

# Anémie

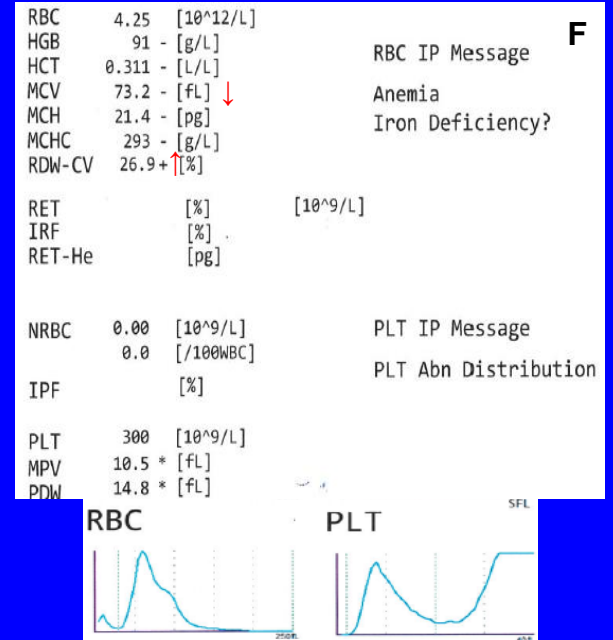
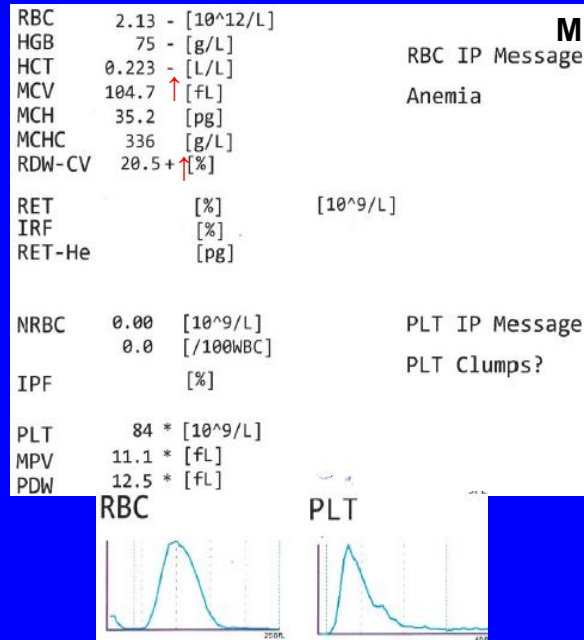
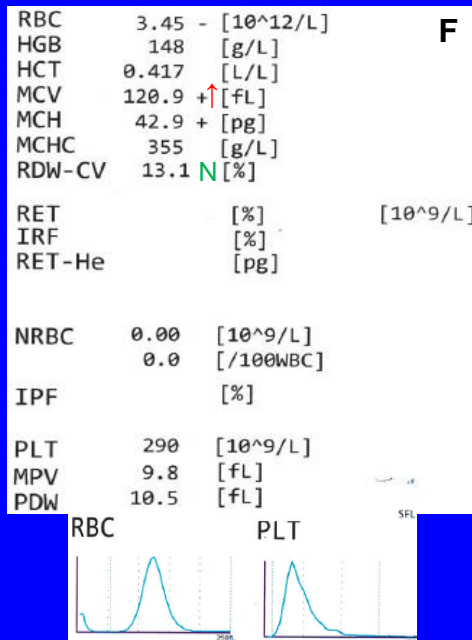
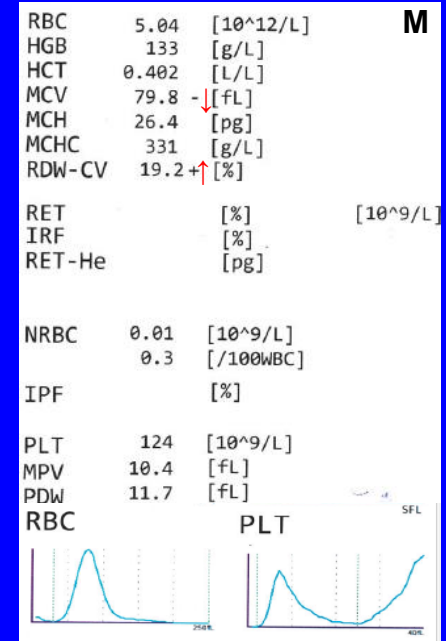
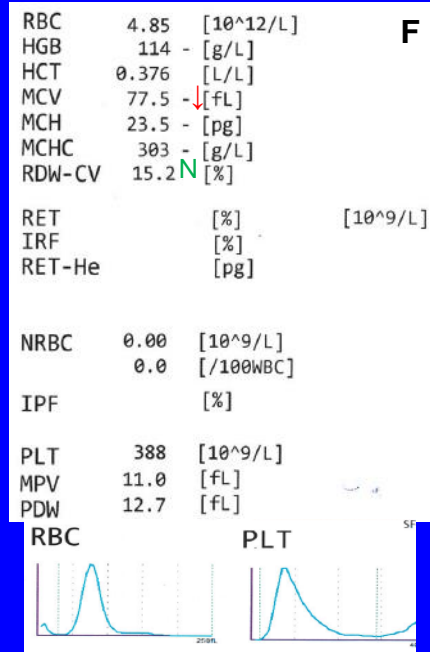
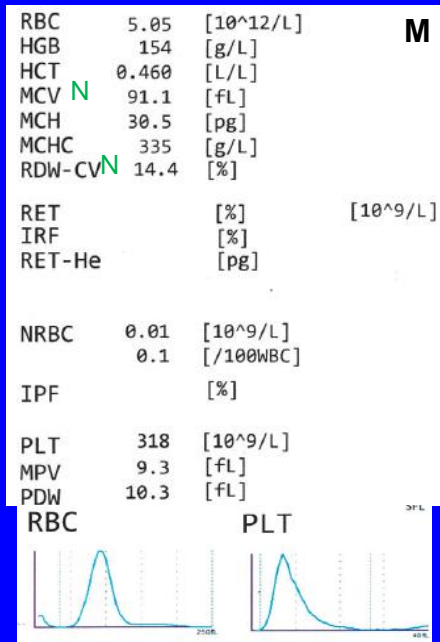
*Bourková L., OKH FN Brno*

# *Sledování vyšetření*

Sledovat:

- hloubku anémie v KO
- morfologické změny erytrocytů v periferní krvi (barevné, tvarové, inkluze)
- morfologické a množstevní změny erytrocytární populace v KD
- *současně posuzovat početní i morfologické změny WBC a PLT*

# Příklady vyšetření RBC v krevním obraze



# Vyšetření retikulocytů

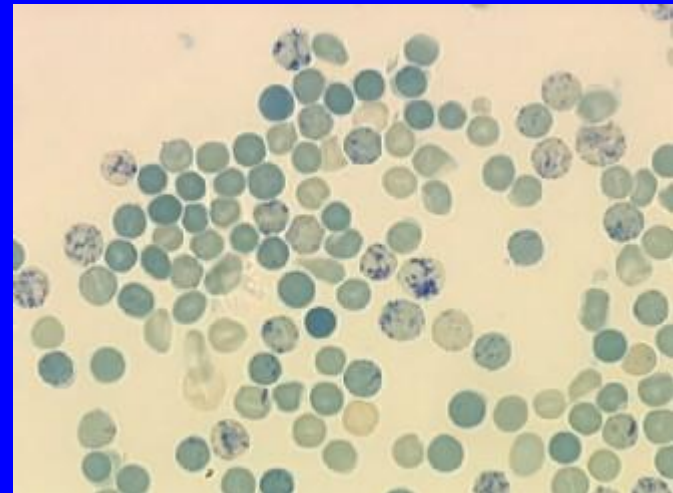
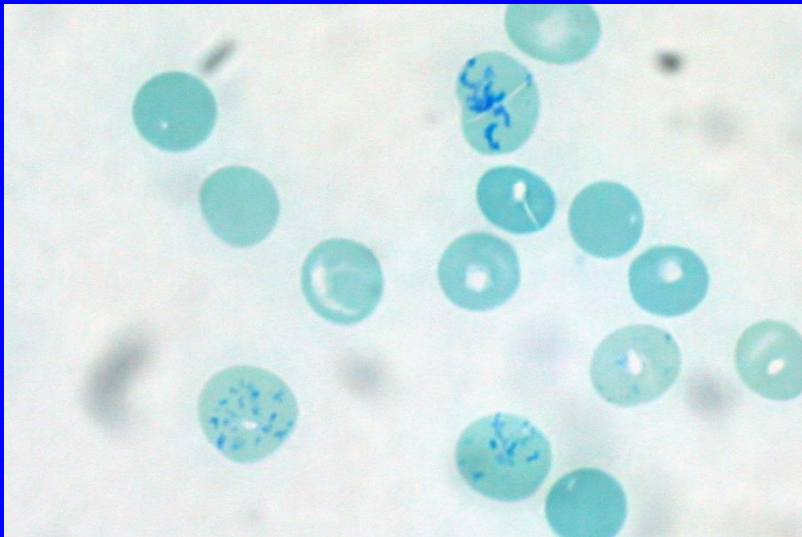
Barvení RNA v erythrocytech:

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

❖ Hodnoty retikulocytů v periferní krvi odráží schopnost erythropoézy v kostní dřeni.

# Mikroskopické vyšetření retikulocytů

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



# Vyšetření retikulocytů na analyzátoru

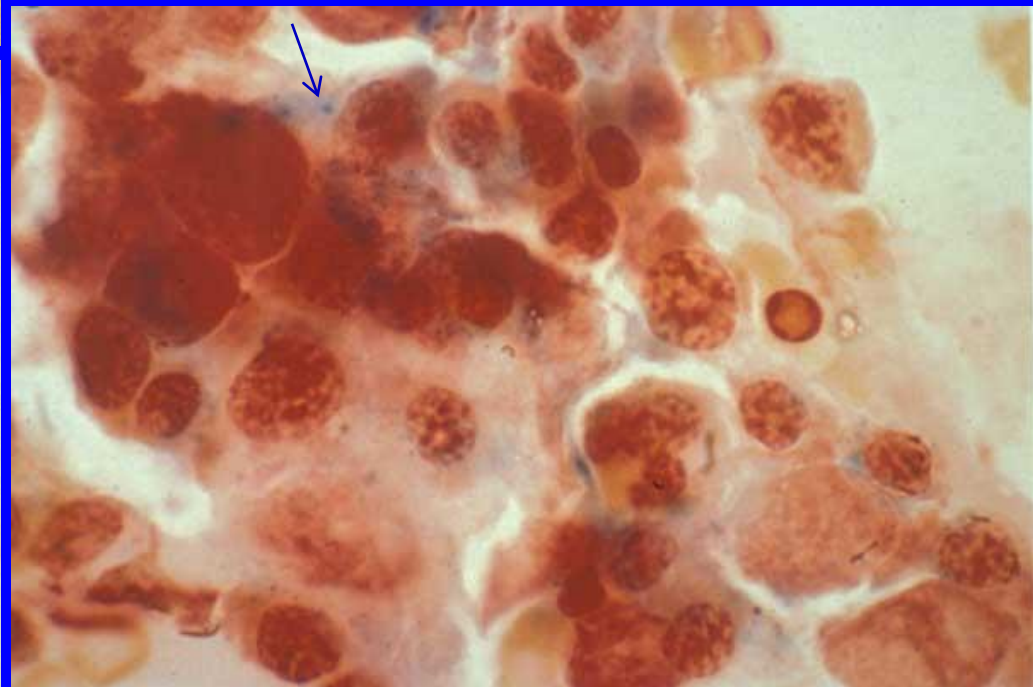
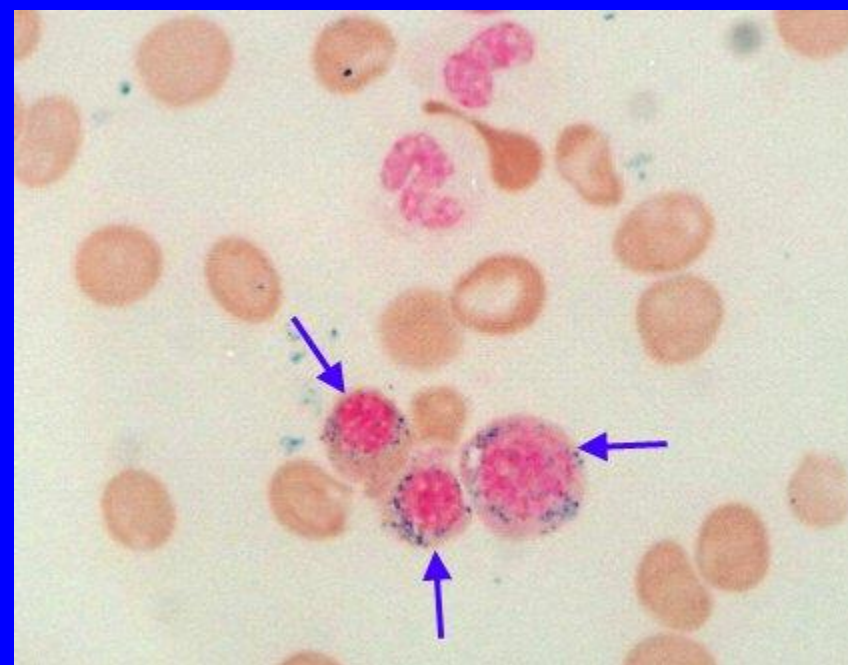
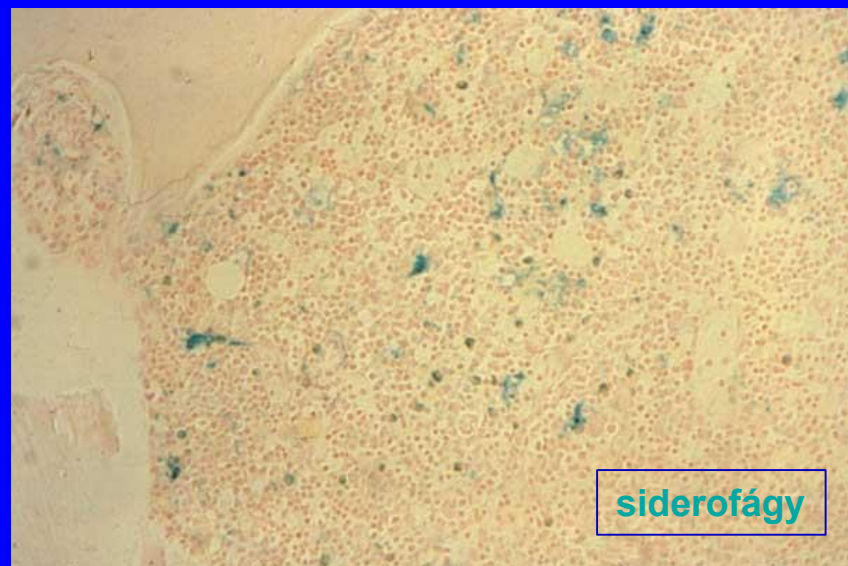
- analýza prošlého a odraženého světla  
probíhá v retikulocytech na precipitovaných, obarvených síťových strukturách RNA
- fluorescenční analýza  
vlákna RNA jsou obarvena fluorescenčními barvami, množství RNA je úměrné intenzitě fluorescence
- *Normální hodnoty:*  
0,5 – 2,5 %  
25 – 100 x 10<sup>9</sup>/L

# Cytochemické vyšetření zásobního Fe

- **Zásobní (nehemové) železo ve formě  $Fe^{3+}$**  (*feritin, hemosiderin*)
  - v erytrocytech
  - NRBC
  - makrofázích
- Princip:  
 $Fe^{3+}$  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*)

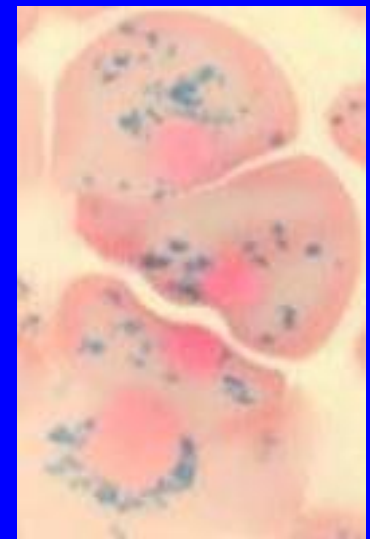
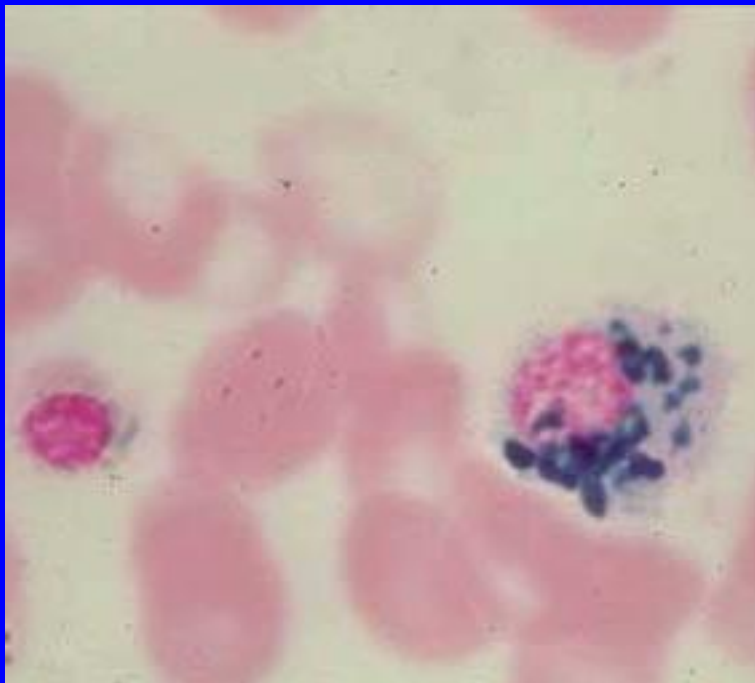
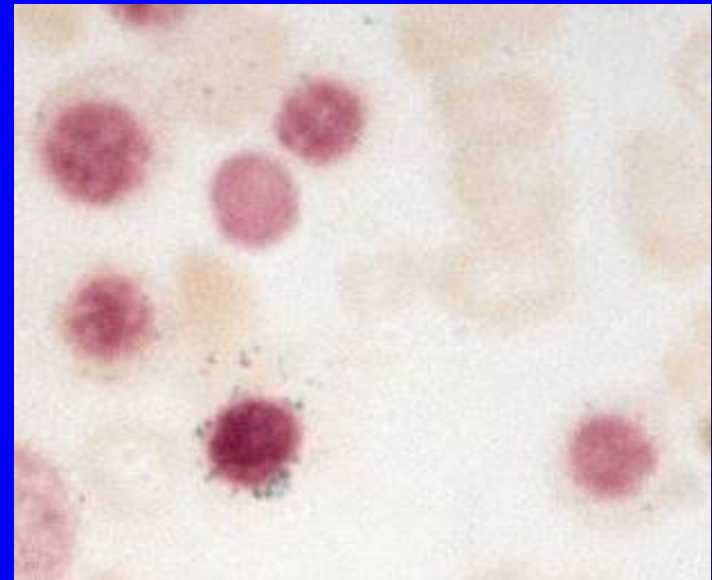
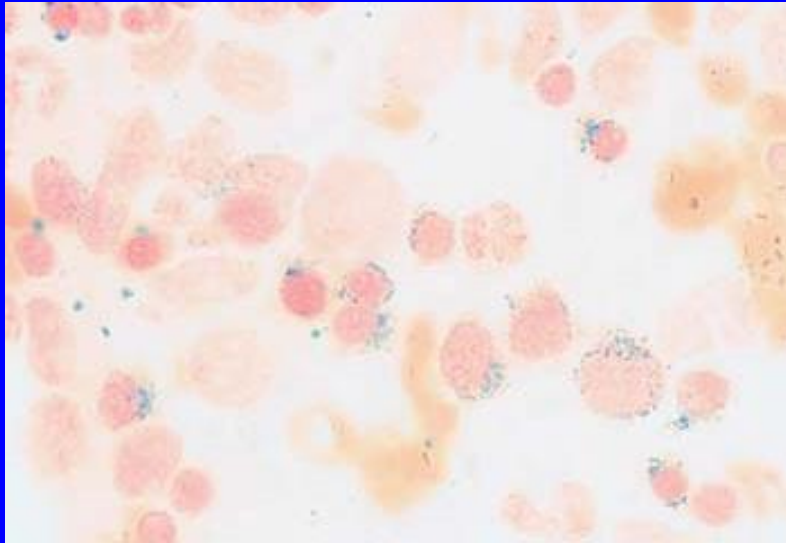


# Barvení Fe 3+





# Barvení Fe 3+

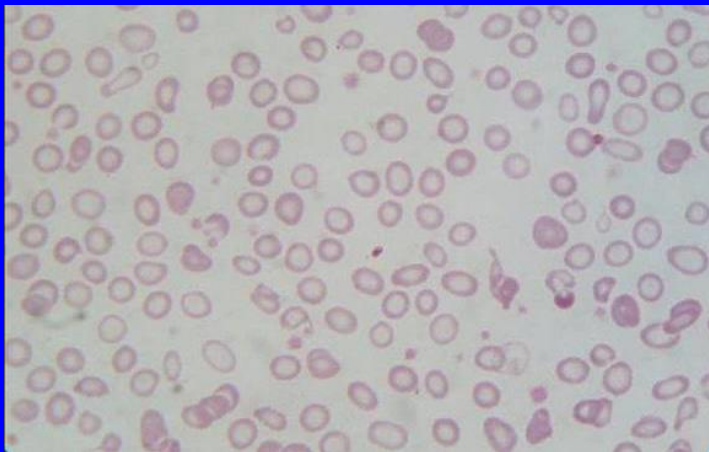


# Porucha syntézy hemu

## Sideropenická anémie

(nedostatek železa)

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



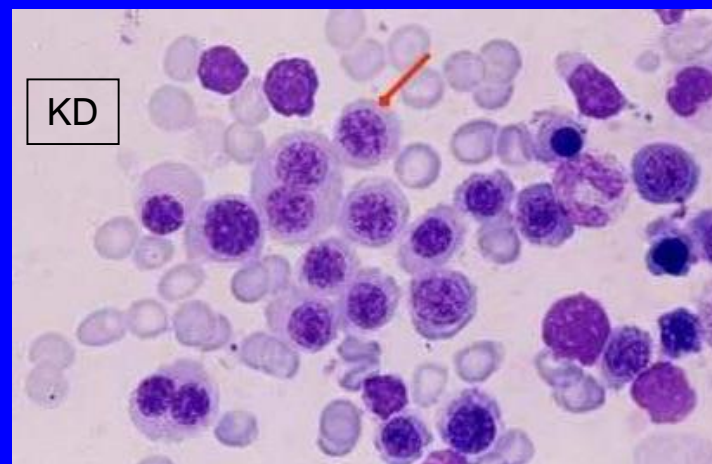
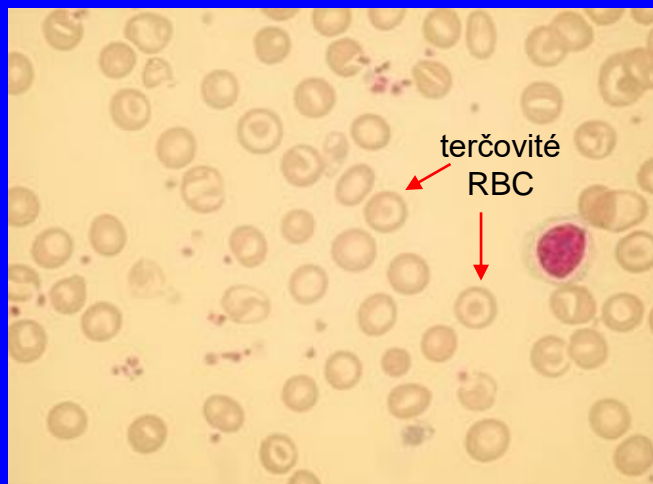
WBC	2.82	10e9/L	WVF	.982	
SEG	1.49		%S	52.8	
BAND	0.00		%BD	0.00	
IG	0.00		%IG	0.00	
BLST	0.00		%BL	0.00	
MONe	.228		%Me	8.10	
EOS	.137		%E	4.86	
BASO	.063		%B	2.22	
LYMe	.902		%Le	32.0	
VARL	0.00		%VL	0.00	
RBC	3.70s	10e12/L	RBCo	3.67	
HGB	85.5	g/L	%MIC	14.0	
HCT	283s	L/L	%MAC	.448	ASYM
MCV	76.5s	fL	%HPO	----	
MCH	23.1s	pg	%HPR	----	
MCHC	302.s	g/L			
RDW	19.2s	%CV			
HDW	----	%			
RETC	----	10e9/L	%R	----	
IRF	----				
NRBC	0.00	10e9/L	NRW	0.00	
MCVr	----	fL			
MCHr	----	pg			
CHCr	----	g/L			
PLTo	220.	10e9/L	PLTi	228.	
MPV	8.70	fL	CD61	----	
PDW	15.6	10(GSD)	PLTs	----	

# Porucha syntézy globínu

## 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)

WBC	5.81	[10 <sup>9</sup> /L]		
NEUT	3.10	[10 <sup>9</sup> /L]	53.4	[%]
LYMPH	1.95	[10 <sup>9</sup> /L]	33.6	[%]
MONO	0.46	[10 <sup>9</sup> /L]	7.9	[%]
EO	0.27	[10 <sup>9</sup> /L]	4.6	[%]
BASO	0.03	[10 <sup>9</sup> /L]	0.5	[%]
IG	0.01	[10 <sup>9</sup> /L]	0.2	[%]
RBC	7.27 +	[10 <sup>12</sup> /L]		
HGB	145	[g/L]		
HCT	0.461	[L/L]		
MCV	63.4 -	[fL]		
MCH	19.9 -	[pg]		
MCHC	315	[g/L]		
RDW-CV	17.6 +	[%]		
RET		[%]		[10 <sup>9</sup> /L]
IRF		[%]		
RET-He		[pg]		
NRBC	0.00	[10 <sup>9</sup> /L]		
	0.0	[/100WBC]		
IPF		[%]		
PLT	239	[10 <sup>9</sup> /L]		
MPV	9.5	[fL]		
PDW	10.1	[fL]		
PCT	0.23	[%]		



# *Porucha syntézy DNA*

## Megaloblastové anémie

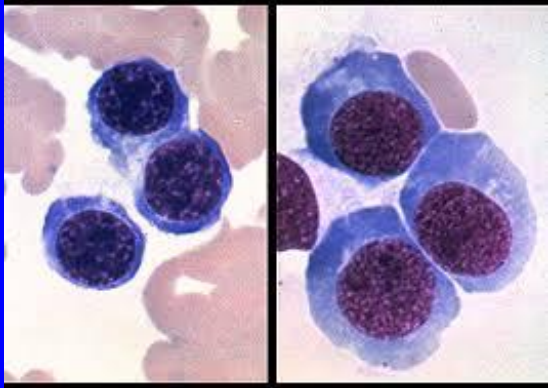
- KO: MCV  $>100\text{fl}$ , HGB až pod  $50\text{g/L}$ , vyšší RDW, snížení WBC, NE, PLT
- nátěr PK: makroovalocytóza, poikilocytóza, Cabotovy prstence, bazofilní tečkování, H.J. tělíška, NRBC, NE - hypersegmentace, větší buňky, větší laločnatost jader i u monocytů, velké až gigantické PLT
- nátěr KD: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

# Příklad KO s makrocytární anémií při MDS

Krevní obraz							
WBC	2.020	x10 <sup>9</sup> /l	(	4.000...	10.000)	VL	x<.(
RBC	1.61	x10 <sup>12</sup> /l	(	3.80...	5.20)	VL	x<.(
HGB	69.00	g/l	(	120.00...	160.00)	VL	x<.(
HCT	0.20	l/l	(	0.35...	0.46)	VL	x<.(
MCV	124.80	fl	(	84.00...	96.00)	VH	(
PLT	110.00	x10 <sup>9</sup> /l	(	150.00...	400.00)	VL	x<.(
MCH	42.90	pg	(	28.00...	34.00)	VH	(
MCHC	343.00	g/l	(	320.00...	360.00)		(
RDW	15.80	%	(	10.00...	15.20)	VH	(
MPV	12.70	fl	(	7.80...	11.00)	VH	(
NEU	27.20	%	(	45.00...	70.00)	VL	x<.(
LYM	55.40	%	(	20.00...	45.00)	VH	(
MONO	10.40	%	(	2.00...	12.00)		(
EOS	4.50	%	(	0.00...	5.00)		(
BASO	2.50	%	(	0.00...	2.00)	VH	(
NEU	0.550	x10 <sup>9</sup> /l	(	2.000...	7.000)	VL	x<.(
LYM	1.120	x10 <sup>9</sup> /l	(	0.800...	4.000)		(
MONO	0.210	x10 <sup>9</sup> /l	(	0.080...	1.200)		(
EOS	0.090	x10 <sup>9</sup> /l	(	0.000...	0.500)		(
BASO	0.050	x10 <sup>9</sup> /l	(	0.000...	0.200)		(
NRBC	0.00	x10 <sup>9</sup> /l	(	0.00...	0.00)		(
NRBC/WBC	0.00	/100WBC	(	0.00...	0.00)		(
NEU mikroskop.	28.00	%	(	47.00...	70.00)	VL	x<.(
TYcE mikroskop.	2.00	%	(	0.00...	4.00)		(
LYM mikroskop.	58.00	%	(	20.00...	45.00)	VH	(
MONO mikroskop.	4.00	%	(	2.00...	10.00)		(
EOS mikroskop.	2.00	%	(	0.00...	5.00)		(
BASO mikroskop.	6.00	%	(	0.00...	1.00)	VH	(
META mikroskop.	0.00	%	(	0.00...	0.00)		(
MYELO mikroskop.	0.00	%	(	0.00...	0.00)		(
PROMY mikroskop.	0.00	%	(	0.00...	0.00)		(
MYBLASTmikroskop	0.00	%	(	0.00...	0.00)		(
PROLY mikroskop.	0.00	%	(	0.00...	0.00)		(
PLAZMATICKEbunky	0.00	%	(	0.00...	0.00)		(
NEDIF. bunky	0.00	%	(	0.00...	0.00)		(
NEDIF. blasty	0.00	%	(	0.00...	0.00)		(
NRBC	0	/100WBC	(	0...	0)		(
LGL	0.040	x10 <sup>9</sup> /l	(	0.124...	0.332)	VL	x<.(
Hodnoceni RBC	hypochrom. ERY, makrocyty, oj. schistocyty, Howell-Jollyho teliska, oj. slzickovite, ovalocyty						

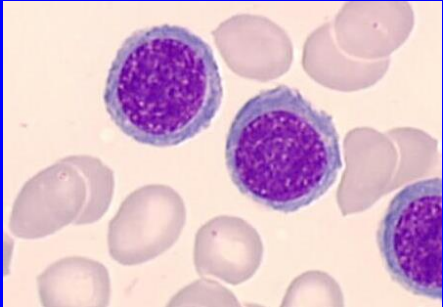
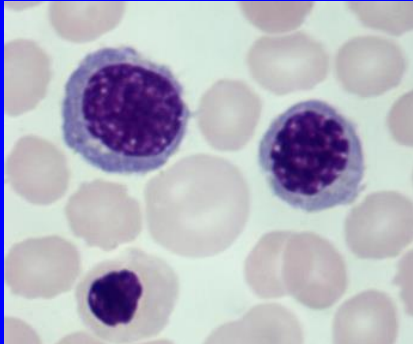
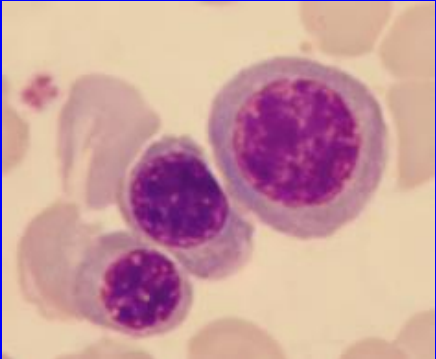
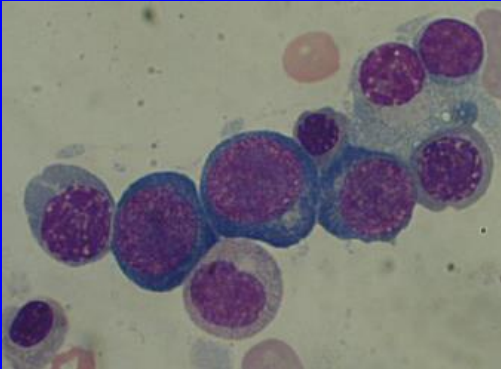


NRBC

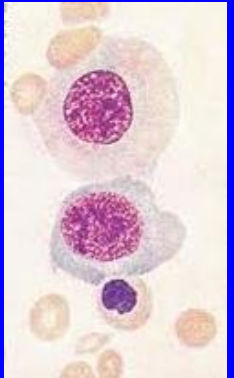
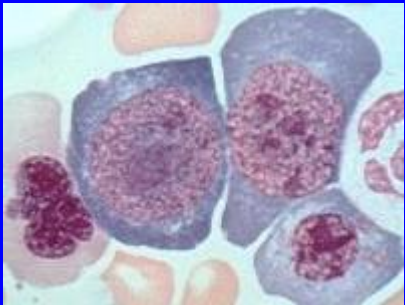
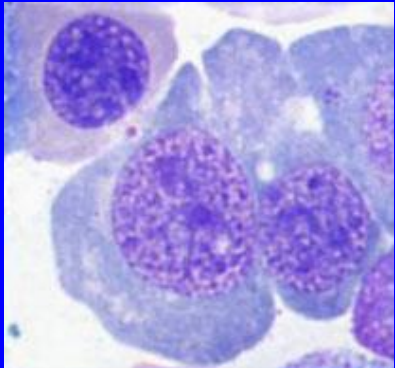
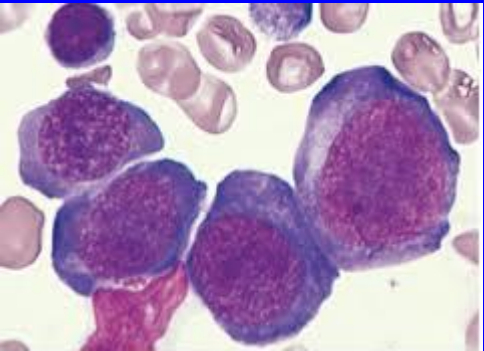


megaloblasty

normoblasty

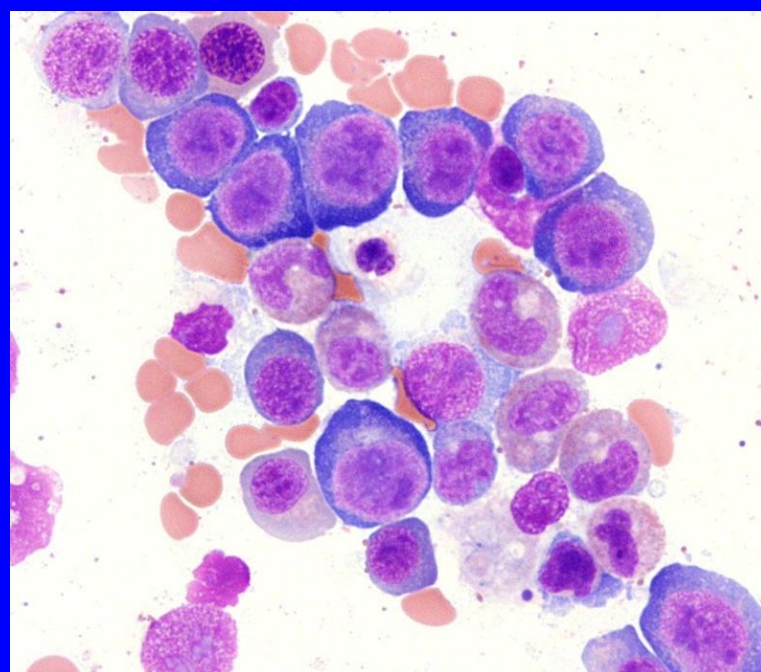
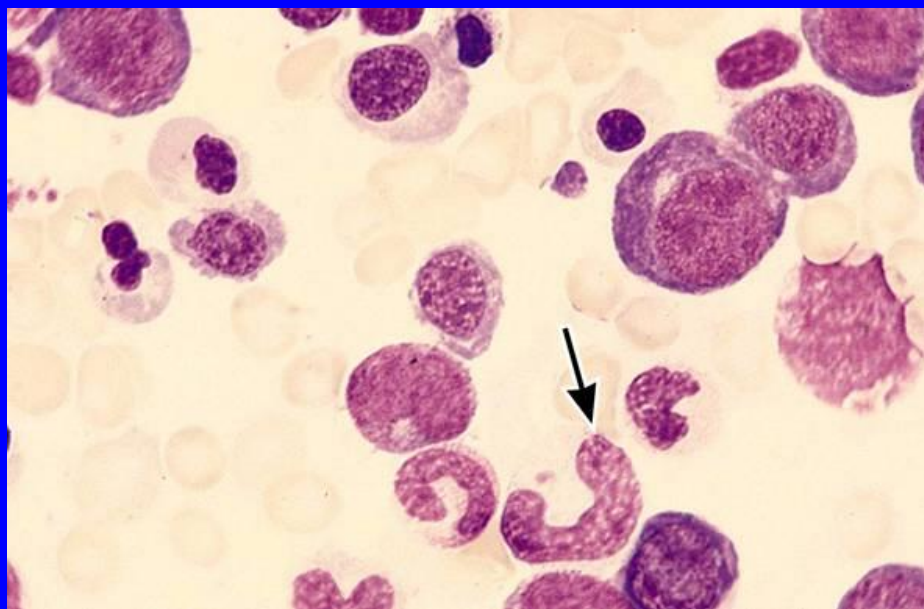
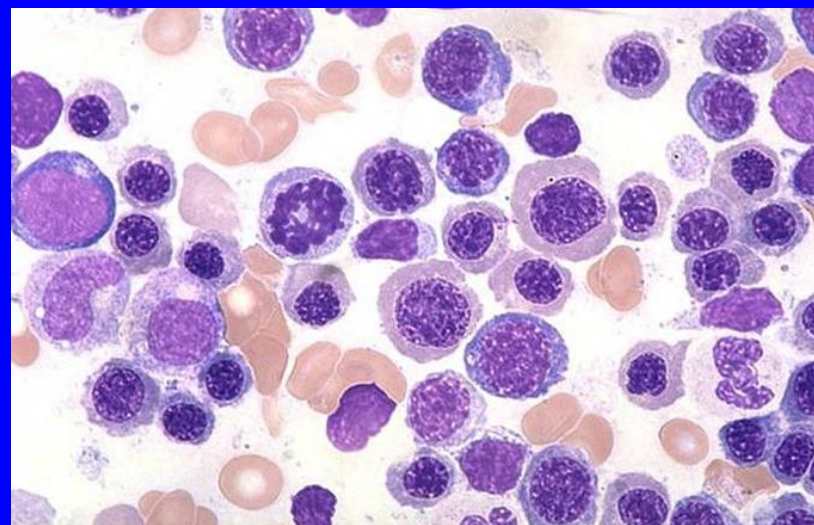
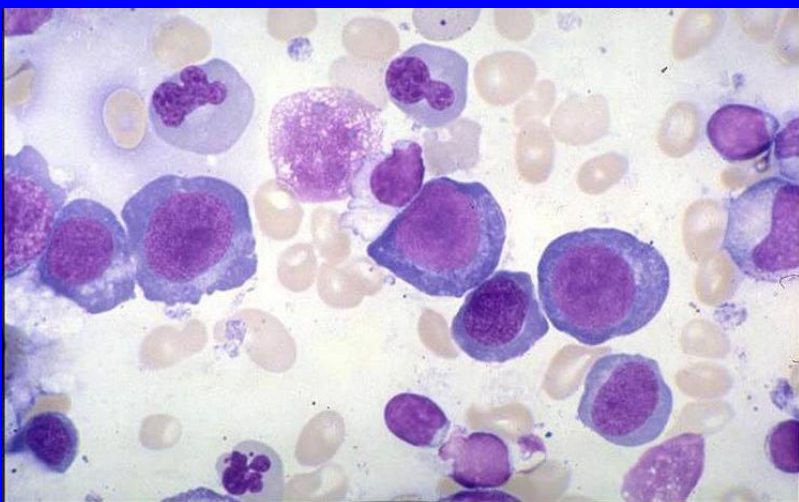


megaloblasty



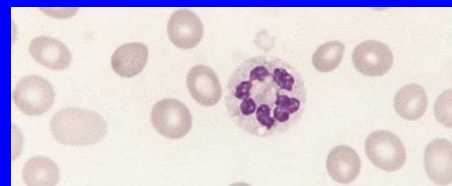
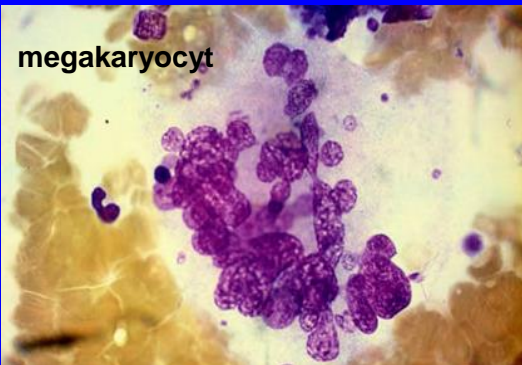
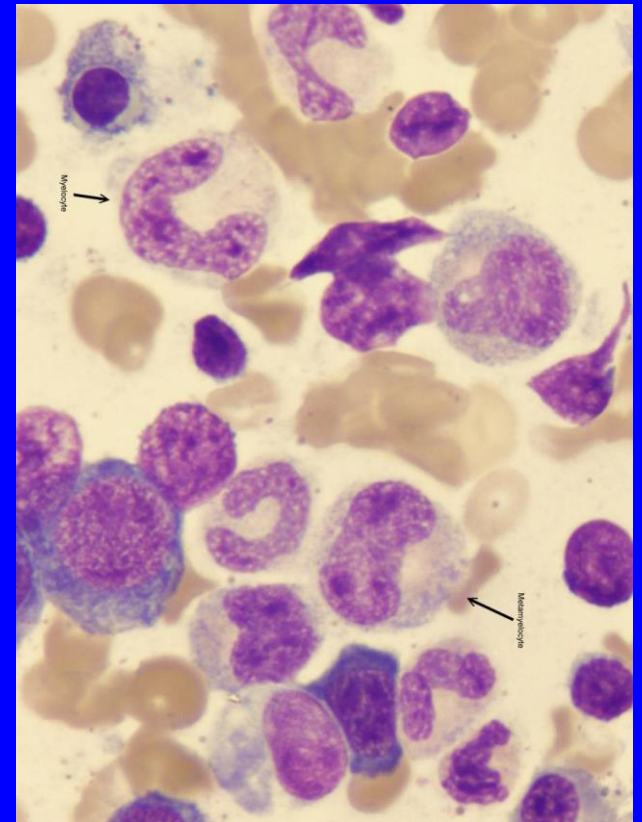
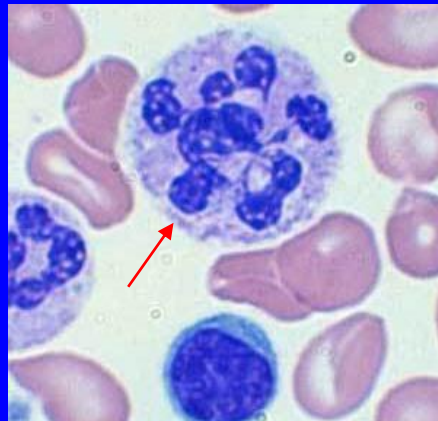
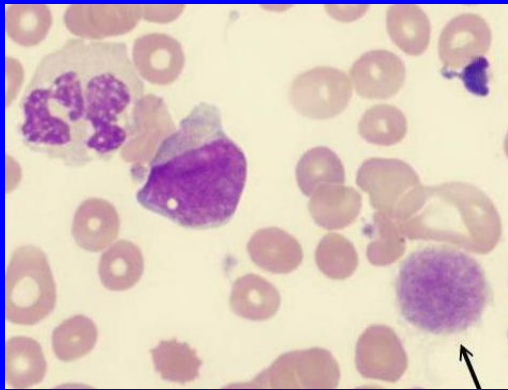
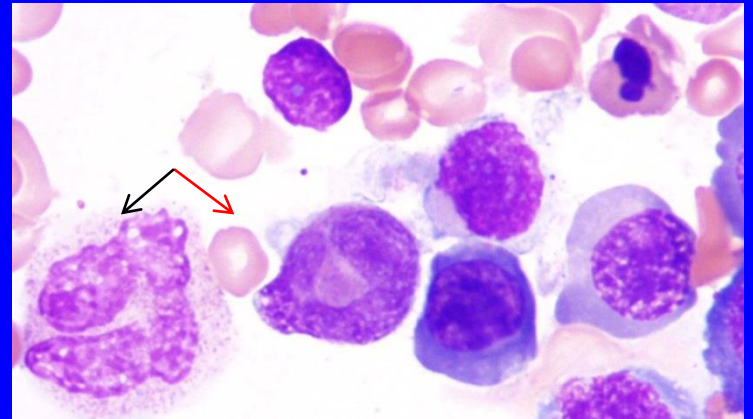
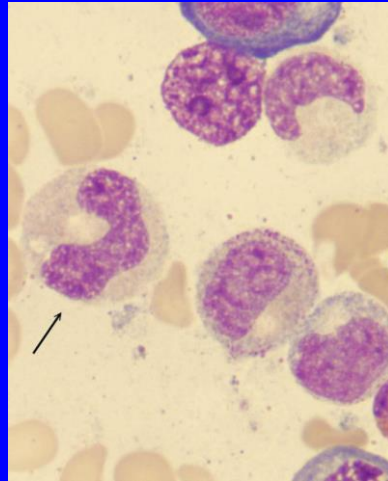
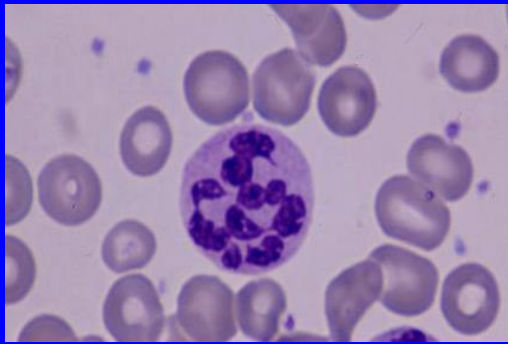


# Megaloblastová anémie



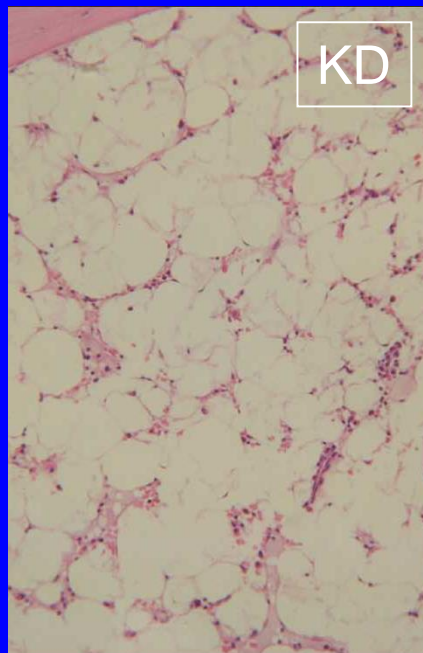
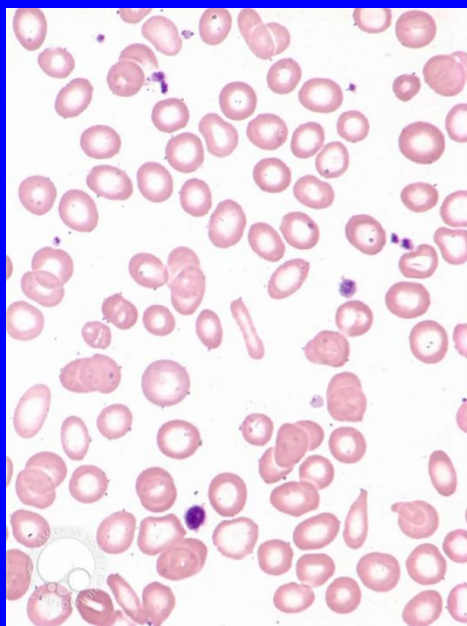
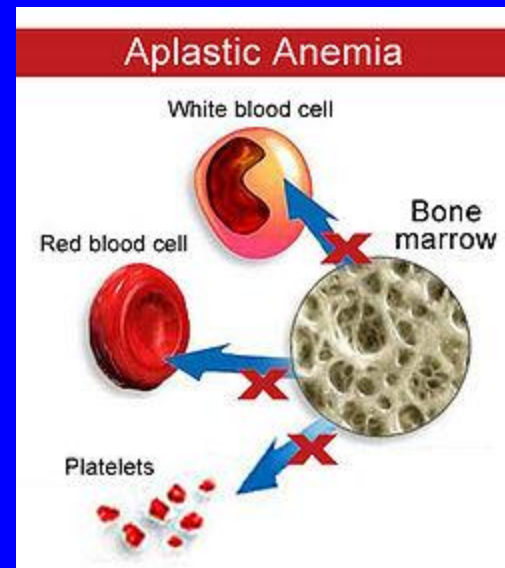


# Megaloblastová anémie



# Aplastické anémie - dřeňový útlum

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



WBC	<u>2.63</u>	10e9/L	WVF	<u>.996</u>
SEG	<u>.978</u>		%S	<u>37.1</u>
BAND	0.00		%BD	0.00
IG	0.00		%IG	0.00
BLST	0.00		%BL	0.00
MONE	.152		%Me	5.78
EOS	.005		%E	.190
BASO	.008		%B	.317
LYMe	1.49		%Le	<u>56.6</u>
VARL	0.00		%VL	0.00
RBC	<u>2.51</u>	10e12/L	RBCo	<u>2.50</u>
HGB	<u>74.1</u>	g/L	%MIC	<u>1.90</u>
HCT	<u>204</u>	L/L	%MAC	<u>.182</u>
MCV	<u>81.4</u>	fL	%HPO	---
MCH	29.6	pg	%HPR	---
MCHC	363.	g/L		
RDW	12.0	%CV		
HDW	---	%		
RETC	---	10e9/L	%R	---
IRF	---			
NRBC	0.00	10e9/L	NRW	0.00
MCVr	---	fL		
MChr	---	pg		
CHCr	---	g/L		
PLTo	<u>15.5</u>	10e9/L	PLTi	---
MPV	<u>7.70</u>	fL	CD61	---
PDW	<u>13.8</u>	10(GSD)	PLTs	---

# Dysplastické anémie

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

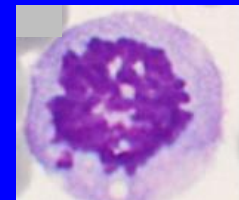
karyorexe – štěpení jader NRBC



interplazmatický můstek



mitóza



# *Anemie ze zvýšené ztráty erytrocytů*

Sledovat:

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



# Příklady krevních obrazů při ztrátě erytrocytů

## krváčivý stav schistocyty - 5

WBC	3.40	-	[10 <sup>9</sup> /L]
NEUT	1.66	-	[10 <sup>9</sup> /L]
LYMPH	1.50	-	[10 <sup>9</sup> /L]
MONO	0.09	-	[10 <sup>9</sup> /L]
EO	0.14	-	[10 <sup>9</sup> /L]
BASO	0.01	-	[10 <sup>9</sup> /L]

WBC IP Message

IG	0.02	[10 <sup>9</sup> /L]	0.6	[%]
----	------	----------------------	-----	-----

RBC	1.40	-	[10 <sup>12</sup> /L]
HGB	61	*	[g/L]
HCT	0.164	-	[L/L]
MCV	117.1	+	[fL]
MCH	43.6	*	[pg]
MCHC	372	*	[g/L]
RDW-CV	19.7	+	[%]

RBC IP Message

Anemia  
Turbidity/HGB Interf?

RET	1.61	[%]	22.5	[10 <sup>9</sup> /L]
IRF	9.1	[%]		
RET-He	43.6	[pg]		

NRBC	0.02	[10 <sup>9</sup> /L]
	0.6	[/100WBC]
IPF	5.9	[%]

PLT IP Message

Thrombocytopenia

PLT &F	56	-	[10 <sup>9</sup> /L]
MPV	10.8	[fL]	
PDW	14.3	[fL]	
PCT	0.06	-	[%]

WBC	31.65	+	[10 <sup>9</sup> /L]
NEUT			[10 <sup>9</sup> /L]
LYMPH			[10 <sup>9</sup> /L]
MONO			[10 <sup>9</sup> /L]
EO			[10 <sup>9</sup> /L]
BASO			[10 <sup>9</sup> /L]

WBC IP Message

IG			[10 <sup>9</sup> /L]	[%]
----	--	--	----------------------	-----

RBC	2.42	-	[10 <sup>12</sup> /L]
HGB	82	-	[g/L]
HCT	0.248	-	[L/L]
MCV	102.5	+	[fL]
MCH	33.9	[pg]	
MCHC	331	[g/L]	
RDW-CV	30.9	+	[%]

RBC IP Message

Anemia  
Fragments?

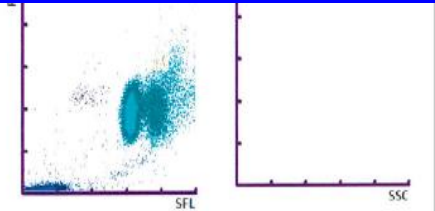
RET		[%]	[10 <sup>9</sup> /L]
IRF		[%]	
RET-He		[pg]	

NRBC	0.12	[10 <sup>9</sup> /L]
	0.4	[/100WBC]
IPF	23.6	[%]

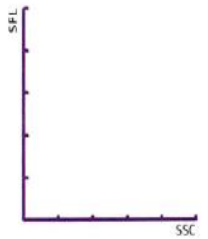
PLT IP Message

PLT Abn Distribution

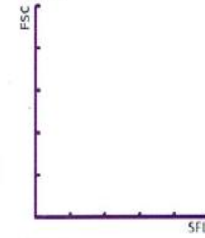
PLT &F	146	-	[10 <sup>9</sup> /L]
MPV	----	[fL]	
PDW	----	[fL]	
PCT	----	[%]	



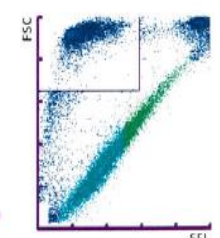
WPC



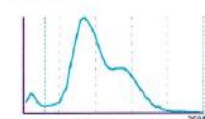
RET



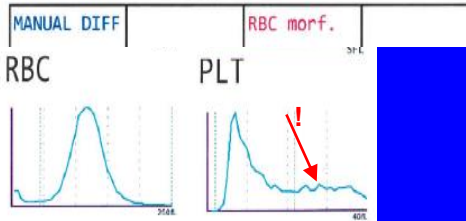
PLT-F



RBC



PLT



## krváčivý stav schistocyty - 60

MANUAL DIFF		RBC morf.	
-------------	--	-----------	--



# 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(Fe<sup>2+</sup>) v plazmě je stanoven fotometricky po jeho oxidaci na hemoglobin (Fe<sup>3+</sup>) a ten se potom pomocí kyanidu (CN<sup>-</sup>) 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.

- Klinický význam

snížená rezistence – dědiční sférocytóza

zvýšená rezistence – talasémie, polycytémie

# Osmotická rezistence

voda – kontrola  
(absolutní hemolýza)

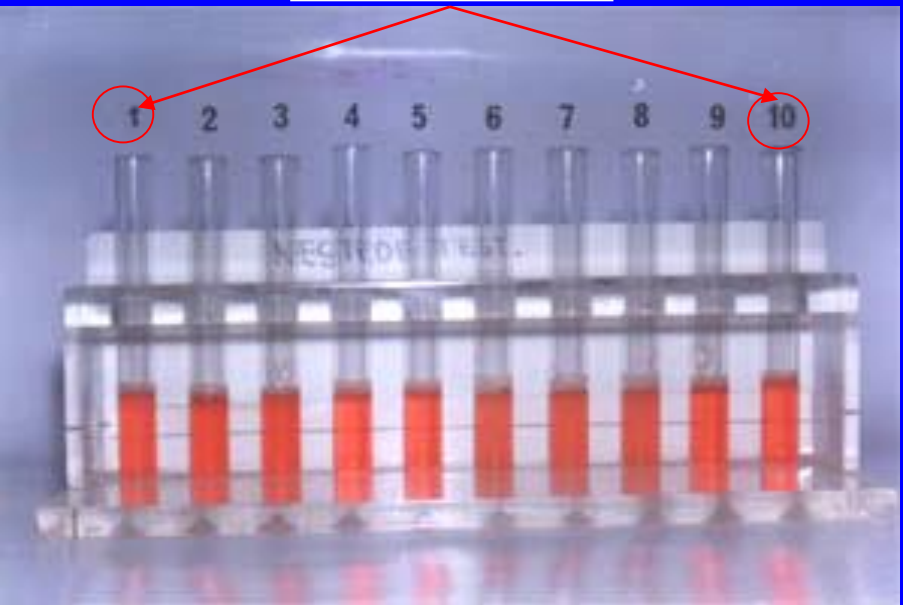
fyziologický  
roztok – kontrola  
(bez hemolýzy)

normální výsledek inkubace



příprava

kontrolní prostředí



← snížená rezistence

→ zvýšená rezistence

patologický výsledek inkubace

# Hemosiderin v moči

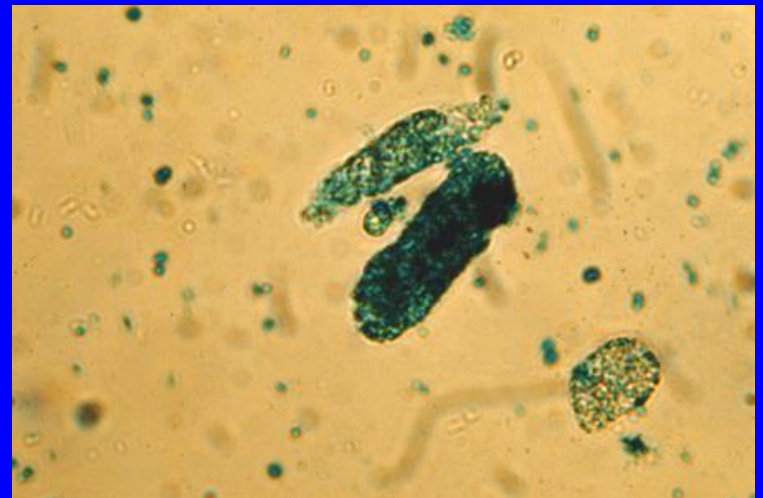
- Princip

$\text{Fe}^{3+}$  v hemosiderinu reaguje s kyselým roztokem ferrokyanidu draselného na ferrokyanid železitý, který vytváří krystalky berlínské modři.

- Hodnocení

přítomnost modrých krystalů v moči

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



# Hemoglobin F

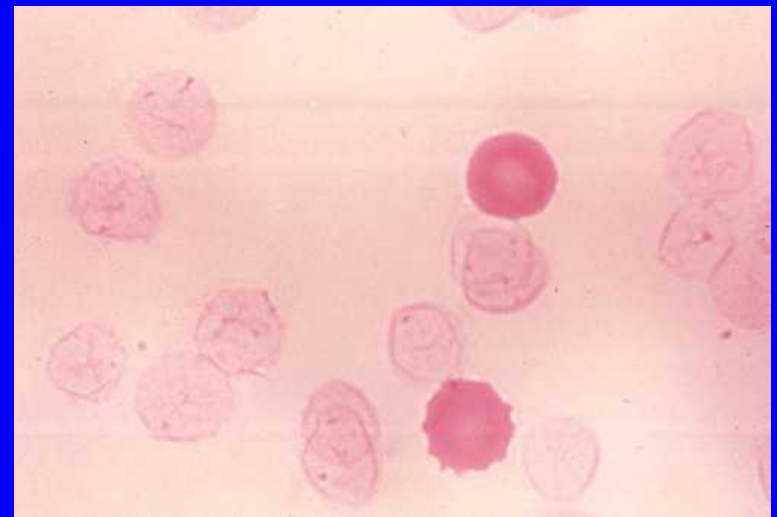
- Princip

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 erythrocytu zůstává. Zbylý hemoglobin F se potom barví a odečítá mikroskopicky.

- Hodnocení

procentuelní hodnocení sytě zbarvených erythrocytů

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





# Heinzova tělíška

- Princip

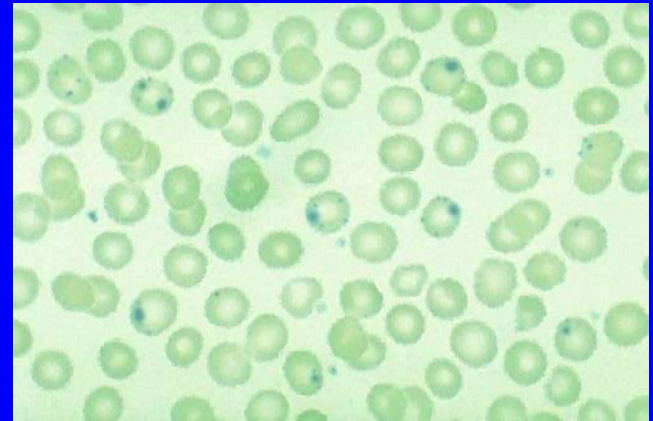
Heinzova tělíška znázorňují vysrážený degenerovaný hemoglobin v případě, že glykolytické enzymy erytrocytů nejsou schopny zabránit oxidaci hemoglobinové molekuly. Precipitáty se jeví jako jedno nebo více oválných tělísek v erytrocytech. Objevují se těsně u buněčné membrány, ke které přiléhají, barví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

- Hodnocení

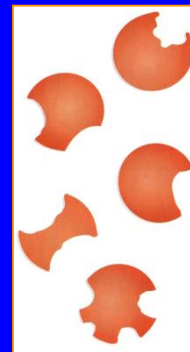
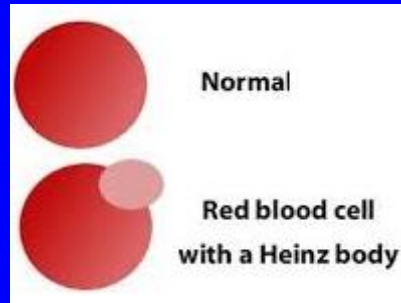
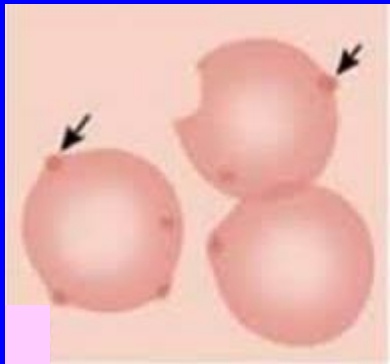
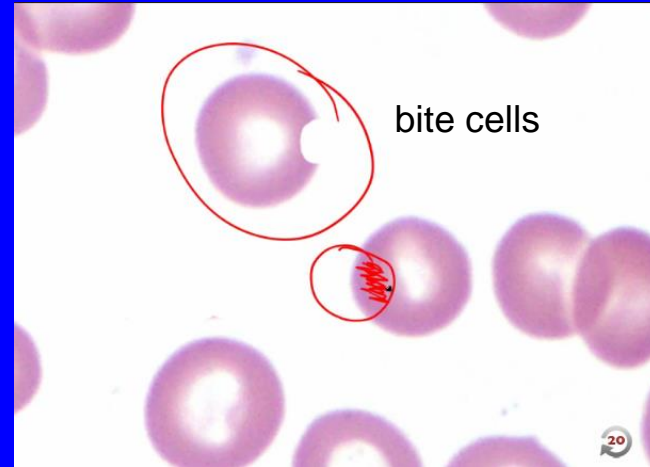
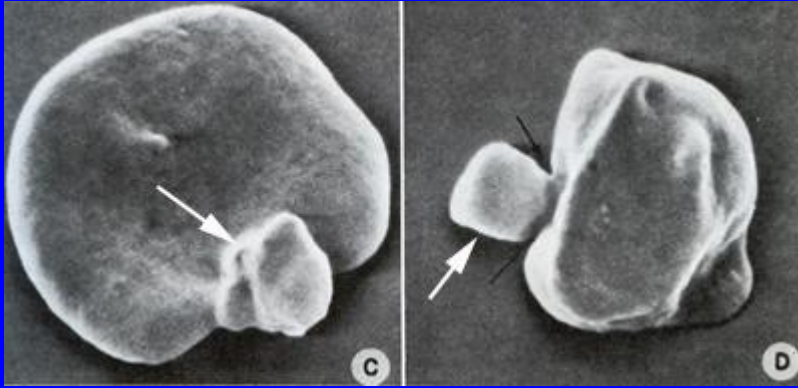
normální erytrocyty jsou negativní

- Klinický význam

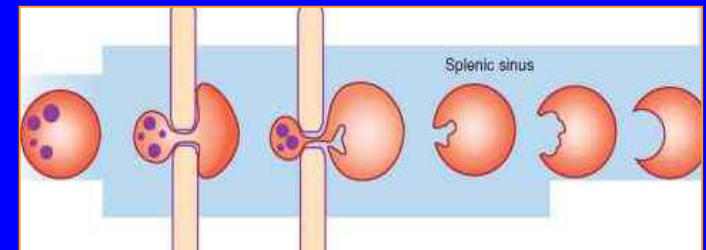
enzymové defekty (např. G-6-PDH), hemoglobinopatie, toxické HA, po splenektomii



# Heinzova tělíska



bite cells



# Autohemolýza

- Fotometrické vyšetření na principu stanovení volného hemoglobinu v plazmě.
  - Hodnocení spontánní hemolýzy ve třech prostředích po inkubaci 48 hodin:
    - fyziologický roztok – 0,9% NaCl (*hemolýza*)
    - fyziolog. roztok + glukóza (*↓ hemolýza u fyziologického vzorku*)
    - fyziolog. roztok + ATP (*↓ hemolýza u fyziologického vzorku*)
- Ke korekci hemolýzy nedochází při některých enzymopatiích a poruchách erytrocytární membrány.*

po 48 hodinách – fyziologický vzorek

0,9 % NaCl  
+  
RBC

0,9 % NaCl  
+  
glukóza  
+  
RBC

0,9 % NaCl  
+  
ATP  
+  
RBC

po 48 hodinách – patologický vzorek

0,9 %  
NaCl  
+  
RBC

0,9 %  
NaCl  
+  
glukóza  
+  
RBC

0,9 %  
NaCl  
+  
ATP  
+  
RBC