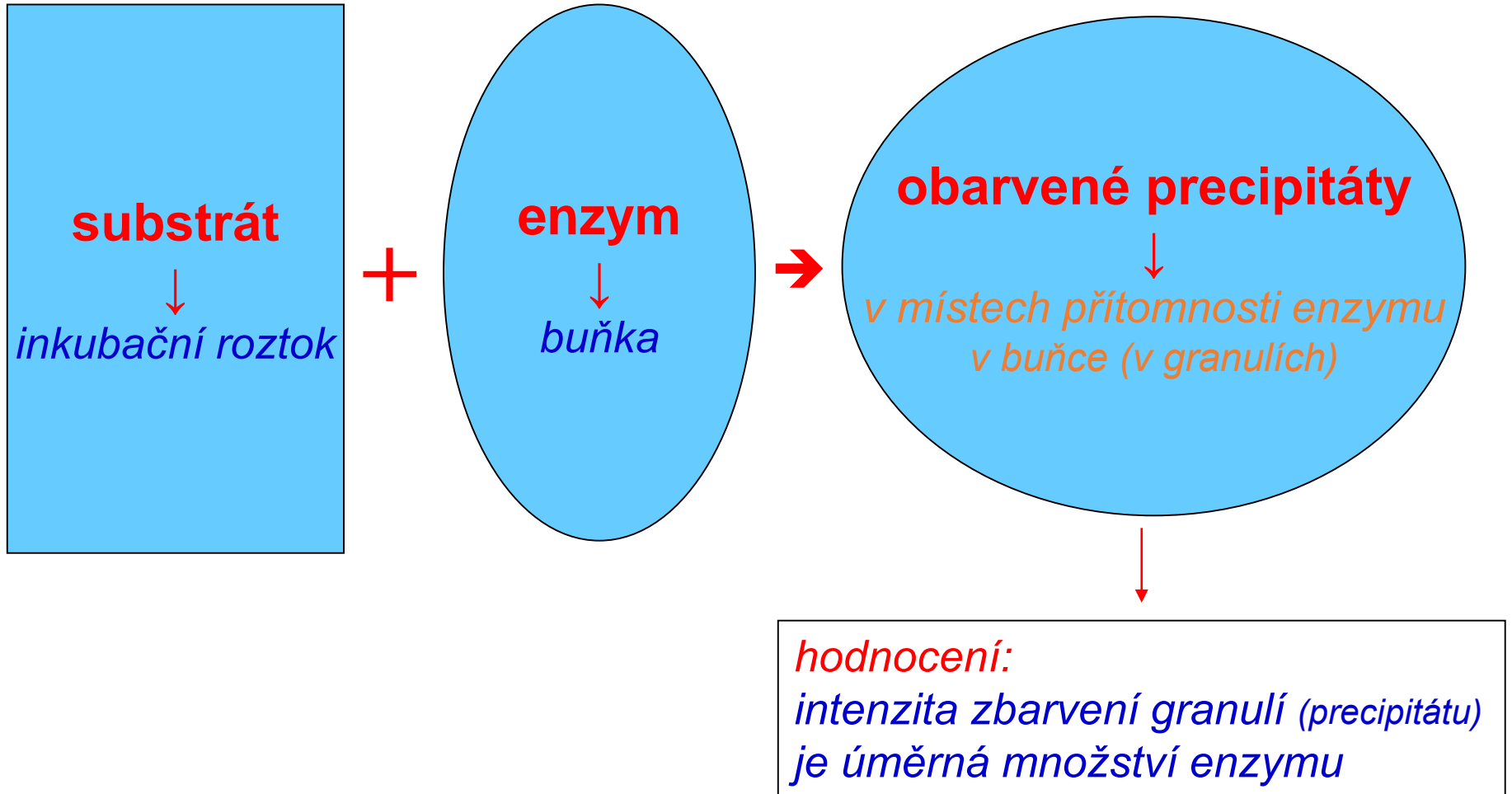


Speciální vyšetření

Bourková L., OKH, FN Brno

Cytochemická reakce



Myeloperoxidáza

- Princip:

Peroxidáza přenáší vodík z vhodného donoru na peroxid. Donor je oxidován a přeměněn na nerozpustnou sraženinu.

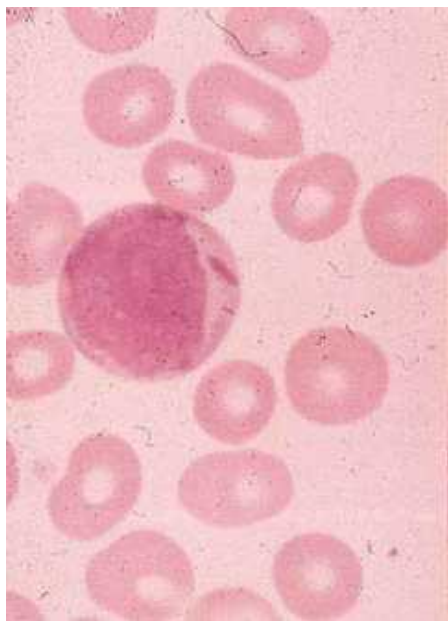
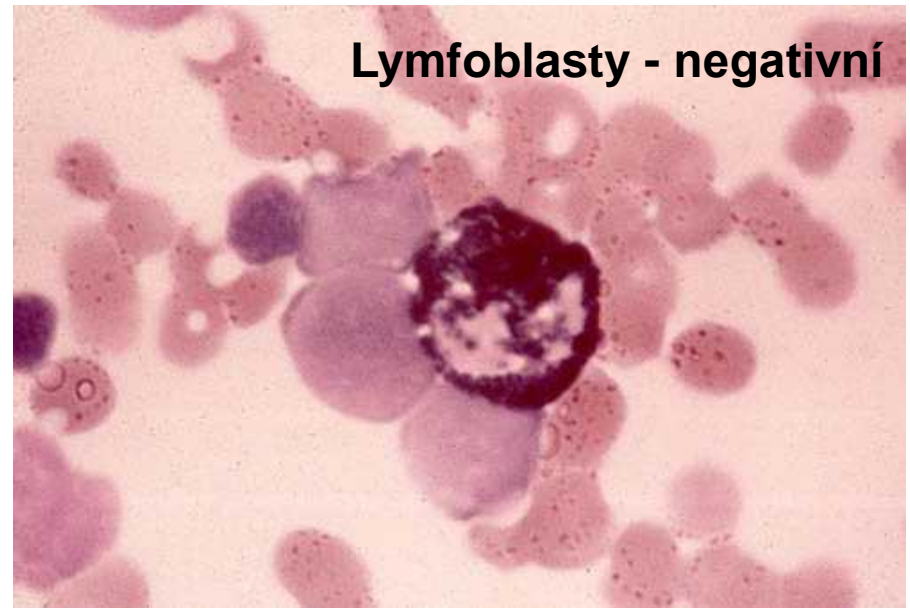
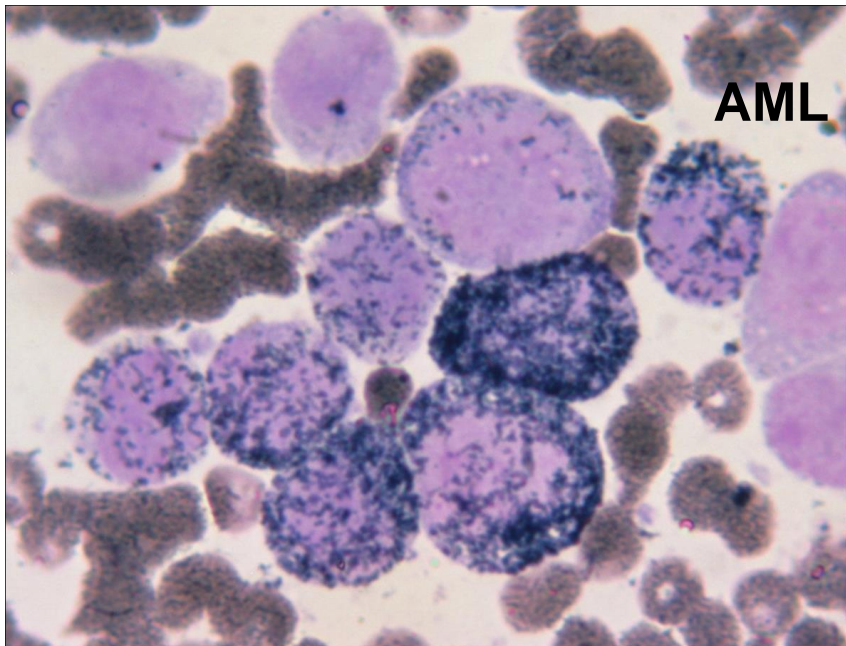
- Hodnocení:

- v azurofilní granulaci leukocytů
- intenzita positivity: 0 až +++
- také se sleduje přítomnost Auerových tyčí (*nemusí být při panoptickém barvení viditelné přes jádro*).
- fyziologická pozitivita:

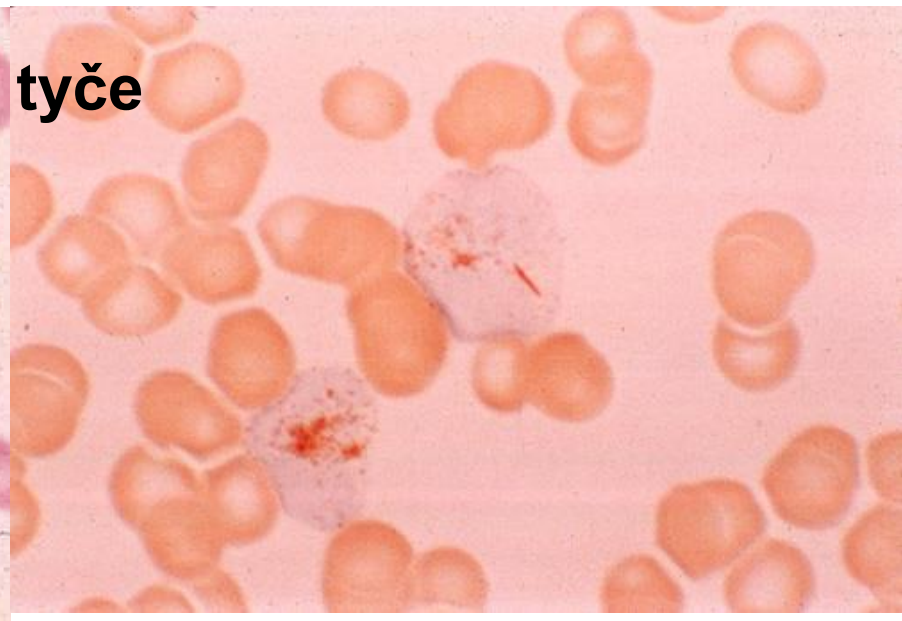
myeloidní buňky	0 / +++
monocyty	0 / +
lymfocyty	0

- Klinický význam:

Rozlišení myeloblastické nebo monoblastické leukemie od lymfoblastické leukemie



Auerovy tyče



Nespecifické esterázy

- Princip:

Buněčná esteráza reaguje se substrátem (např. alfa-naftyl-acetát nebo alfa-naftyl-butyrát) a nebo je reakce blokována NaF.

- inkubace jednoho nátěru bez NaF
- inkubace druhého nátěru s NaF

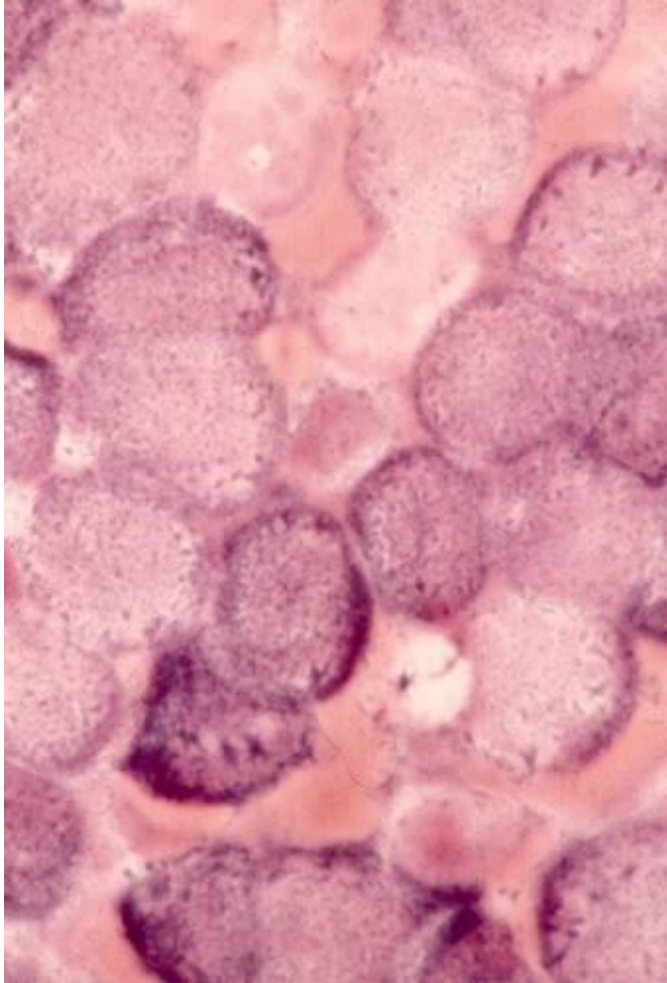
- Hodnocení:

- pozitivita v granulích v cytoplazmě leukocytů
- intenzita positivity: 0 až +++
- pozitivita bez NaF:
 - monocyty + až +++
 - myeloidní buňky, lymfocyty 0 až ++
- pozitivita po NaF:
 - monocyty zeslabení na 0 nebo +.
 - ostatních buňky: pozitivita stejná nebo snižená maximálně o (+)

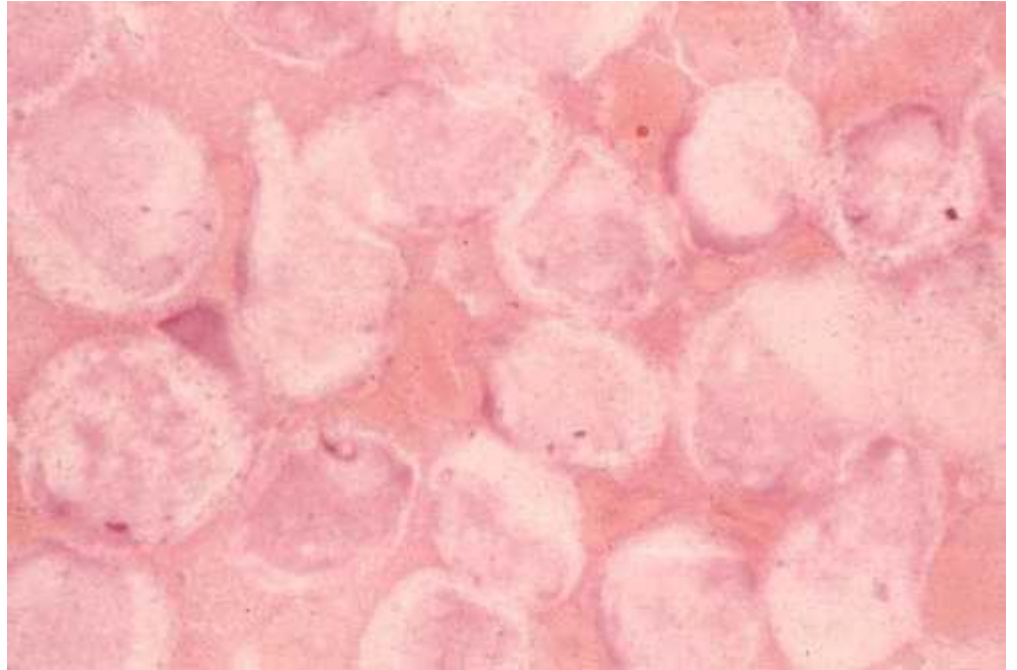
- Klinický význam:

- k rozlišení AML M4 a AML M5
- ↑ NE + ↓ NE/NaF → monocytární buňky
- NE + NE/NaF – srovnatelná → myeloidní, lymfoidní buňky

Mono: ++/+++
Granulo: +



NE+NaF: 0



PAS (*Periodic Acid Schiff*)

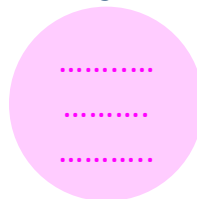
- Princip:
sacharidy+kys.jodistá→aldehydy+Schiffovo barvivo→**růžový precipitát**
 - Hodnocení:
 - intenzita: 0 až +++
 - vzhled (*typ*) pozitivita:
 - fyziologická pozitivita:
 - myeloidní buňky**: difúzní zbarvení cytoplazmy
 - monocyty**: jemně granulární pozitivita
 - lymfocyty**: negativní, ojediněle výraznější granula
 - trombocyty** a megakaryocyty: výrazně pozitivní
 - NRBC** : negativní
 - patologická pozitivita.
 - lymfocyty - CLL**: ve většině lymfocytů výrazná zrnitá pozitivita
 - blasty - ALL, nedif. leukémie**: hrubozrná pozitivita
 - NRBC - patologické**: hrubozrná pozitivita
 - Klinický význam:
leukémie, MDS, anémie
-

VZHLED POZITIVITY

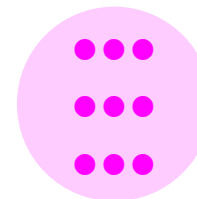
difúzní

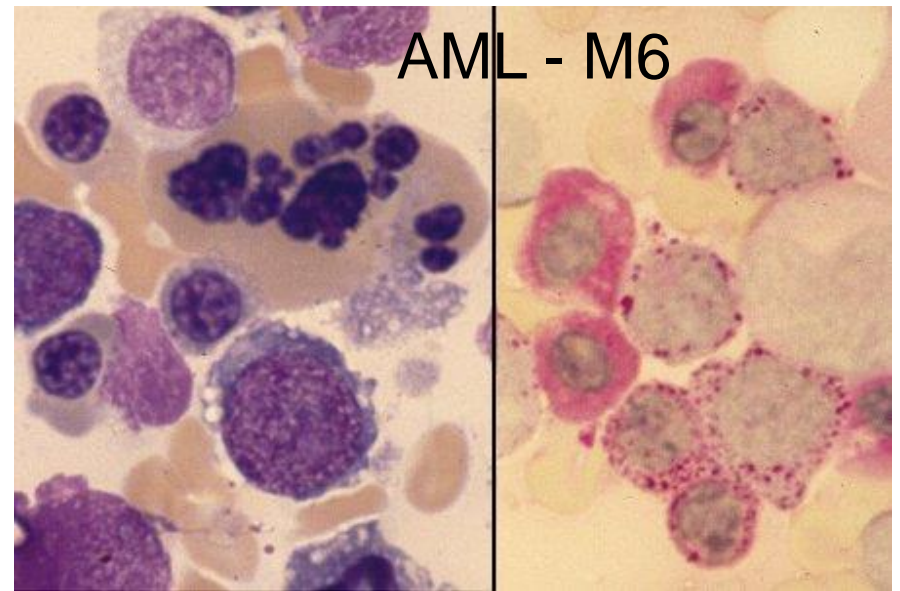
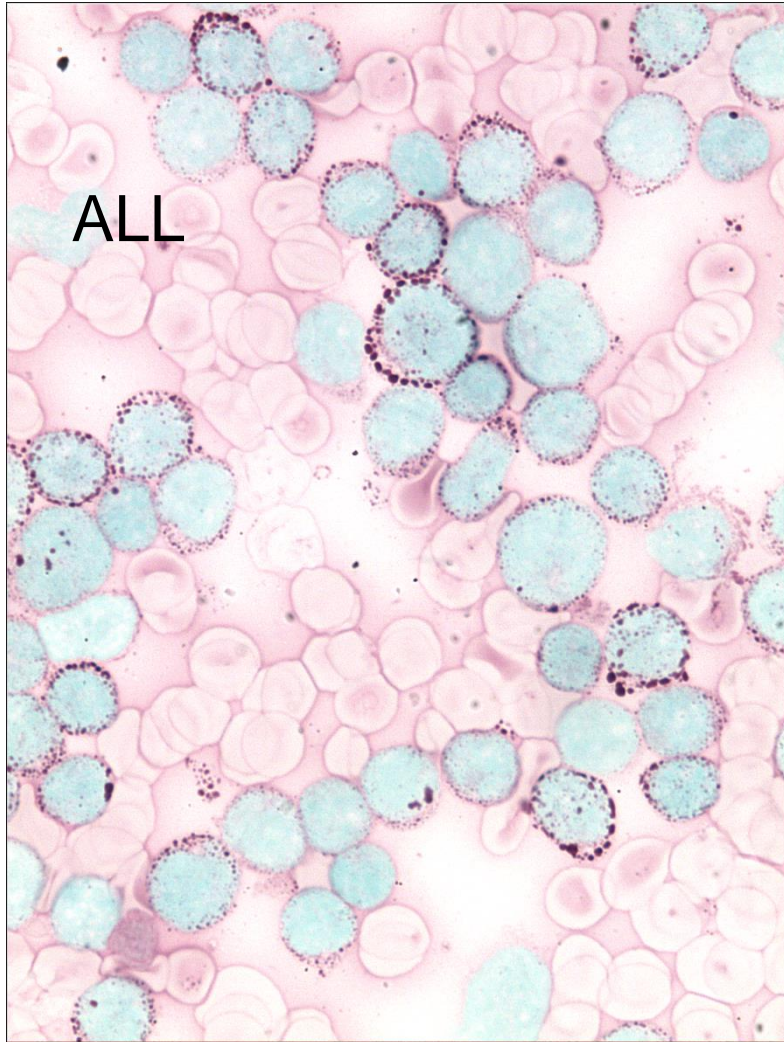


jemně granulární

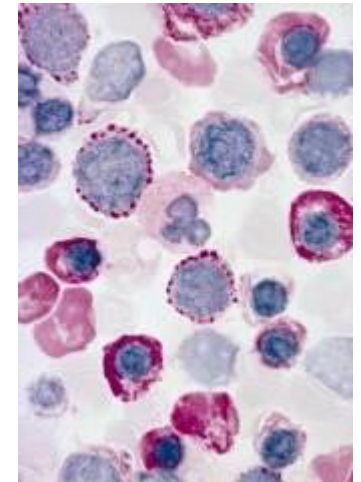
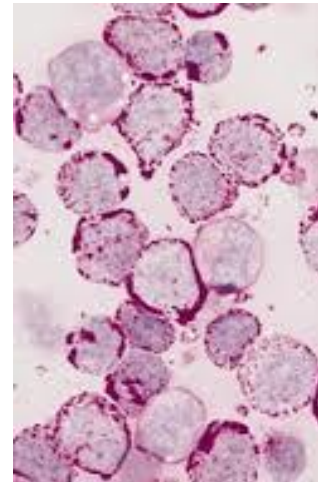
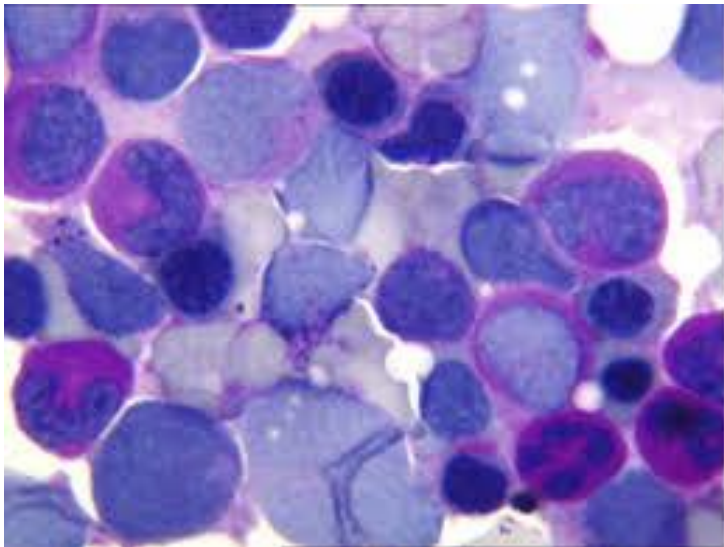
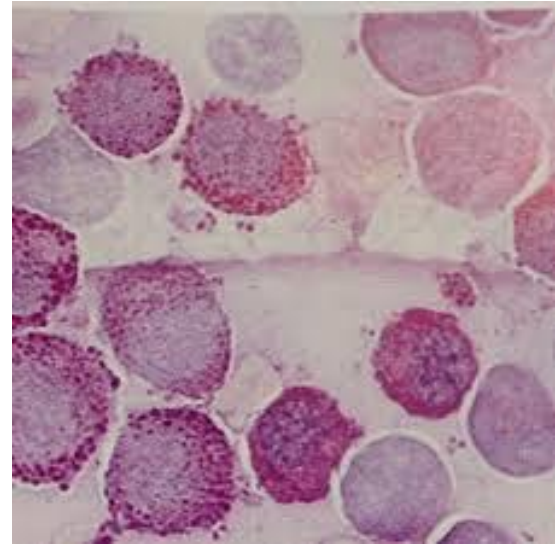
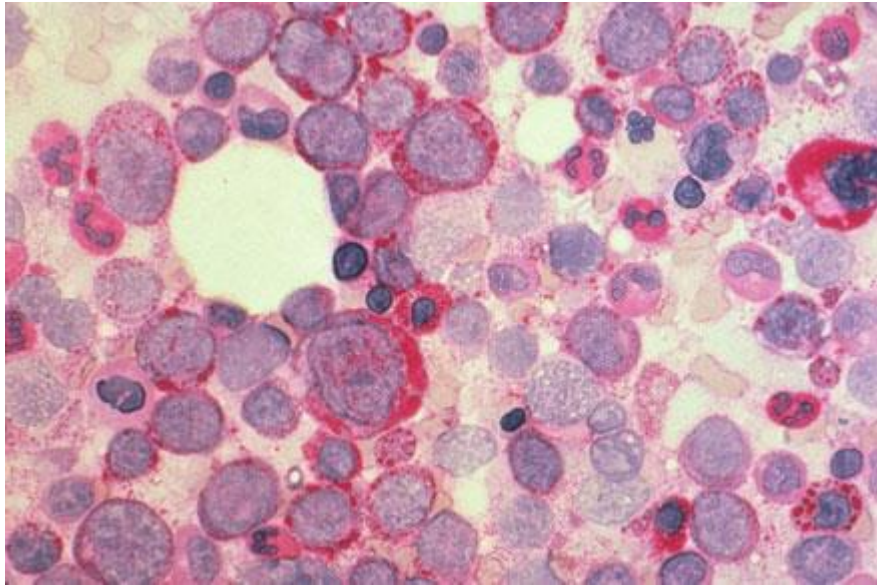


hrubozrná/bloková pozitivita





Typy pozitivny PAS



Poznámky

Cytochemická vyšetření hodnotit v souvislosti s:

- ostatním cytochemickým vyšetřením
- morfologickým hodnocením a rozpočtem kostní dřěně
- stádiem vyzrávání buněk

S každým cytochemickým vyšetřením pacienta je nutné vyšetřit i kontrolní preparát.

Cytochemické reakce

	MPOX	NE	NE+NaF	PAS <i>(typ pozitivity)</i>
myeloid. b.	-/+++	-/+	-/+	-/+
monocyt. b.	-/+	+/+++	-/+	-/+
erytrocyt. b.	-	-/+	-/+	-/+
lymfoc. b.	-	-/+	-/+	-/+
MGK b.	-	-/+	-/+	-/+

Kyselá fosfatáza

- Princip:

Fosfatáza reaguje se substrátem nebo je reakce blokována kyselinou vinnou (tartarát). Reakce není blokována pokud je přítomen izoenzym 5. V místě aktivity enzymu vzniká v cytoplazmě obarvná sraženina.

- inkubace jednoho nátěru bez kyseliny vinné
- inkubace druhého nátěru s kyselinou vinnou

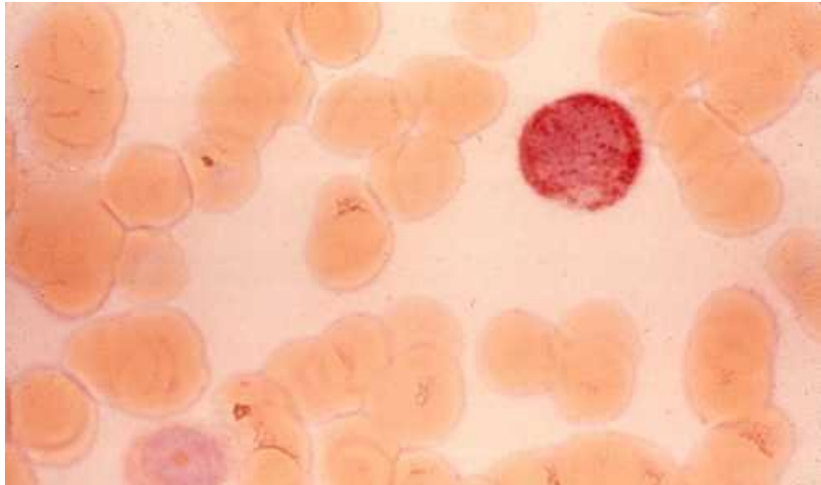
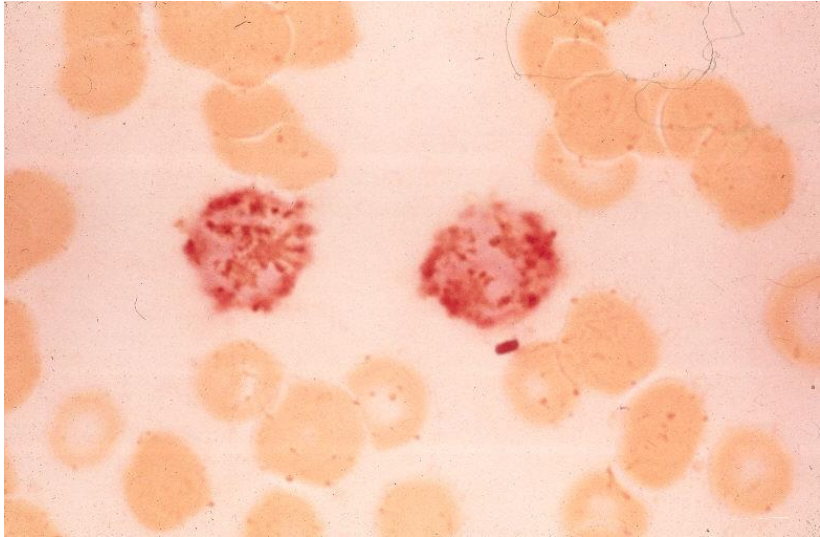
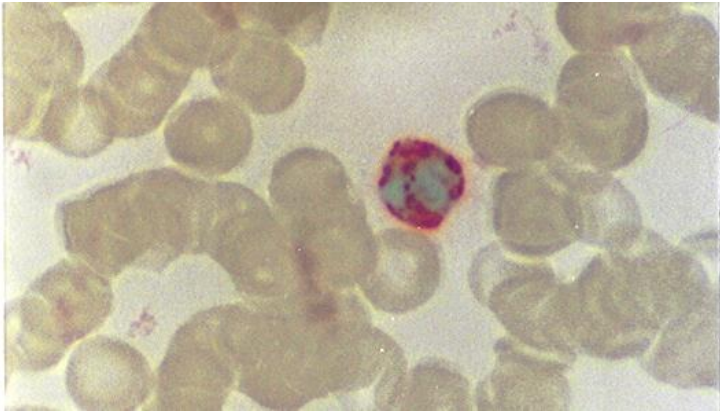
- Hodnocení:

- pozitivita je úměrná množství enzymu v cytoplazmě
- fyziologická pozitivita:
lymfocyty, plazmatické buňky
granulocyty, monocyty, trombocyty
- pozitivita po kyselině vinné (tartaric acid):
pouze v lymfocytech (HCL) s izoenzymem 5 .

- Klinický význam:

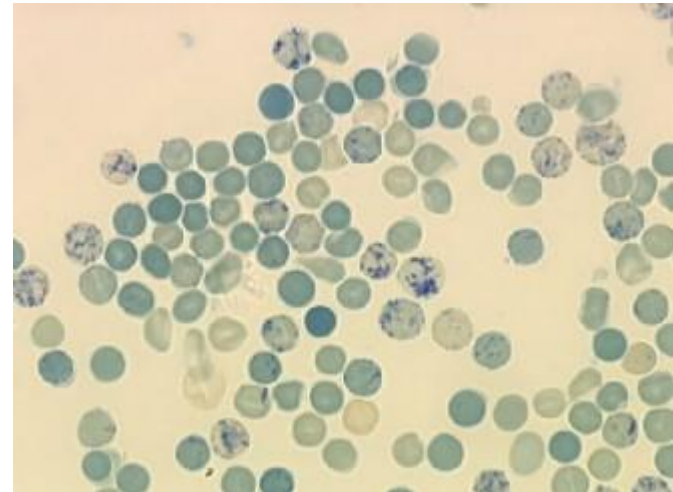
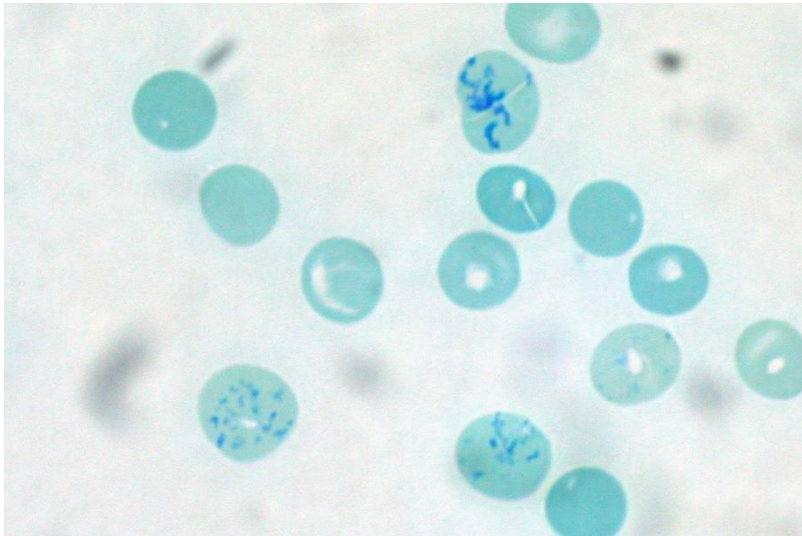
- některé T - ALL, CLL
- pozitivita po kyselině vinné pouze v lymfocytech u klasické formy HCL s přítomností izoenzimu 5

HCL - KF



Mikroskopické vyšetření retikulocytů

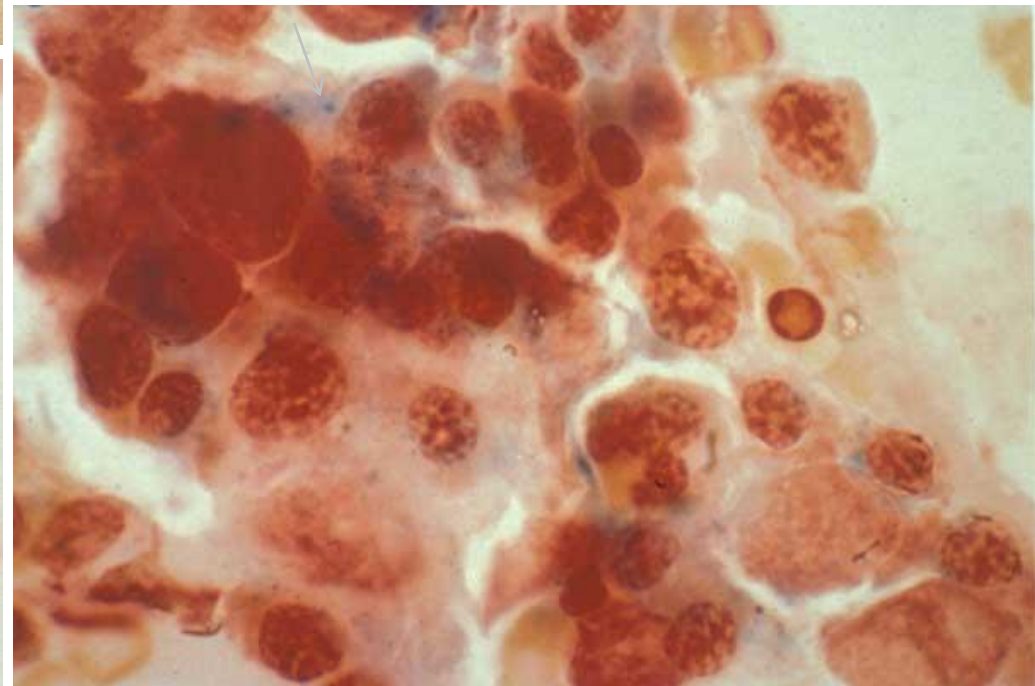
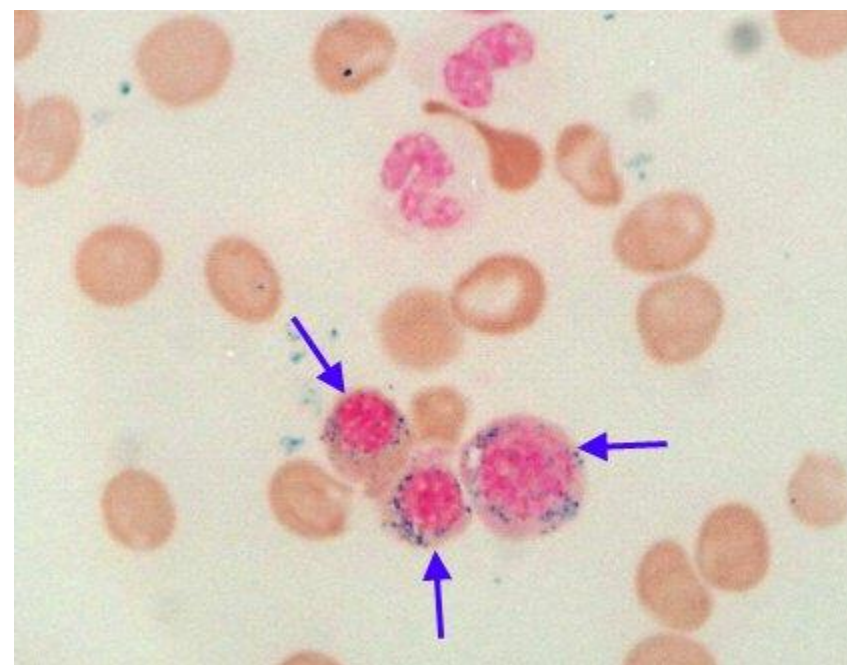
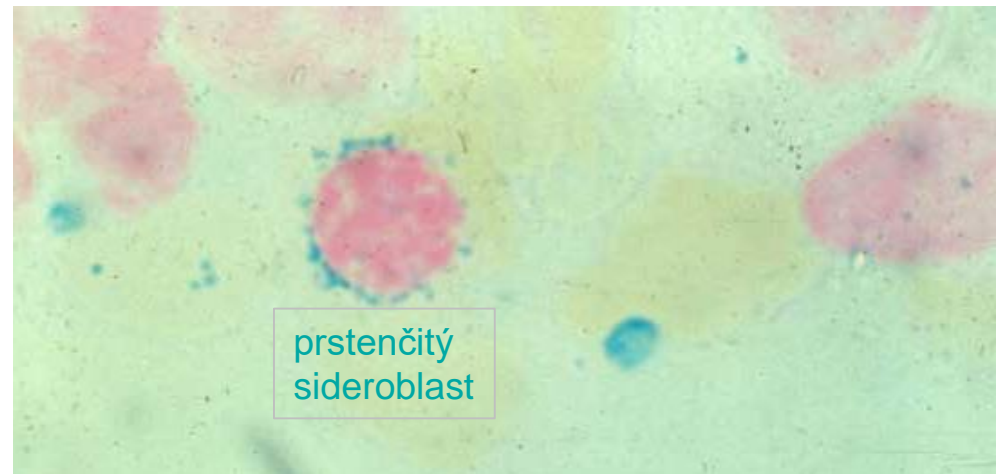
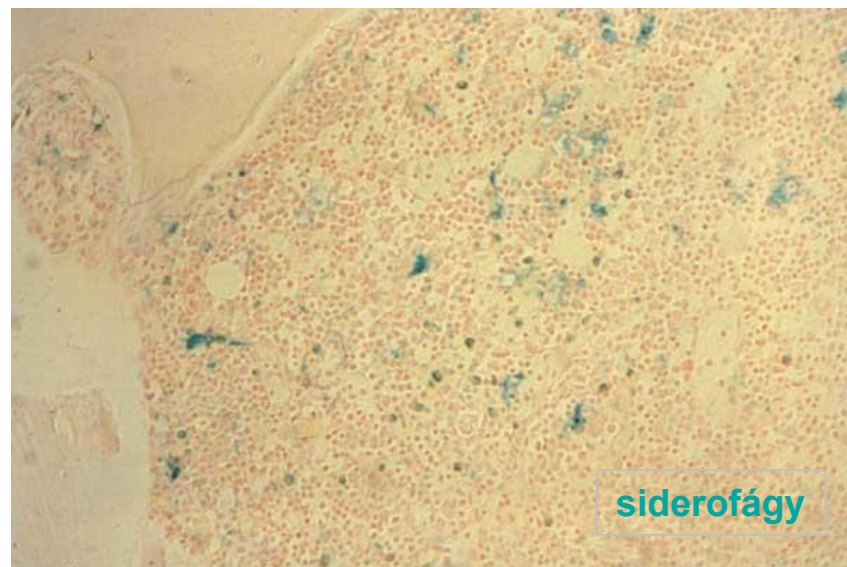
- V retikulocytech se barví supravitálně (*bez fixace*) brillantcresylovou modří zbytky RNA.
- Pozitivita se hodnotí v 1000 erythrocytech
 - normální hodnoty: 0,5 – 2,5 %



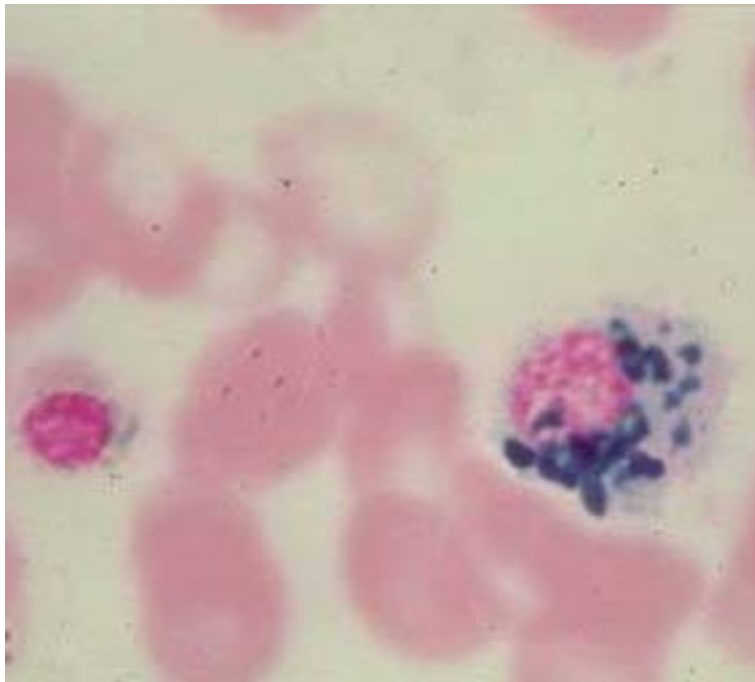
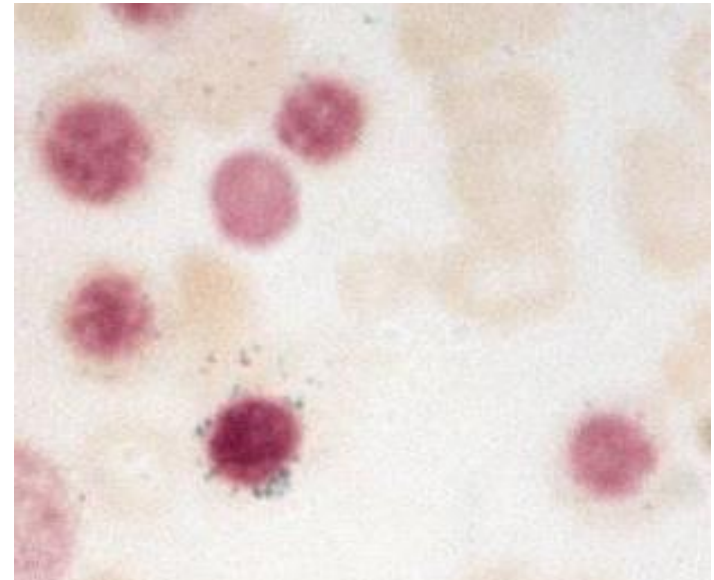
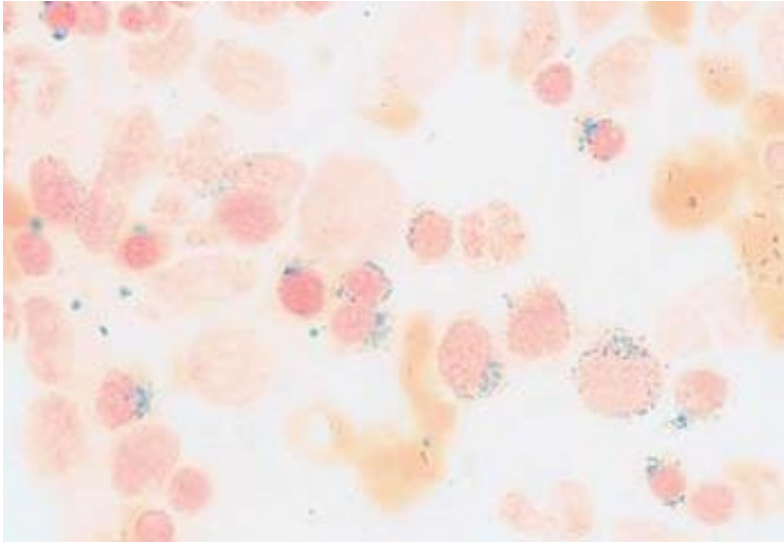
Cytochemické vyšetření zásobního Fe

- *Zásobní (nehemové) železo ve formě Fe³⁺ (ferritin, hemosiderin)*
 - v erytrocytech
 - NRBC
 - makrofázích
- Princip:
Fe³⁺ tvoří s ferrokyanidem draselným a kyselinou chlorovodíkovou barevný komplex – berlínskou modř
- 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 ze 6 nalezených makrofágů
- Klinický význam:
anémie
 - *např.:* sideropenické (nízké hodnoty)
 - sideroblastické (přítomné prstenčité sideroblasty, zvýšené zásobní Fe)
 - hemolytické anémie (vysoké hodnoty)
 - refrakterní anémie (vysoké hodnoty)

Barvení Fe 3+



Barvení Fe 3+



Hemoglobin F

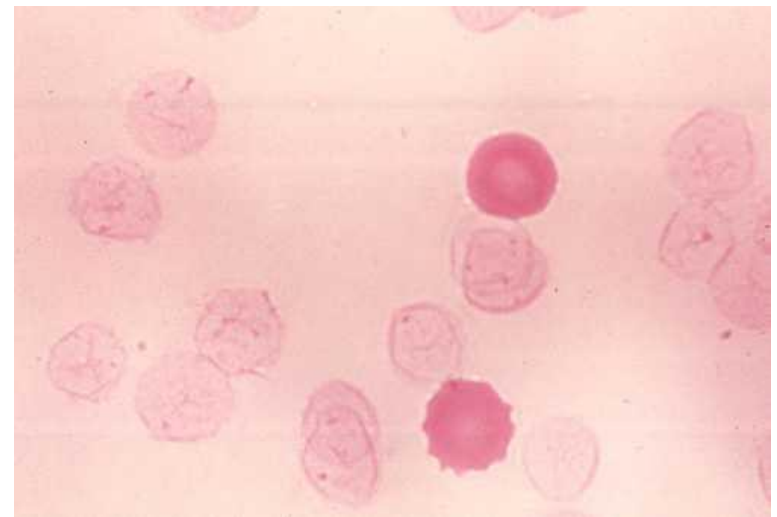
- Princip

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



Hemosiderin v moči

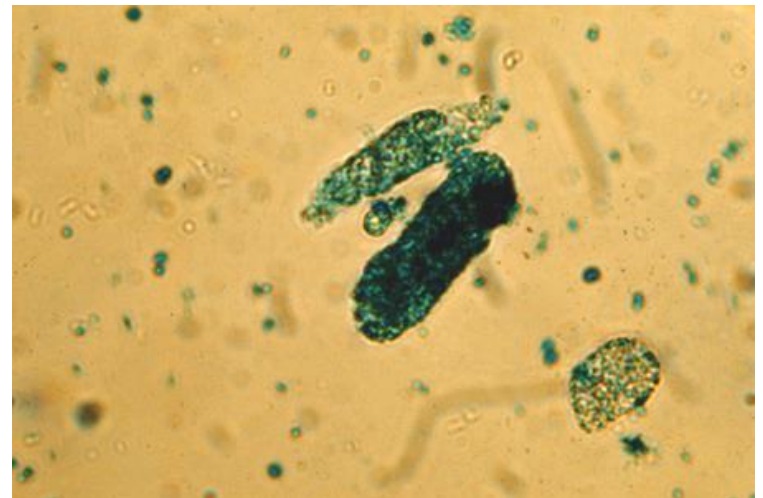
- Princip

Fe^{3+} 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 +++



Osmotická rezistence

fyziologický roztok – kontrola
(bez hemolýzy)

normální výsledek inkubace

voda – kontrola
(absolutní hemolýza)

0,9%

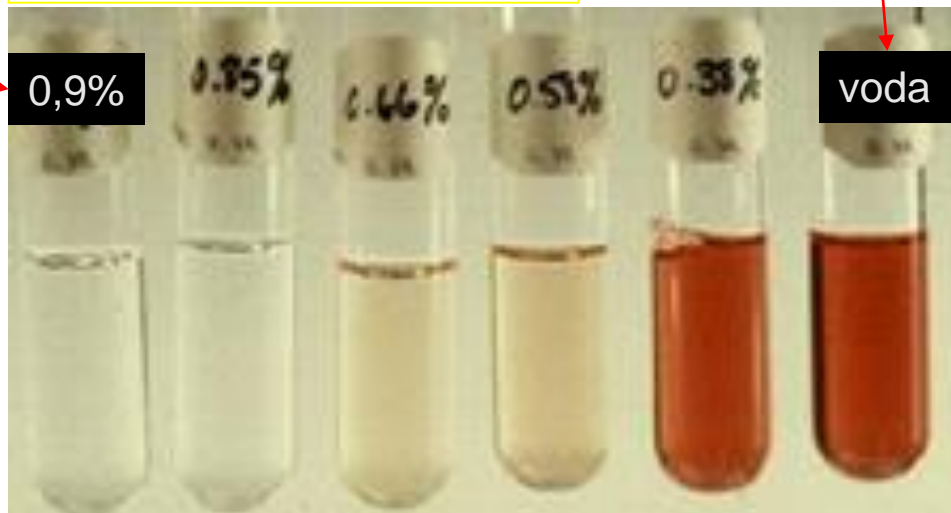
0,85%

0,46%

0,51%

0,38%

voda



0,9%

0,85%

0,46%

0,51%

0,38%

voda

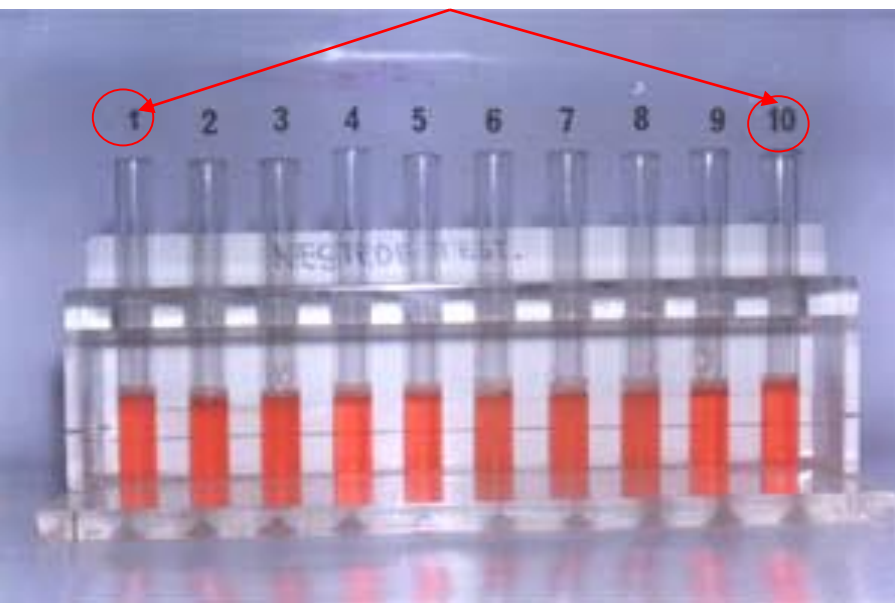


snížená rezistence

patologický výsledek inkubace

příprava

kontrolní prostředí



← snížená rezistence

→ zvýšená rezistence