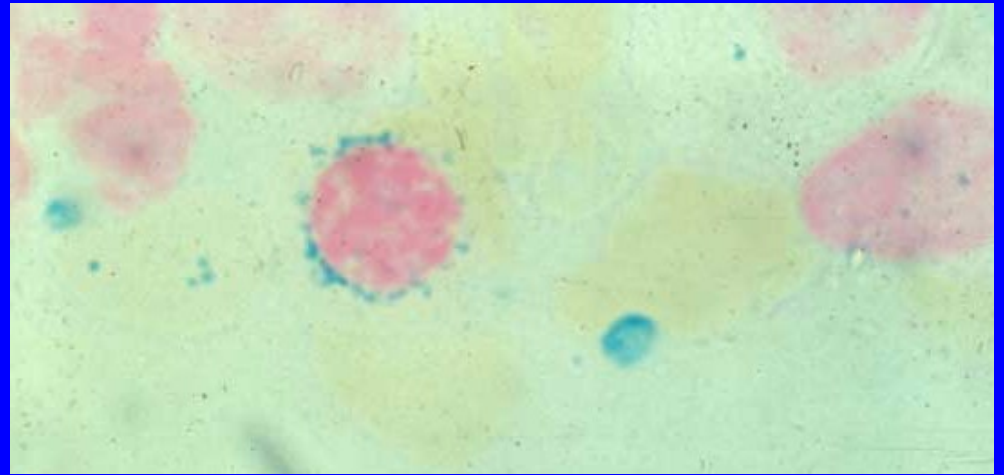
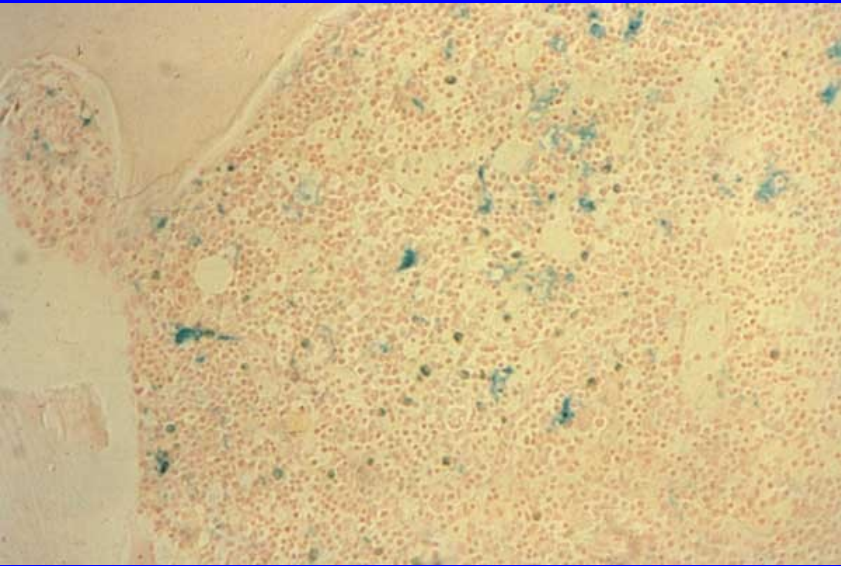
Cytochemické vyšetření zásobního Fe - I

- Zásobní (*nehemové*) železo ve formě Fe^{3+}
 - v erytrocytech
 - NRBC
 - makrofázích
- Princip:
 Fe^{3+} tvoří s ferrokyanidem draselným a kyselinou chlorovodíkovou barevný komplex – berlínskou modř.

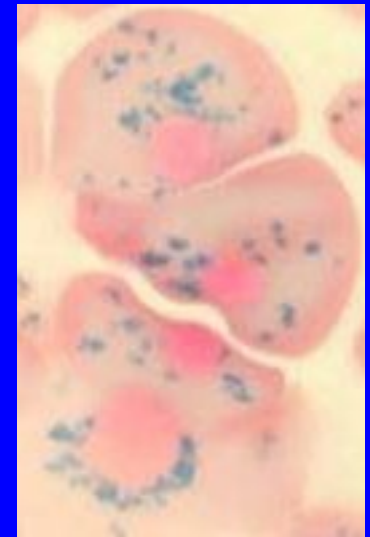
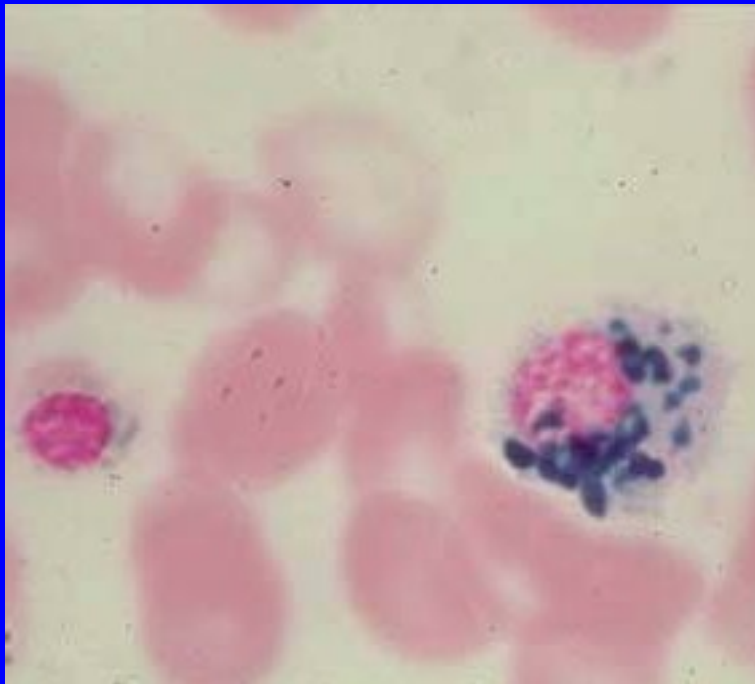
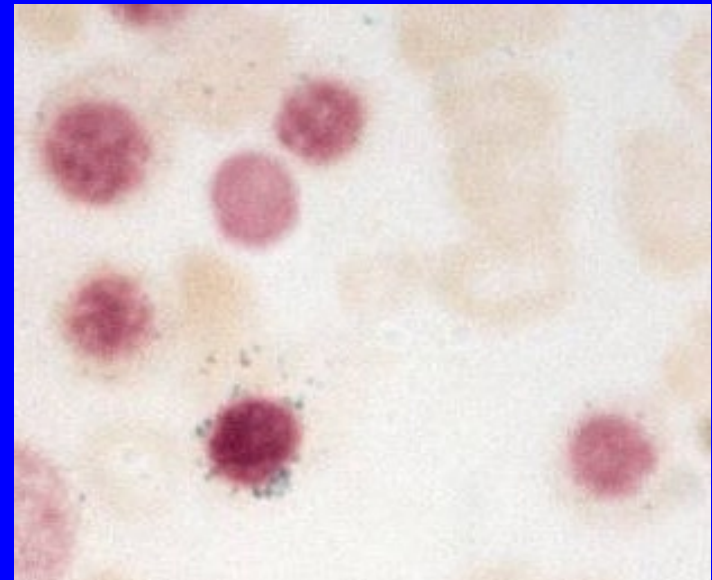
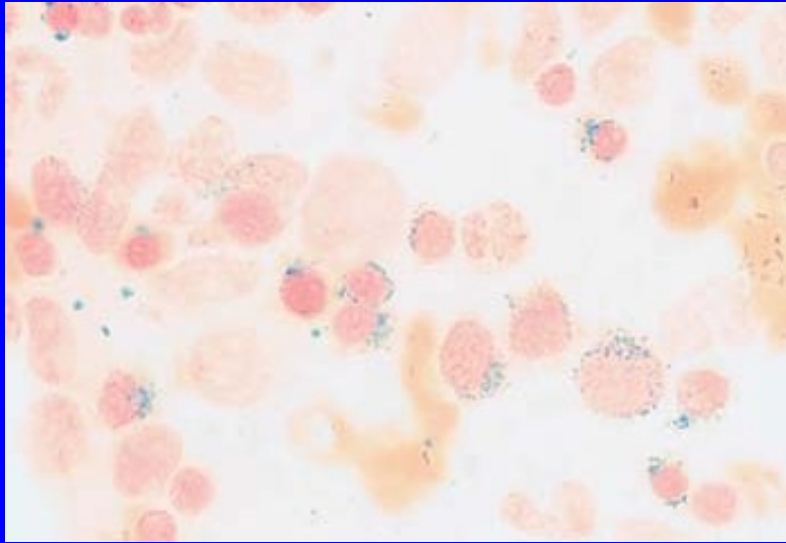
Cytochemické vyšetření zásobního Fe - II

- Hodnocení:
zelenomodrá granula
 - v erytrocytech (siderocyty)
 - v NRBC (sideroblasty)
 - zrnka v NRBC okolo $\frac{2}{3}$ jádra (prstenčité sideroblasty)
 - v makrofázích (siderofágy)
- Normální hodnoty:
20 – 60 % pozitivních NRBC
2 - 4 siderofágy
- Klinický význam:
anémie
 - *např.: sideropenické (nízké hodnoty)*
 - *sideroblastické (přítomné prstenčité sideroblasty, zvýšené zásobní Fe)*
 - *hemolytické anémie (vysoké hodnoty)*
 - *refrakterní anémie (vysoké hodnoty)*

Barvení Fe³⁺



Barvení Fe 3+



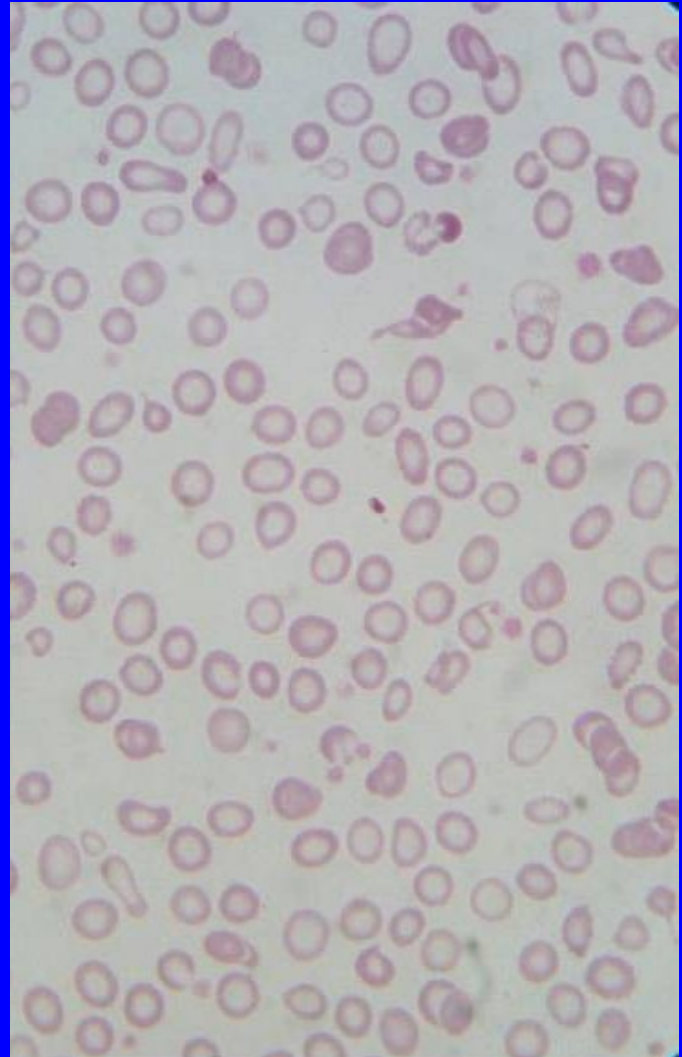
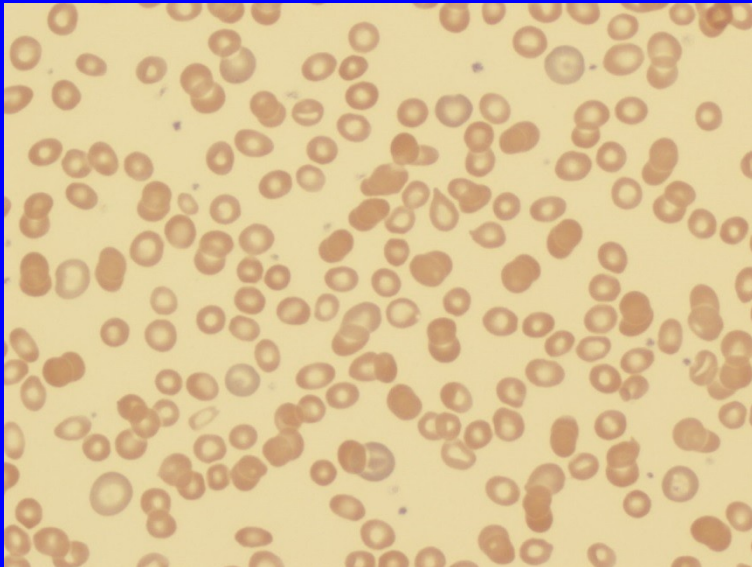
Porucha syntézy hemu

Sideropenická anémie

(nedostatek železa)

- KO: pokles HGB, MCV, vyšší RDW, vyšší PLT, lehce vyšší Retic
- nátěr PK: hypochromní mikrocyty, anulocyty, poikilocyty, bazofilní tečkování
- nátěr KD: vyšší erythropoéza, NRBC - opožděné vyzrávání cytoplazmy, vyšetřování zásobního Fe (hodnoty snížené nebo nulové)

Sideropenická anémie

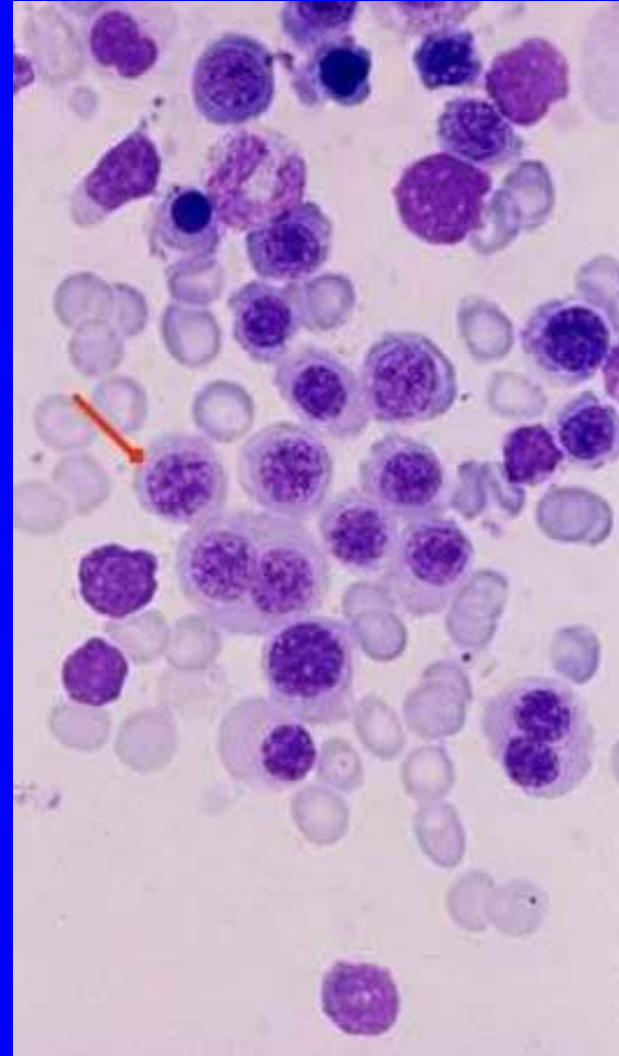
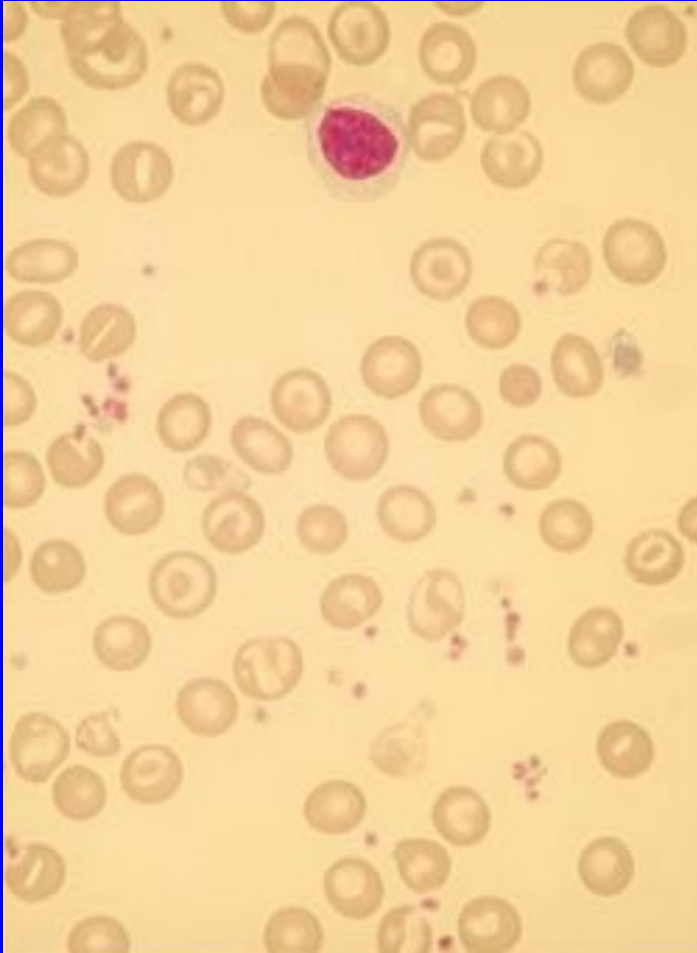


Porucha syntézy globinu

Thalasemie

- KO: nižší nebo normál. RBC, nižší nebo normál. HGB, výrazně snížené MCV, vyšší RDW, lehce vyšší WBC, lehce vyšší PLT, zvýšený Hgb F (až nad 30%)
- nátěr PK: mikrocytóza, hypochromie, terčovité ery, polychromázie, bazofilní tečkování, H.J.tělíska, bazofilní tečkování, NRBC, mladší formy WBC
- nátěr KD: hyperplazie erytropoézy, vyšetření zásobního Fe (hodnoty zvýšené)

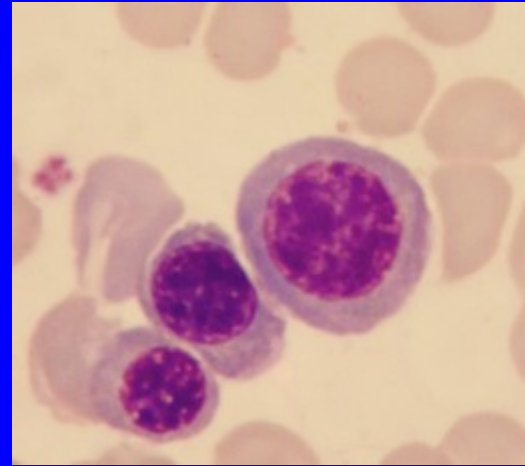
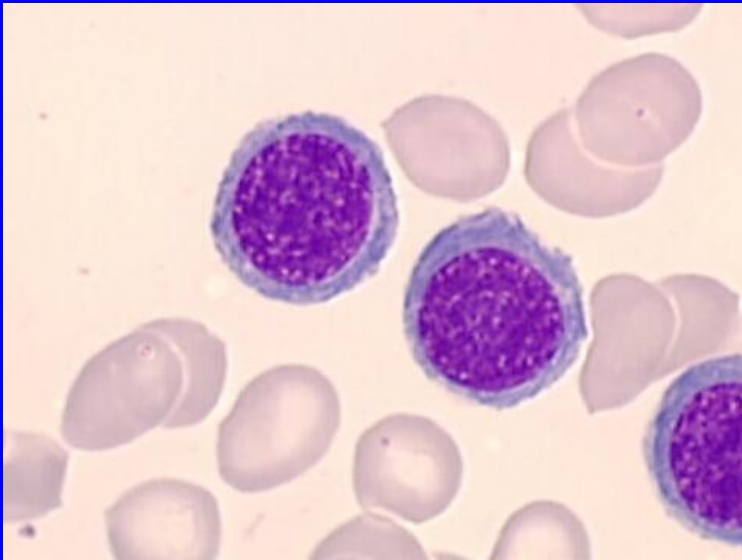
Thalassemie



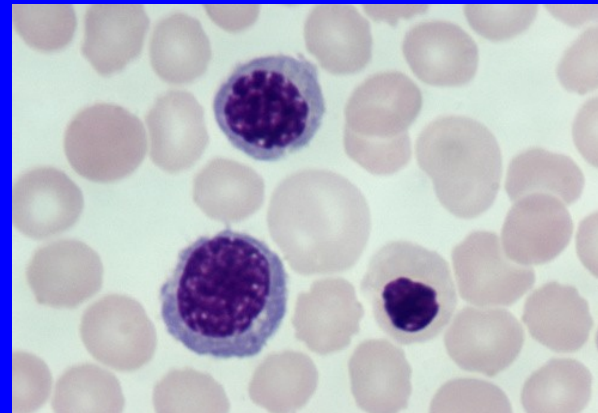
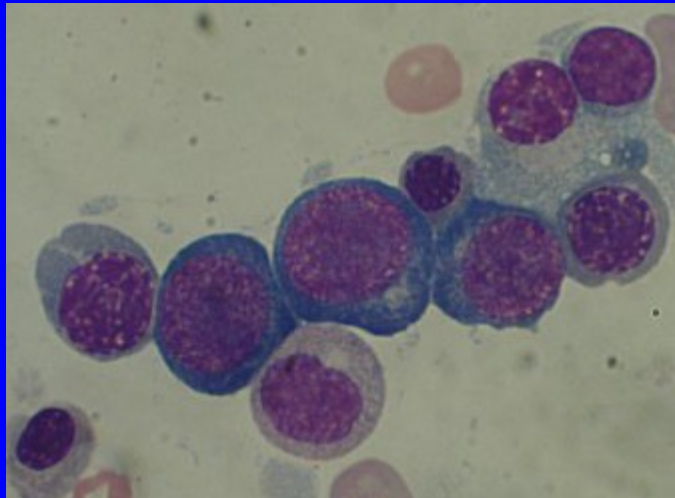
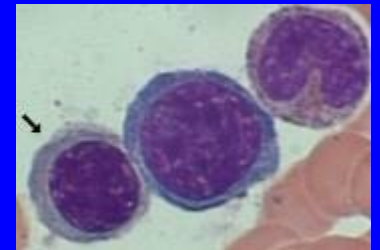
Porucha syntézy DNA

Megaloblastové anémie

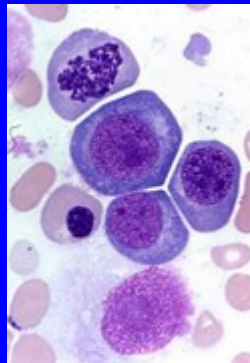
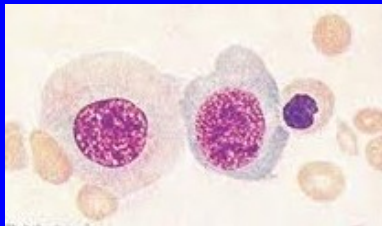
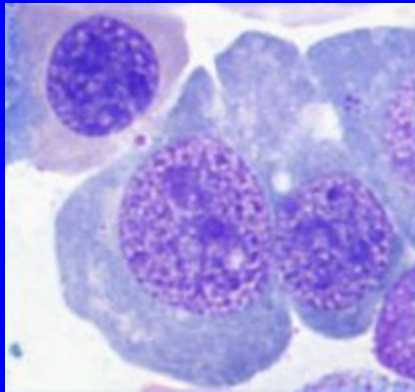
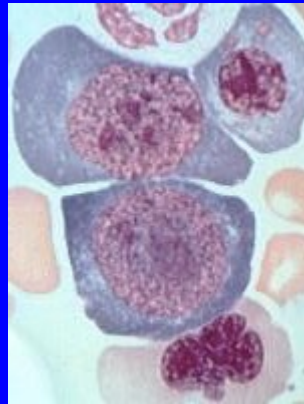
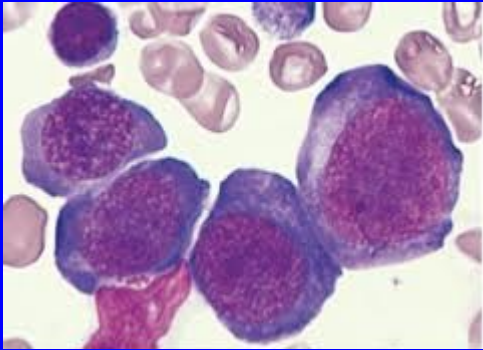
- KO: MCV $>100\text{fl}$, HGB až pod 50g/L , vyšší RDW, snížení WBC, NE, PLT
- nátěr PK: makroovalocytóza, poikilocytóza, Cabotovy prstence, bazofilní tečkování, H.J. tělíška, NRBC, NE - hypersegmentace, větší buňky, větší laločnatost jader i u monocytů, velké až gigantické PLT
- nátěr KD: buněčně bohatá,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



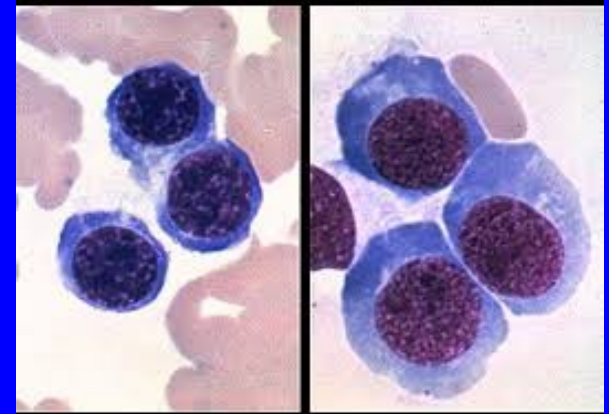
NRBC



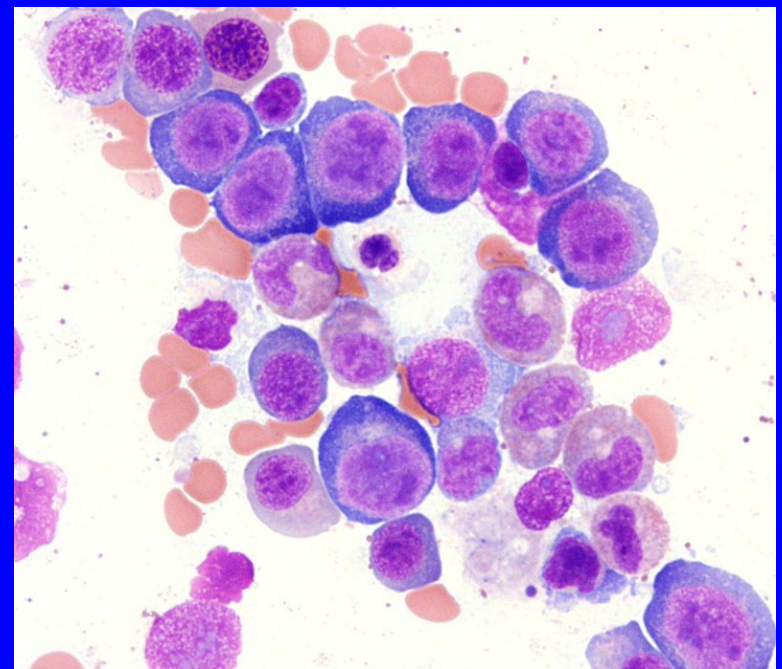
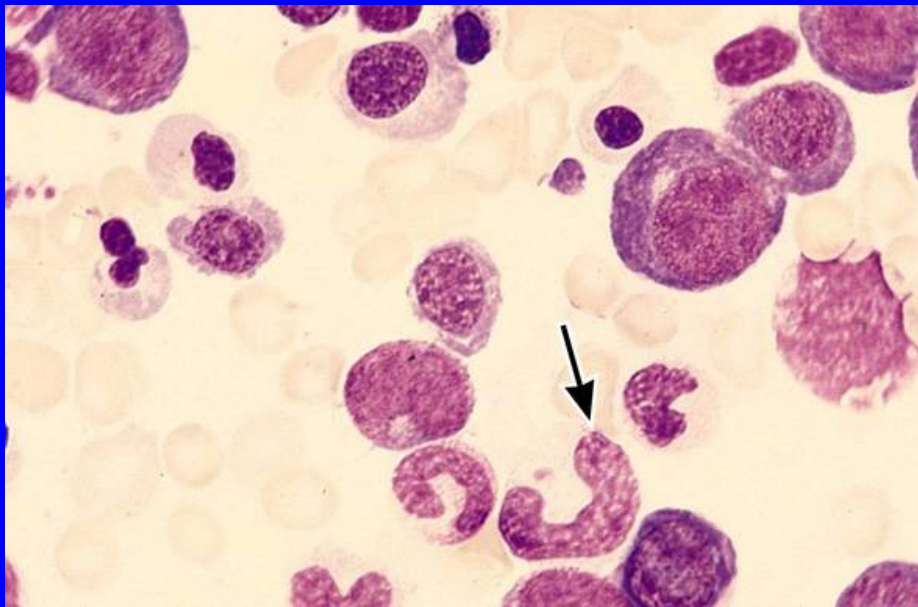
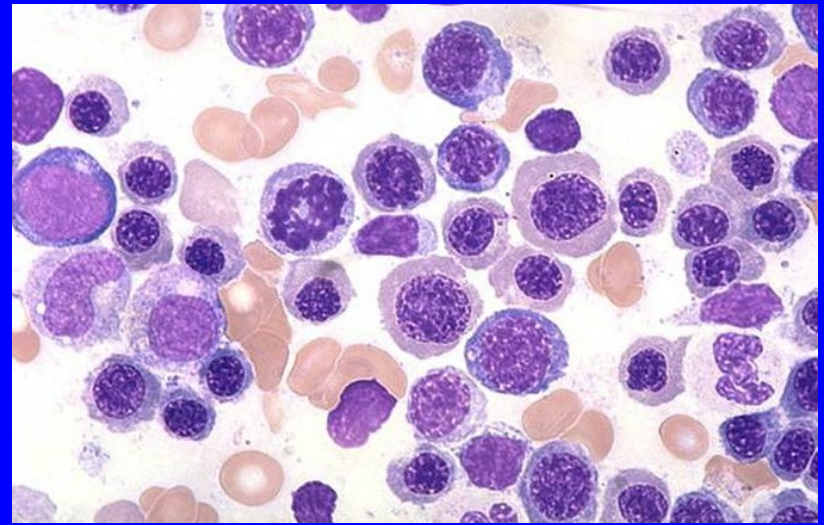
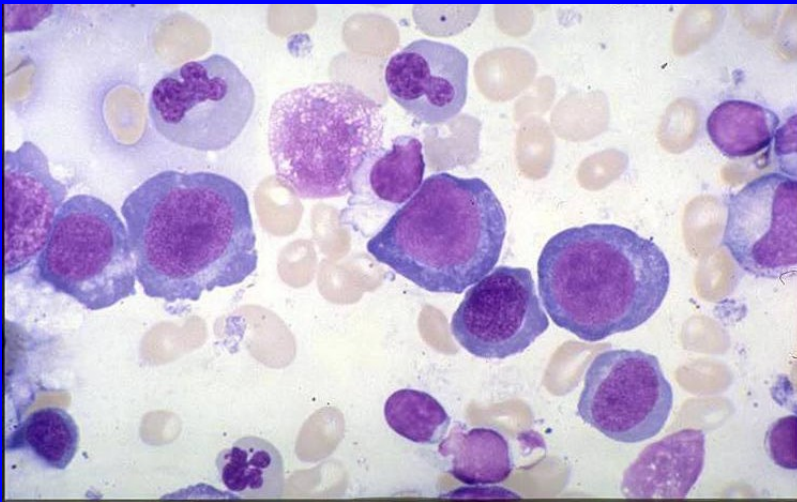
Megaloblasty



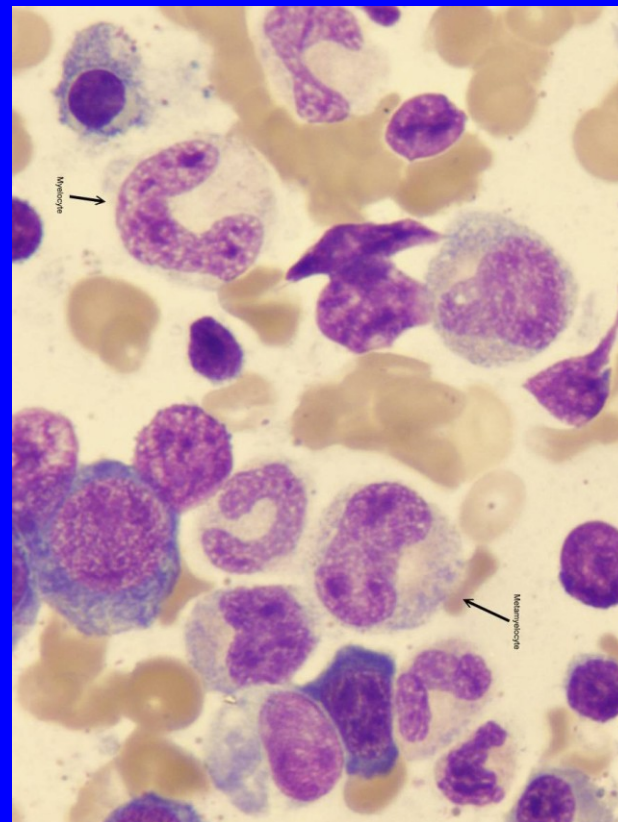
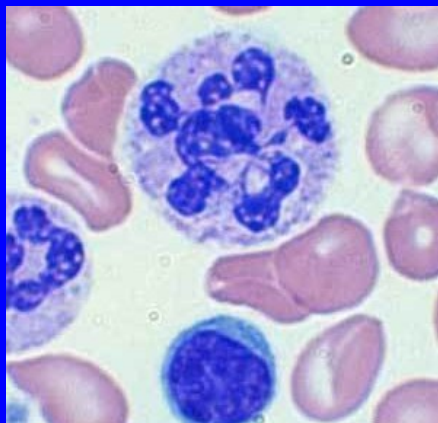
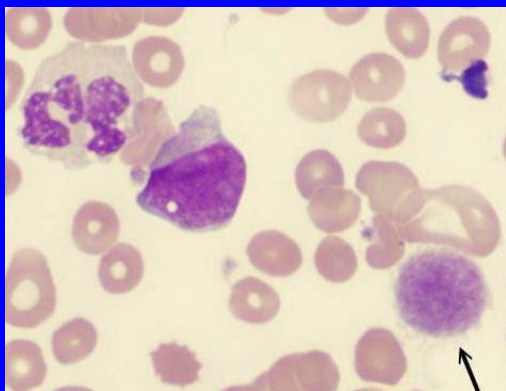
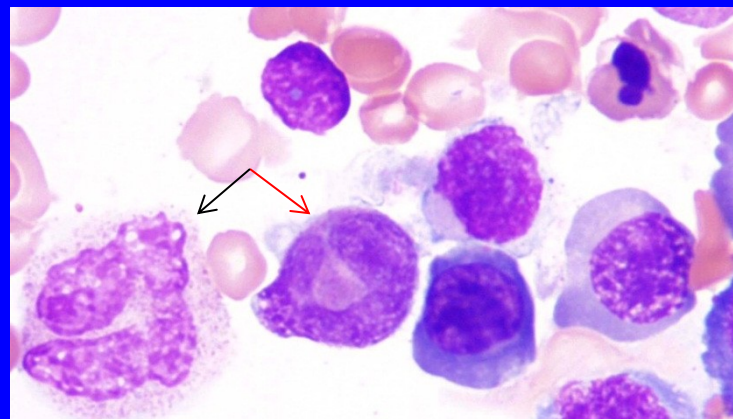
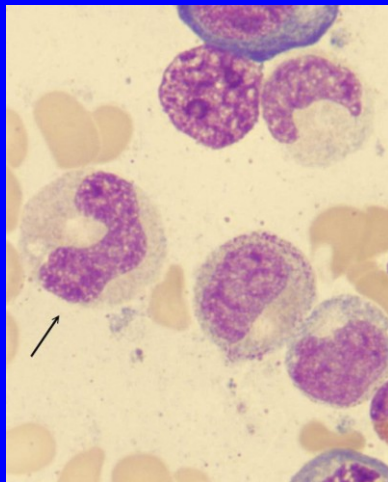
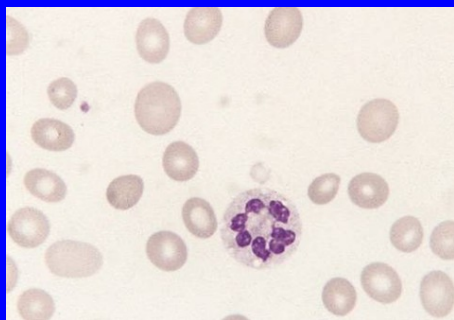
NRBC X Megaloblast



Megaloblastová anémie

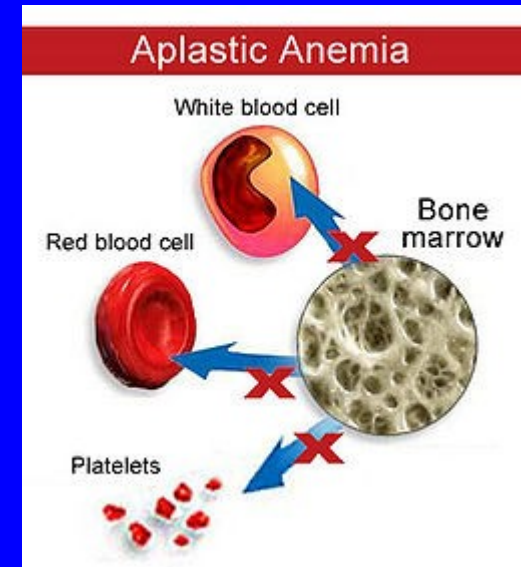


Megaloblastová anémie

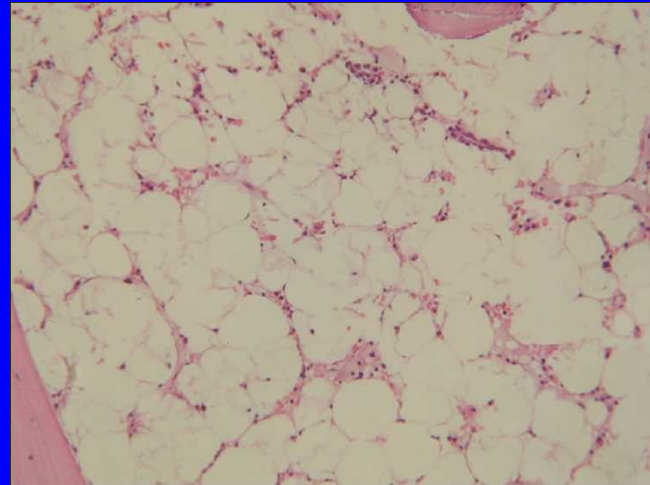
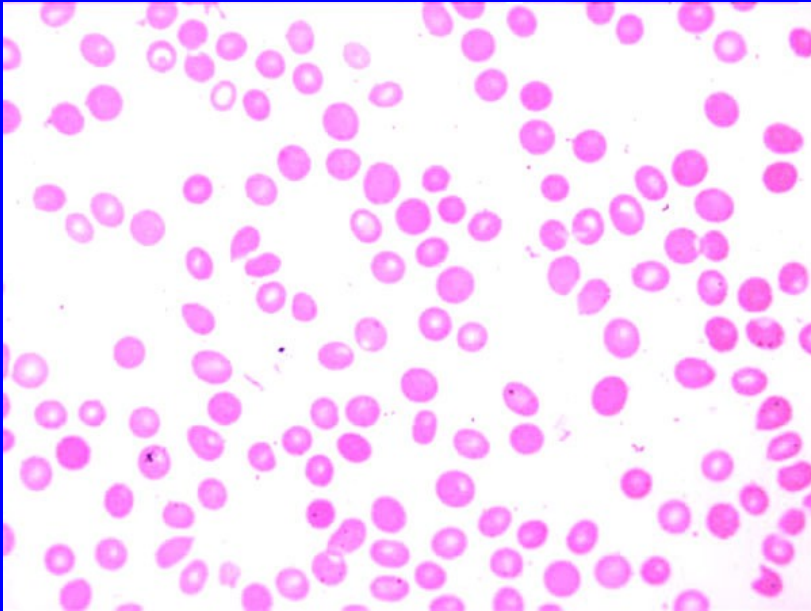


Aplastické anémie - dřeňový útlum

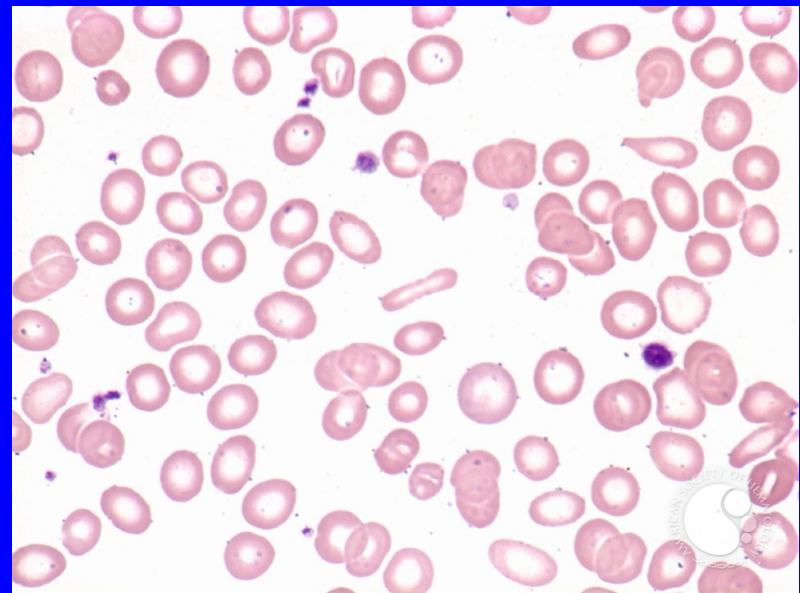
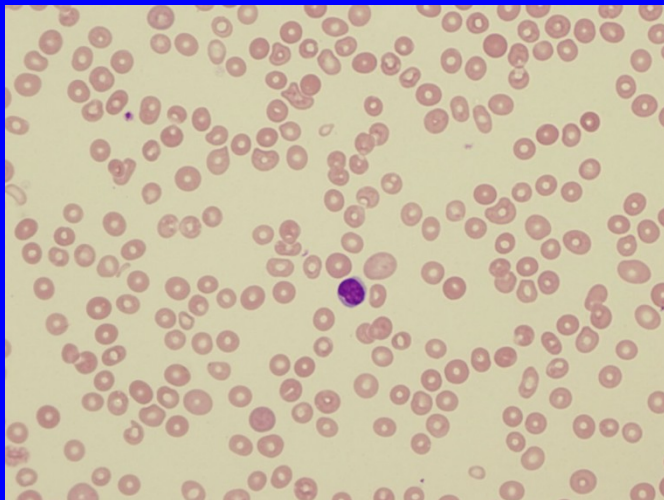
- *porucha kmenové (mateřské) buňky*
- periferní krev:
pancytopenie nebo alespoň
anemie a trombocytopenie,
mírná makrocytóza a anizocytóza
- kostní dřeň:
obvykle hypoplastická až aplastická



Aplastické anémie



KD



Dysplastické anémie

- dysplázie erythropoézy: porucha vyzrávání, morfologické abnormality
 - periferní krev: makrocytóza, anizocytóza, poikilocytóza,
 - kostní dřeň: často megaloidní rysy, vícejaderné NRBC, karyorexe, interplazmatické můstky, mitózy, bývají zvýšené zásoby Fe

Anemie ze zvýšené ztráty erytrocytů

Sledovat:

- KO a morfologické změny v periferní krvi
- změny v KD
- vyšetření na HA

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*

Princip základní metodiky

- *Volný hemoglobin v plazmě*
Volný hemoglobin Hb(Fe²⁺) v plazmě je stanoven fotometricky po jeho oxidaci na hemoglobin (Fe³⁺) a ten se potom pomocí kyanidu (CN⁻) draselného přemění na barevný komplex hemoglobinkyanidu, stanovitelný fotometricky.

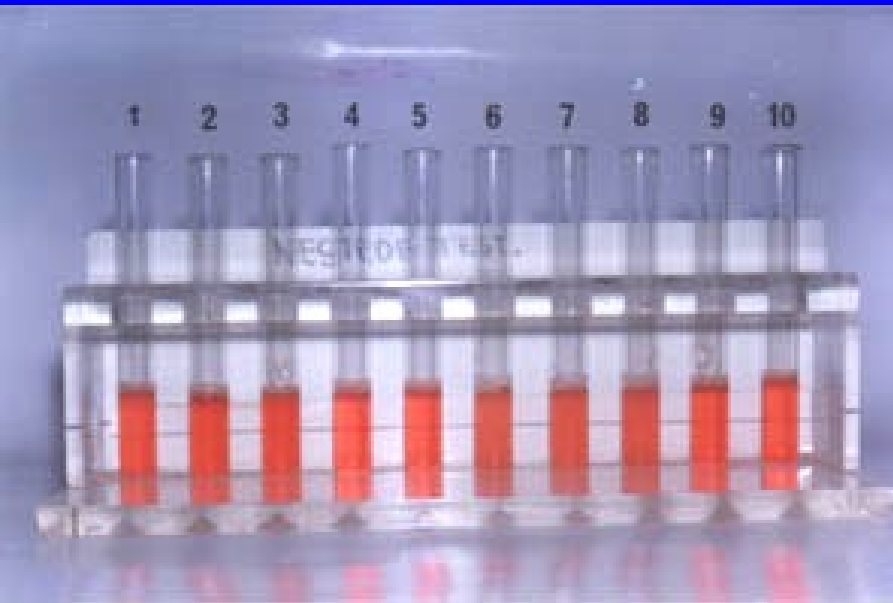
Osmotická rezistence

- 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

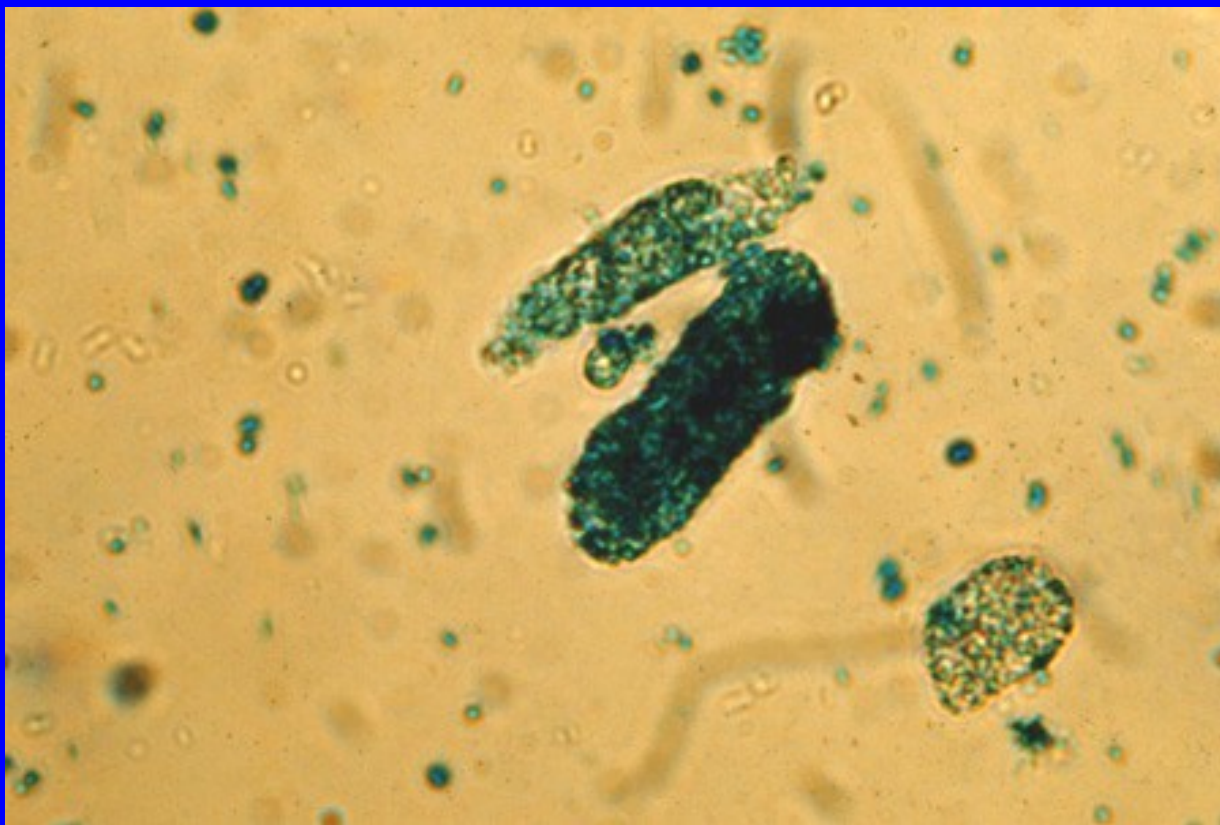
Fe³⁺ v hemosiderinu reaguje s kyselým roztokem ferrokyanidu draselného na ferrokyanid železitý, který vytváří krystalky berlínské modři.

- Hodnocení

přítomnost modrých krystalů v moči

- normální nález: negativní
- pozitivní nález: + až +++

Hemosiderin v moči



Hemoglobin F

- Princip

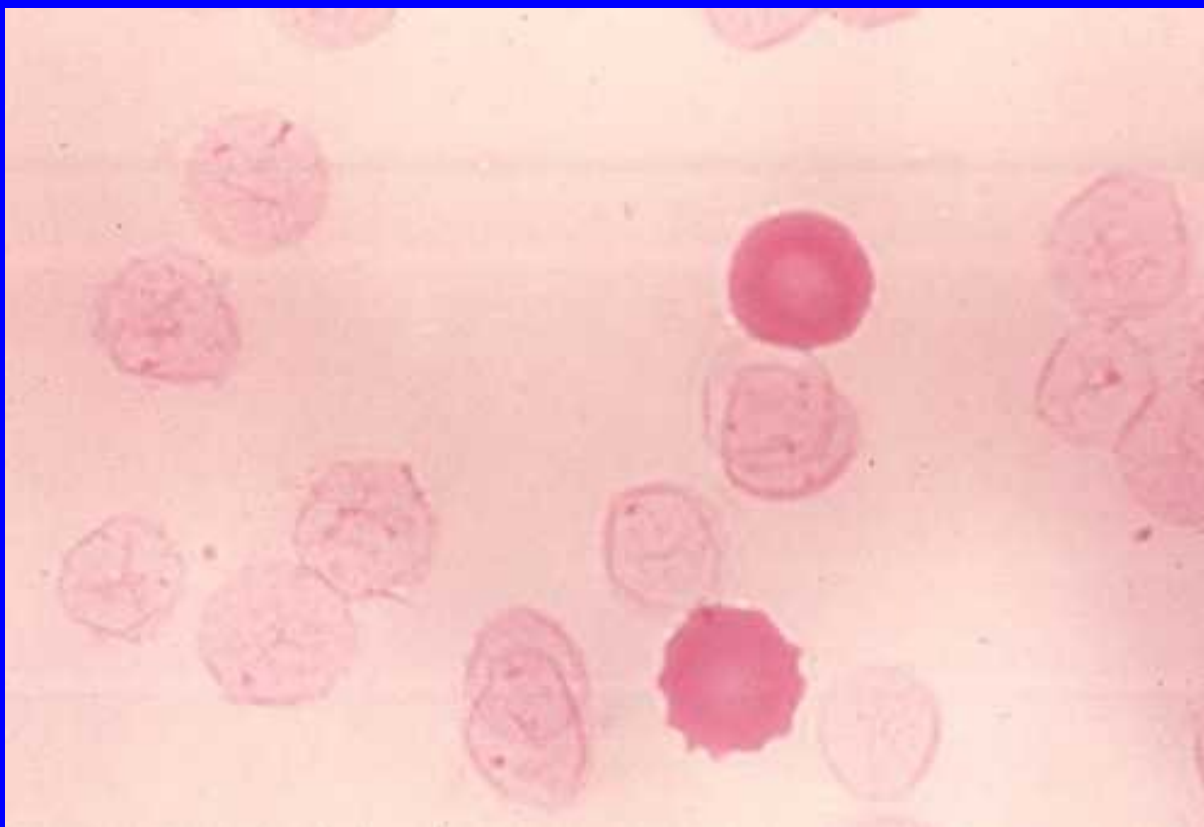
Nafixované, zaschlé nátěry se ponoří do pufru pH 3.3. Hemoglobin A (adult hemoglobin) je v buňce rozpuštěn a vyplaven, hemoglobin F (fetální hemoglobin) je ke kyselému prostředí rezistentní a v erytrocytu zůstává. Zbylý hemoglobin F se potom barví a odečítá mikroskopicky.

- Hodnocení

procentuelní hodnocení sytě zbarvených erytrocytů

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

Hemoglobin F



Heinzova tělíska

- Princip

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

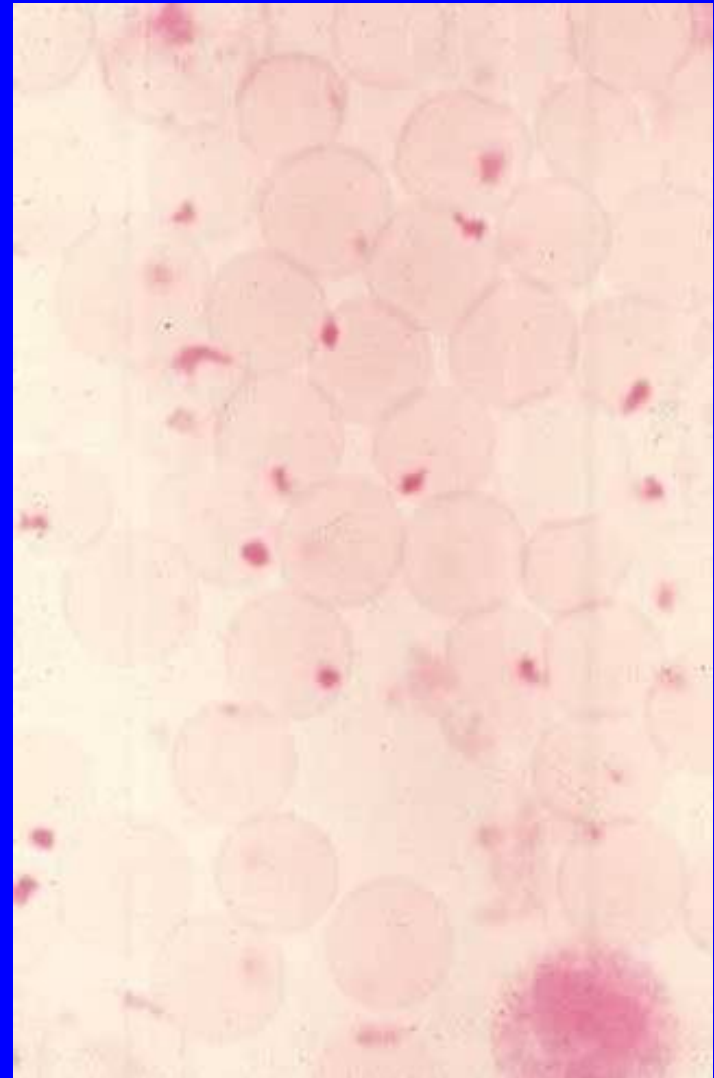
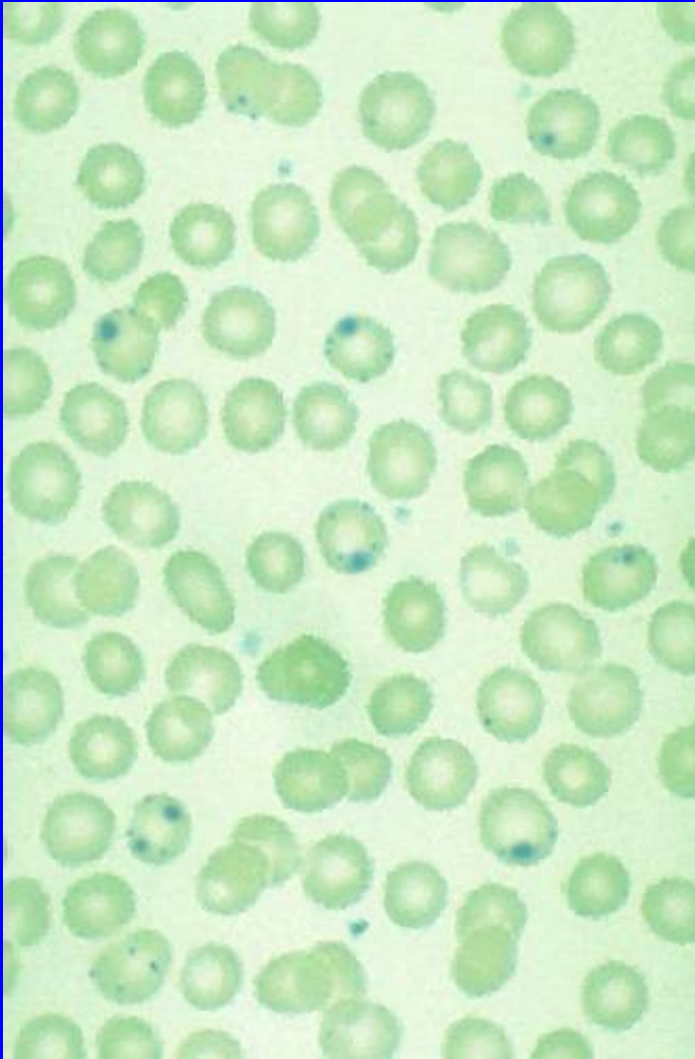
- Hodnocení

normální erytrocyty jsou negativní

- Klinický význam

enzymové defekty (např. G-6-PDH),
hemoglobinopatie, toxické HA, po splenektomii

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.