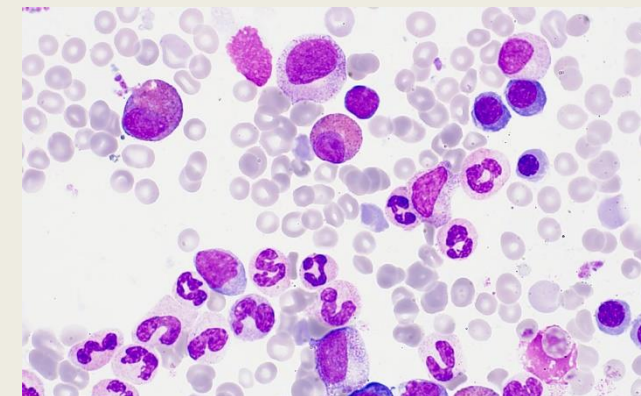


Laboratorní diagnostika – morfologie

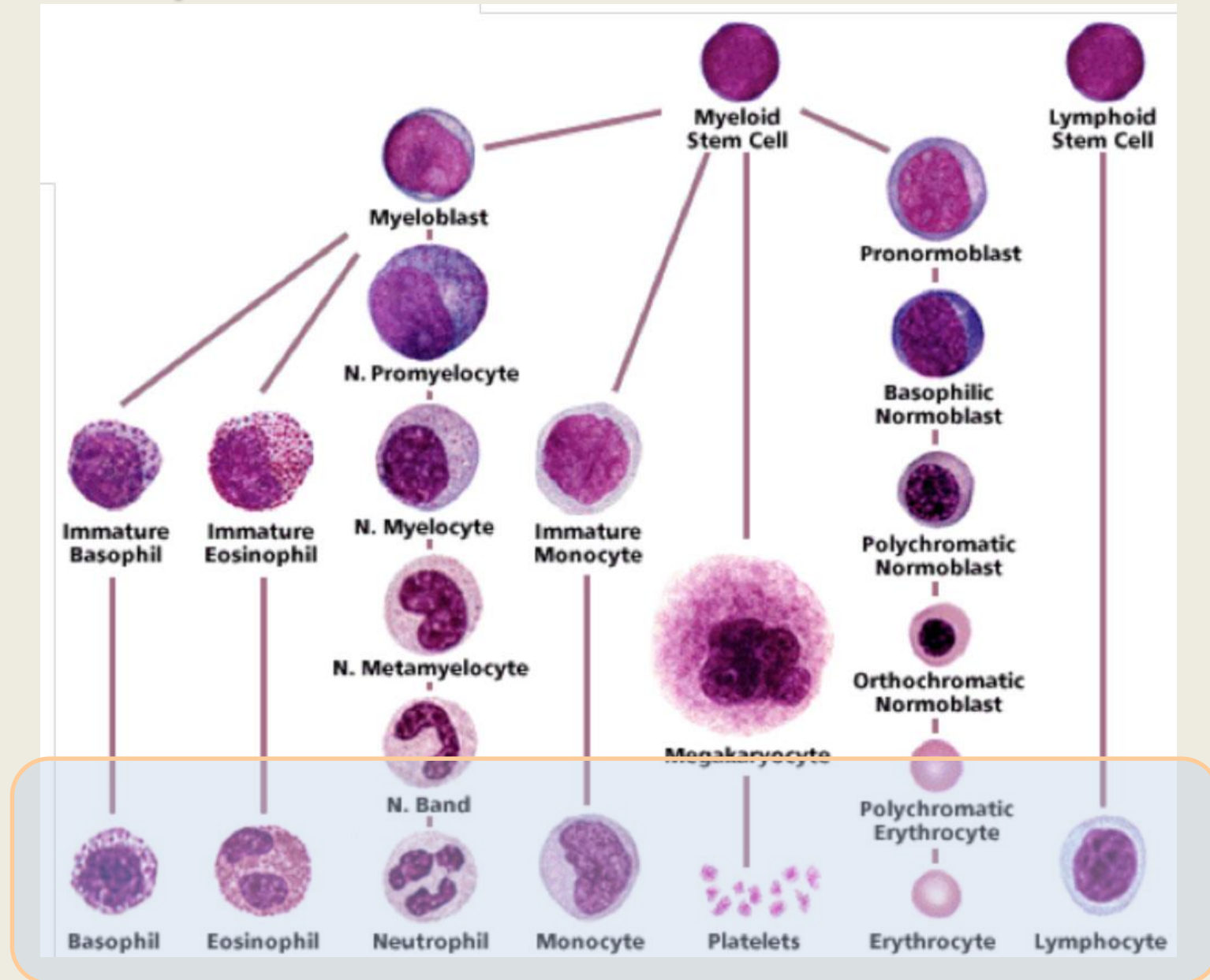
LF:EMKH0611p Klinická hematologie
Studijní program Embryolog

Oddělení klinické hematologie
Fakultní nemocnice Brno

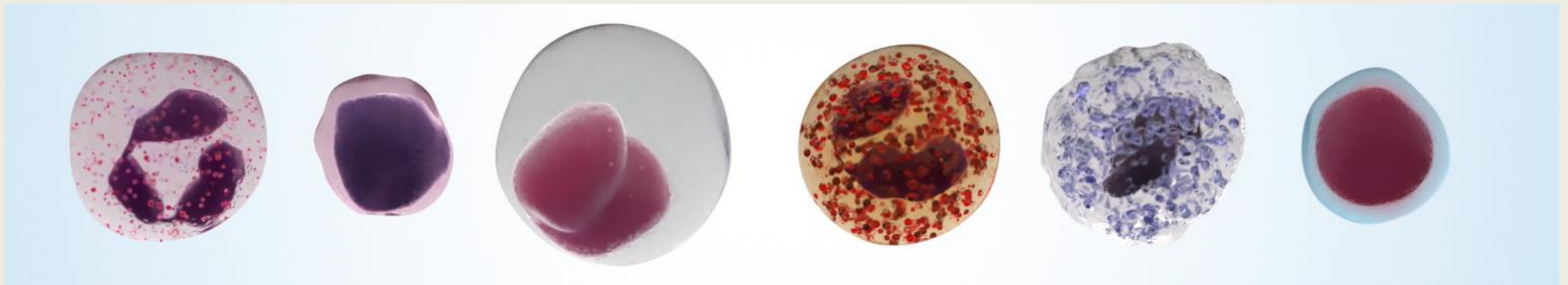
RNDr. Soňa Vytisková, Ph.D.



Hematopoeza



Morfologické vyšetření periferní krve

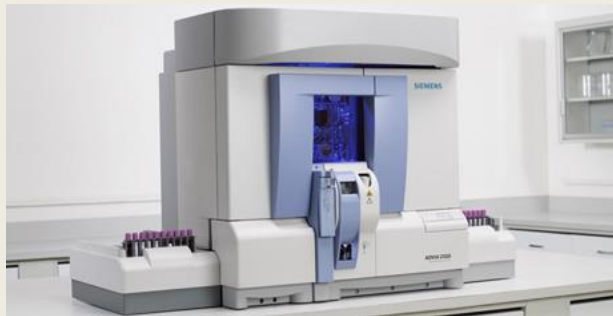


Vyšetření krevního obrazu a diferenciálního rozpočtu leukocytů

- jedno ze základních vyšetření pro diagnostiku a sledování léčby řady onemocnění
- krevní obraz je komplexní soubor výsledků, které spolu úzce souvisí
- analýza se provádí na hematologických analyzátoch
- vyšetření se provádí z nesrážlivé periferní krve, jako protisrážlivé činidlo se do odběrových zkumavek používá standardně K_3EDTA , K_2EDTA nebo Na_2EDTA

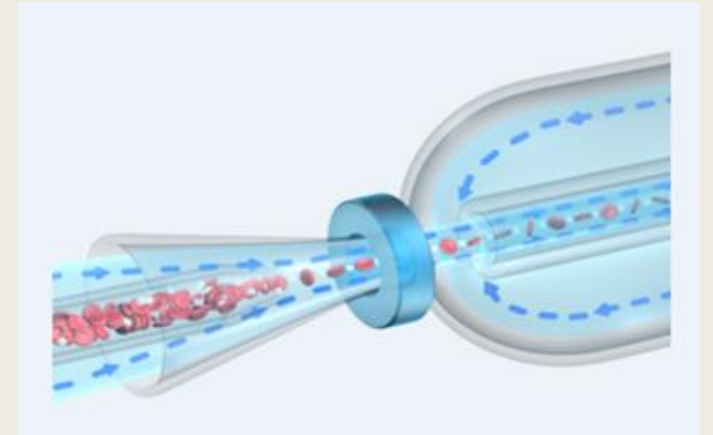
Hematologické analyzátory

- každý má svá jedinečná specifika
- základní principy měření:
 - Impedanční analýza (vodivý roztok + nevodivá buňka)
 - Optická analýza (opticky inaktivní roztok + opticky aktivní buňka)
 - Absorbční spektrofotometrie (stanovení množství hemoglobinu)
- z měření získáváme informace o:
 - počtu buněk (kvantitativní analýza)
 - velikosti, tvaru a složení buňky (kvalitativní analýza)
- principy měření mohou být na jednotlivých analyzátorech různě kombinovány
- různé kombinace pak umožňují různě přesnou kvantitativní i kvalitativní analýzu všech prošlých buněčných elementů



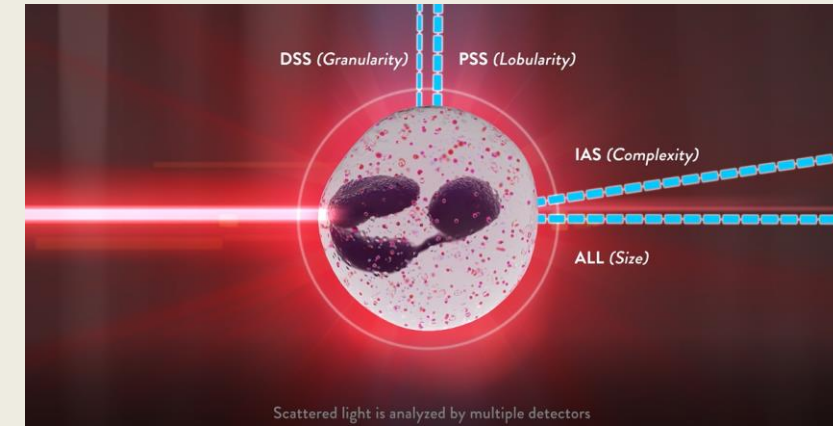
Impedanční analýza

- je založena na měření změny elektrického odporu (impedance) při průchodu jednotlivých buněk v průtokové měřící kyvetě mezi dvěma elektrodami
- mezi elektrodami je standardní vodivost, při průchodu buňky aperturou se vodivost změní → impedanční impulz (odpor)
- četnost impulzu → počet buněk
velikost impulzu → velikost buňky
- využívá se hydrodynamická fokusace:
unášení jednotlivých buněk proudem kapaliny
- měření může být doplněno například vysokofrekvenční analýzou: na stejnosměrné elektrické pole → superponováno vysokofrekvenční elektrické pole → pronikne cytoplazmou → pak se změří vysokofrekvenční vodivost buňky → ta odpovídá její fyzikálněchemické struktuře (*kvalitativní analýza buňky*)

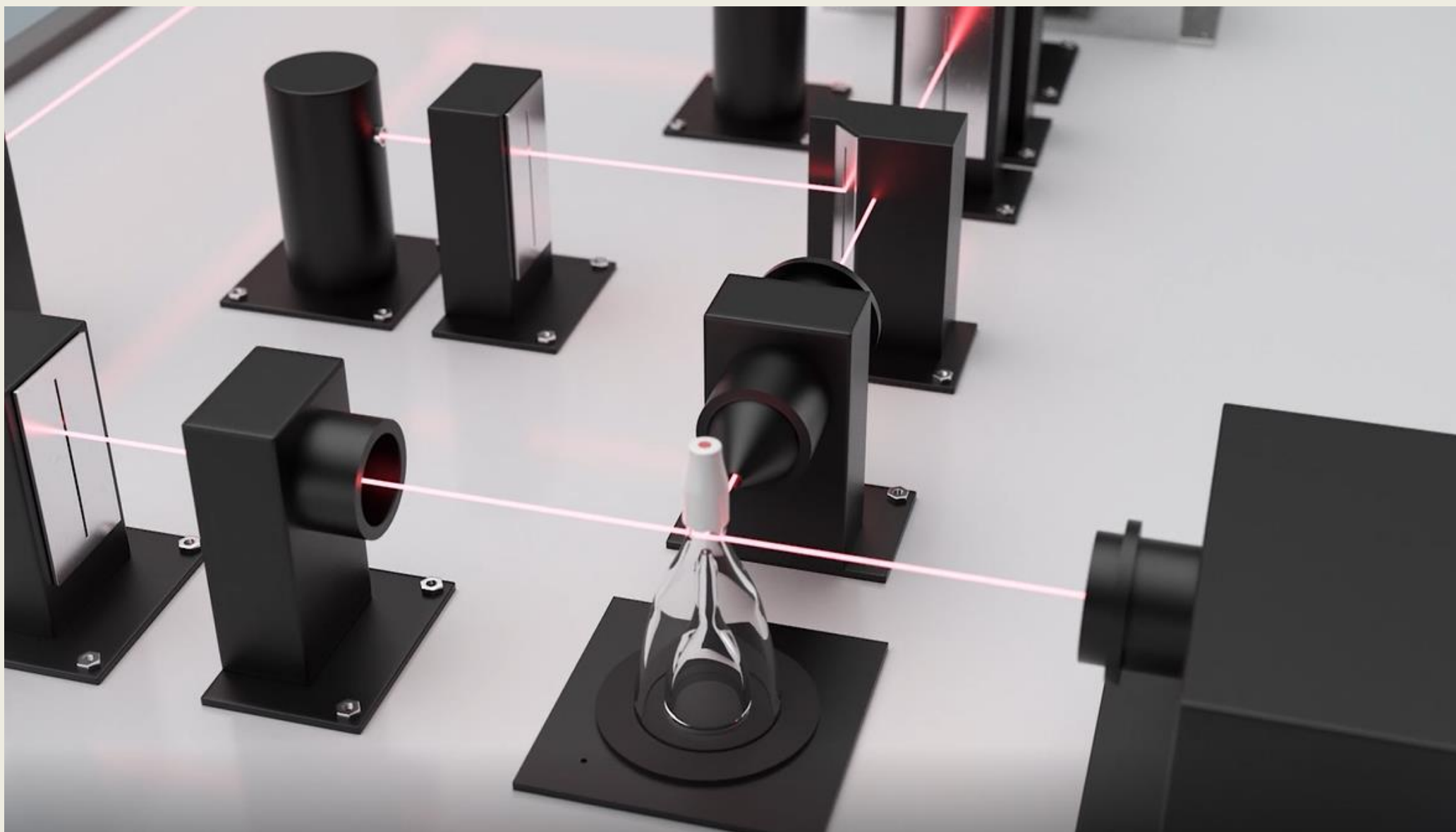


Optická analýza

- využívá se **průtoková cytometrie**:
(spolu s hydrodynamickou fokusací)
 - každá buňka je ozářena monochromatickým laserovým paprskem
 - po interakci buňky s paprskem se provádí analýza
 - analyzuje se samostatně každá buňka v suspenzi
- detekuje se světlo:
 - prošlé (detekce paprsku ve směru 0° poskytuje informace o počtu a velikosti jednotlivých prošlých buněk)
 - odražené a depolarizované (detekce paprsku v různých úhlech slouží k detekci tvaru a velikosti buňky, jádra a granularity cytoplazmy)
 - fluorescence (barvení buňky speciálními barvami → ozáření buňky laserovým paprskem → detekce emitovaného světla), detekce DNA, RNA



Optická analýza



Fyziologické hodnoty KO – dospělí (referenční intervaly)

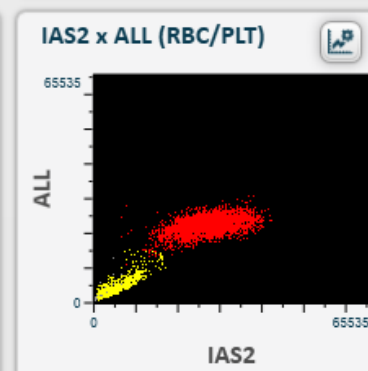
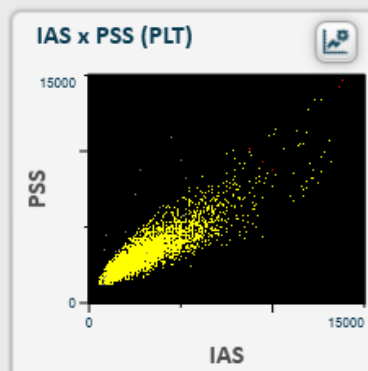
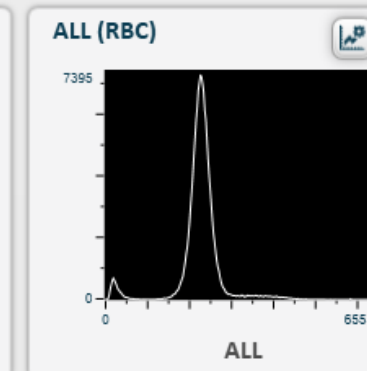
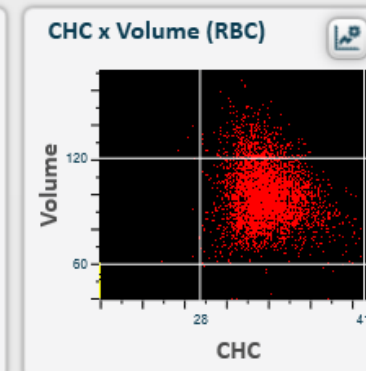
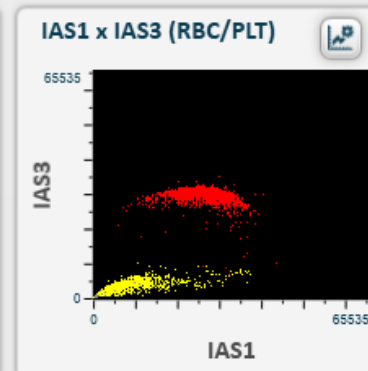
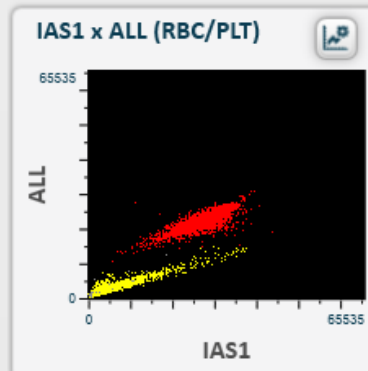
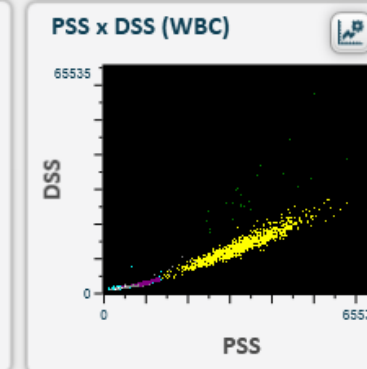
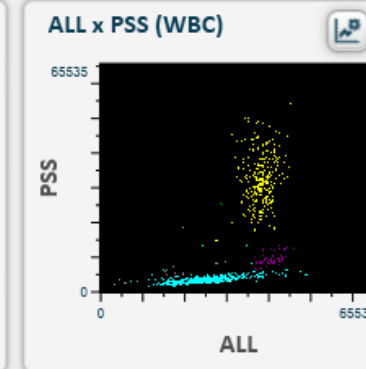
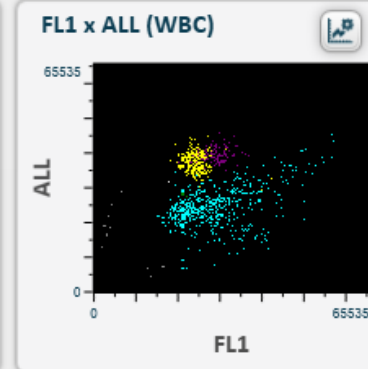
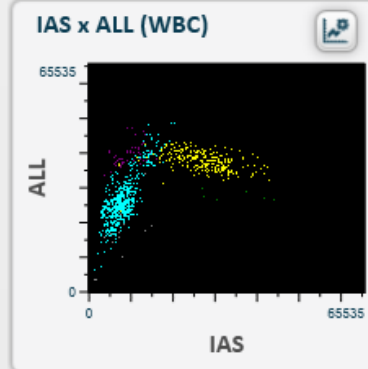
Parametr	zkratka	rozmezí	jednotka
Leukocyty	WBC/LEU	4,0 - 10,0	x10⁹/l
Neutrofilly	NEU#	2,0 - 7,0	x10 ⁹ /l
Lymfocyty	LY#	0,8 - 4,0	x10 ⁹ /l
Monocyty	MONO#	0,08 - 1,2	x10 ⁹ /l
Eozinofily	EO#	0 - 0,5	x10 ⁹ /l
Bazofily	BAZO#	0 - 0,2	x10 ⁹ /l
Neutrofilly	NEU	45 - 70	%
Lymfocyty	LY	20 - 45	%
Monocyty	MONO	2 - 12	%
Eozinofily	EO	0 - 5	%
Bazofily	BAZO	0 - 2	%
Trombocyty	PLT	150 - 400	x10⁹/l
Střední objem PLT	MPV	7,8-12,8	fl
Destičkový hematokrit	PCT	1,2-3,5	ml/l
Distribuční šíře PLT	PDW	12 - 18	%

Parametr	zkratka	rozmezí	jednotka
Erytrocyty	RBC/ERY	Ž 3,8 - 5,2 M 4,0 - 5,8	x10¹²/l
Hemoglobin	HBG	Ž 120 - 160 M 135 - 175	g/l
Hematokrit	HCT	Ž 0,35 - 0,47 M 0,40 - 0,50	
Střední objem ERY	MCV	82 - 98	fl
Střední obsah HGB	MCH	28 - 34	pg
Střední konc. HGB	MCHC	320 - 360	g/l
Distribuční šíře ERY	RDW	10,0 - 15,2	%CV
Retikulocyty	RETI#	25 - 100	x10 ⁹ /l
Retikulocyty	RETI	0,5 - 2,5	%
Retikulocytární HGB	RET-HE	28 - 35	pg
Nezralá frakce RETI	IRF	0 – 0,3	
Normoblasty	NRBC#	0 - 0,015	x10 ⁹ /l
Normoblasty	NRBC	0 - 0,1	/100 LEU

Ukázka výsledku KO v analyzátoru

WBC	6.69	10e9/L	
WVF	.857		
NEU	1.90	10e9/L	
LYM	3.95	10e9/L	VAR LYM
MONO	.765	10e9/L	BLAST
EOS	.032	10e9/L	
BASO	.006	10e9/L	
IG	0.04	10e9/L	
%N	28.4	%	
%L	59.1	%	
%M	11.4	%	
%E	.481	%	
%B	.084	%	
%IG	.595	%	
NRBC	0.00	10e9/L	
NR/W	0.00	%	

RBC	4.73	10e12/L
HGB	152.	g/L
HCT	.477	L/L
MCV	101.	fL
MCH	32.1	pg
MCHC	318.	g/L
RDW	14.5	%CV
%MIC	.348	%
%MAC	10.6	%
%HPO	.176	%
%HPR	.264	%
HDW	5.21	%
CHCM	333.	g/L
cHGB	159.	g/L
PLT	176.	10e9/L
MPV	5.90	fL
PDW	16.9	10(GSD)
PCT	1.04	mL/L



Ukázka výsledků KO v LIS

Metoda	21.3.23 06:00 41 / OKBH	20.3.23 06:00 26 / OKBH	19.3.23 06:00 26 / OKBH	18.3.23 06:00 25 / OKBH	17.3.23 06:00 43 / OKBH	16.3.23 06:00 33 / OKBH	15.3.23 06:00 46 / OKBH	14.3.23 06:00 3 / OKBH	13.3.23 06:00 5 / OKBH	11.3.23 06:00 12 / OKBH	10.3.23 06:00 31 / OKBH	9.3.23 06:05 27 / OKBH	8.3.23 18:29 193 / OKBH
LEU	19,22	21,39	23,65	24,33	24,35	24,40	21,86	28,65	26,62	18,32	22,06	28,95	43,00
ERY	3,65	3,62	3,59	3,54	3,48	3,48	3,54	4,06	3,95	4,06	4,11	4,72	5,05
HB	106,7	112,1	108,5	106,2	105,3	106,3	106,6	119,0	123,7	120,9	125,3	146,5	148,4
HT	0,32	0,32	0,32	0,31	0,31	0,31	0,31	0,36	0,34	0,35	0,35	0,40	0,44
MCV	87,3	88,5	88,7	88,1	88,8	89,1	88,7	87,7	85,9	87,2	85,6	83,8	86,4
MCH	29,2	30,9	30,3	30,0	30,3	30,5	30,2	29,3	31,3	29,8	30,5	31,0	29,4
MCHC	335,0	349,5	341,2	340,3	341,4	342,6	340,1	334,4	364,6	341,5	355,8	370,2	340,2
RDW	13,2	12,5	12,5	12,8	12,7	12,8	12,7	12,8	11,7	11,8	11,4	10,7	11,4
TROMBO	787,8	780,8	658,7	613,3	483,0	415,8	391,0	459,4	414,8	454,5	448,6	469,9	553,7
MPV	5,9	6,0	6,0	6,3	6,6	6,8	7,4	7,3	7,4	7,8	7,6	8,1	7,9
SEGA	13,31	15,67	17,34	18,21	19,05	18,99	17,70	23,38	21,57	15,42	18,76	26,51	39,36
LYA	3,68	3,63	3,40	2,88	2,54	2,42	2,17	2,78	2,16	1,80	1,87	1,20	1,31
MONOA	1,33	1,37	2,36	2,58	2,17	1,90	1,19	1,47	1,78	0,89	1,35	1,17	2,07
EOA	0,71	0,58	0,37	0,46	0,42	0,97	0,71	0,90	0,94	0,14	0,01	0,02	0,00
BASOA	0,19	0,14	0,18	0,20	0,17	0,12	0,09	0,12	0,18	0,07	0,07	0,06	0,26
SEG	0,69	0,73	0,73	0,75	0,78	0,78	0,81	0,82	0,81	0,84	0,85	0,92	0,92
LY	0,19	0,17	0,14	0,12	0,10	0,10	0,10	0,10	0,08	0,10	0,08	0,04	0,03
MONO	0,07	0,06	0,10	0,11	0,09	0,08	0,05	0,05	0,07	0,05	0,06	0,04	0,05
EO	0,04	0,03	0,02	0,02	0,02	0,04	0,03	0,03	0,04	0,01	0,00	0,00	0,00
BASO	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01

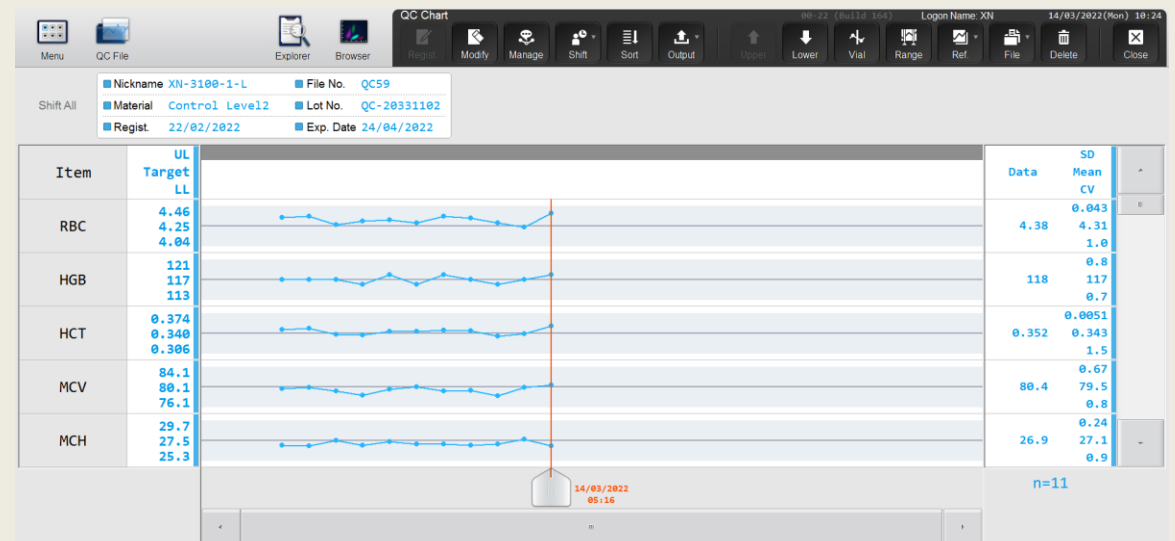
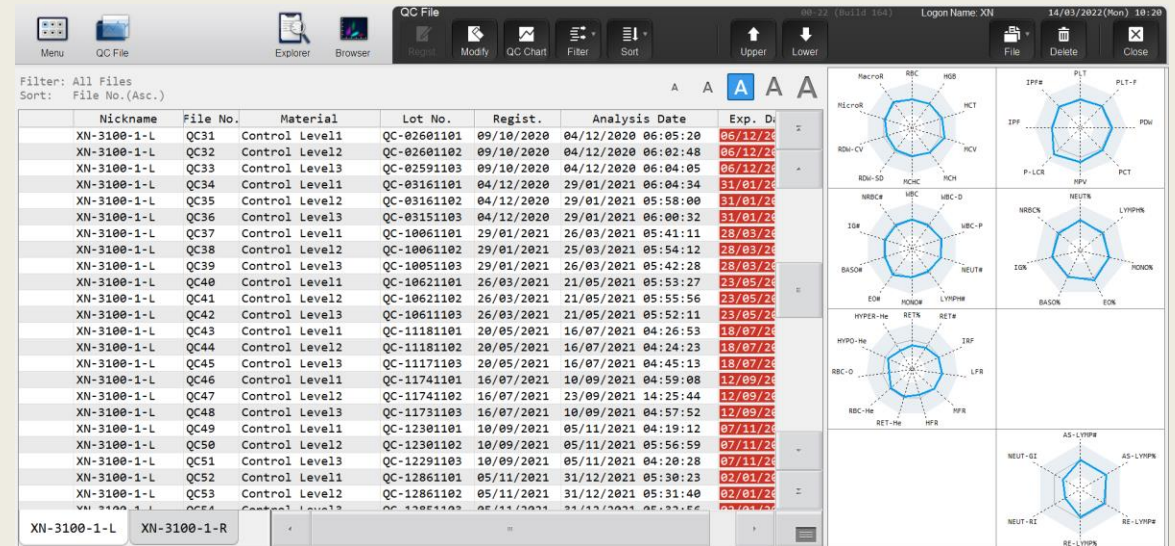
Ukázka výsledku KO v NIS

(*) (vytisson)		(c.dokl.:*)=							
Vyšetření	Jedn.	2023 27.03 05:30	2023 26.03 05:30	2023 25.03 05:30	2023 24.03 05:30	2023 23.03 05:30	2023 21.03 05:30	2023 20.03 05:30	2023 19.03 05:30
Retikulocyty	%				1.52	1.37			
Retikulocyty	10 ⁹ /l				51.1	52.1			
Nezralé retikuloc>					0.171	0.126			
Množství HGB v RE>	pg				31.9	32.7			
Leukocyty	10 ⁹ /l	7.03	4.66	2.65	1.99	4.06	5.01	5.03	5.14
Erytrocyty	10 ¹² >	3.25	3.29	3.24	3.36	3.8	3.01	3.06	3.01
Hemoglobin	g/l	96.8	96	95	99	111	89	90	88
Hematokrit	l/l	0.28	0.28	0.28	0.29	0.33	0.28	0.28	0.27
Střední objem ERY	fL	86.7	86.3	88	86	87.6	91.4	92.2	89
Trombocyty	10 ⁹ /l	279	294	279	306	364	384	355	358
Množství HGB v ERY	pg	29.8	29.2	29.3	29.5	29.2	29.6	29.4	29.2
Koncentr. HGB v E>	g/l	343	338	333	343	333	324	319	328
Střední objem tro>	fl	10.8	10.5	11	10.2	10	10.4	10.4	10.4
Šíře distribuce E>	%	14.6	13.9	14.1	14.3	14.2	14.5	14.7	14.8
Neutrofily %	%	48.71	48.5	44.1	33.6	82.9			
Lymfocyty %	%	17.7	21.7	23.4	30.7	6.7			

F2 Podrobně F7 F8 PgUp PgDn Pohyb Esc Přeruš Tisk V Vyp/Zap

Kontroly KO

- pravidelná kontrola KO i dif
- kontrola pravdivosti a preciznosti (firemní materiál)
- porovnatelnost (metodik, přístrojů, laboratoří.....)
- správná údržba přístroje (kontroly po údržbě)
- specifická pravidla pro daný analyzátor:
 - princip měření
 - rozsah hodnot měřených parametrů (linearita)
 - hlášení přístroje
 - měřený / počítaný parametr, grafy



Hodnocení KO

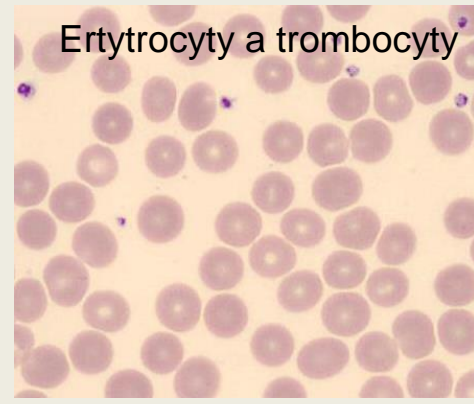
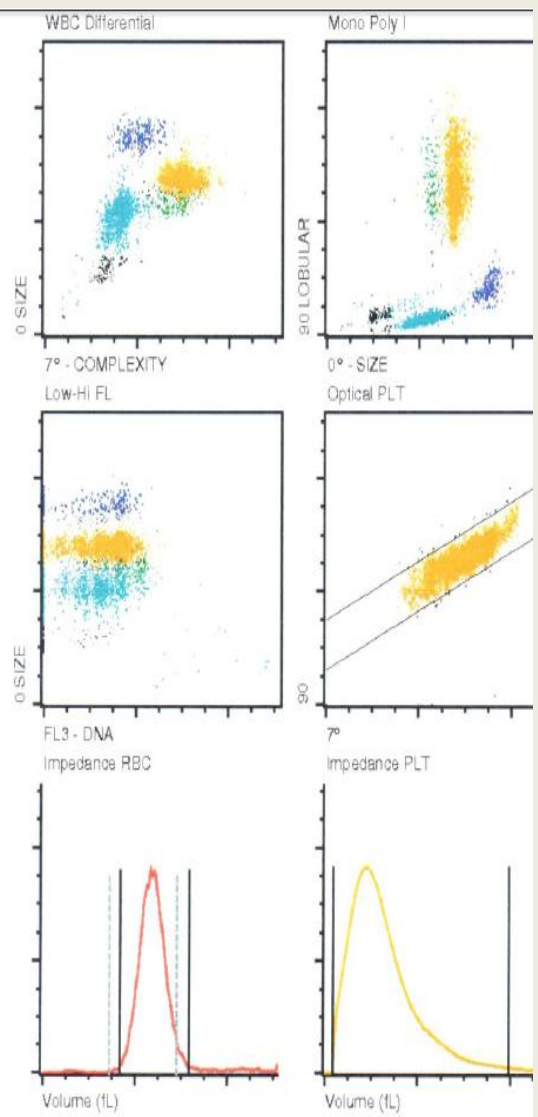
- **numerické výsledky**
- **grafické výsledky (scattergramy, histogramy)**
- **hlášení analyzátoru**
 - případná kontrola mikroskopem
 - vyšetření poprvé / opakovaně
 - typ diagnózy
 - pacient: ambulantní, lůžkové odd., JIP...
 - vyšetření rutinní, statimové, speciální, vitální indikace
 - výsledky jsou mimo referenční rozmezí
 - náhlé změny v KO
 - interference
 - patologická hlášení
 - správný odběr, typ vyšetřovaného materiálu

Fyziologický vzorek

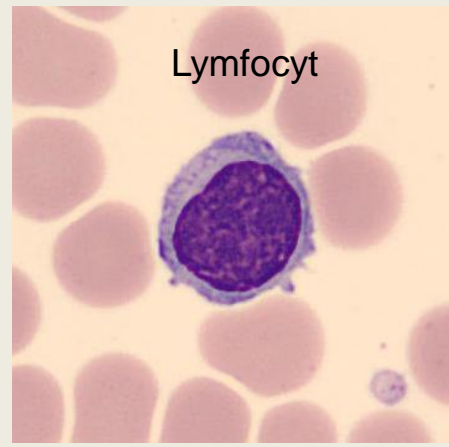
Sex: F
 Doctor: 0717/27/06/2013
 User Defined A:
 User Defined B:
 User Defined C:
 User Defined D:

X-B In	WBC In	RBC In	PLT In	RETC In	WVF	%S	%BD	%IG	%BL	%Me	%E	%B	%Le	%VL	RBCo	%MIC	%MAC	%HPO	%HPR	%R	NR/W	PLTI	CD61	PLTs	PLTI
WBC	7.36	10e9/L			.991	54.0	0.00	0.00	0.00	6.11	4.06	.318	35.5	0.00	4.22	.661	3.87	---	---	---	---	---	---	---	---
SEG	3.97																								
BAND	0.00																								
IG	0.00																								
BLST	0.00																								
MONe	.450																								
EOS	.299																								
BASO	.023																								
LYMe	2.61																								
VARL	0.00																								
RBC	4.13	10e12/L			4.22																				
HGB	138.	g/L			.661																				
HCT	.406	L/L			3.87																				
MCV	98.4	fL			---																				
MCH	33.5	pg			---																				
MCHC	341.	g/L			---																				
RDW	11.4	%CV			---																				
HDW	---	%			---																				
RETC	---	10e9/L			%R	---																			
IRF	---				---																				
NRBC	0.00	10e9/L			NR/W	0.00																			
MCVr	---	fL			---																				
MChr	---	pg			---																				
CHCr	---	g/L			---																				
PLTo	319.	10e9/L			PLTI	308.																			
MPV	8.03	fL			CD61	---																			
PDW	15.8	10(GSD)			PLTs	---																			
PCT	2.56	m/L/L			PLTI	---																			
%iP	---	%																							

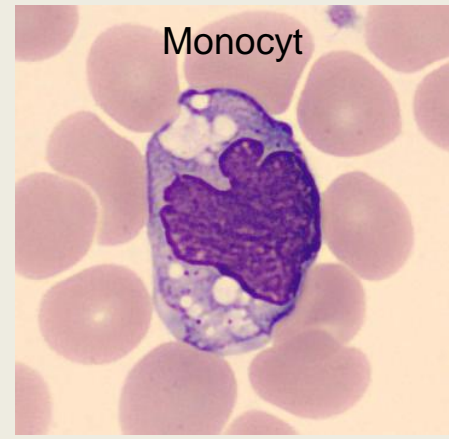
Manual Differential	RBC Morphology
SEG	META NORMAL MICRO
BAND	MYELO POLYGH MACRO
LYMPH	PRO HYPOGH ANISO
MONO	BLAST POIK BASOSTIP
EOSIN	VAR LYM TARGET
BASO	TOXGRAN SPHERO NRBC
PLT EST	PLT MORPH



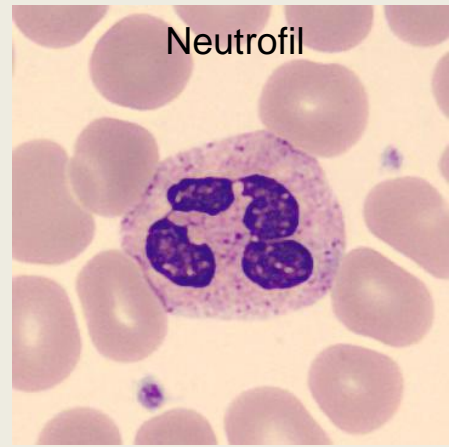
Erythrocyty a trombocyty



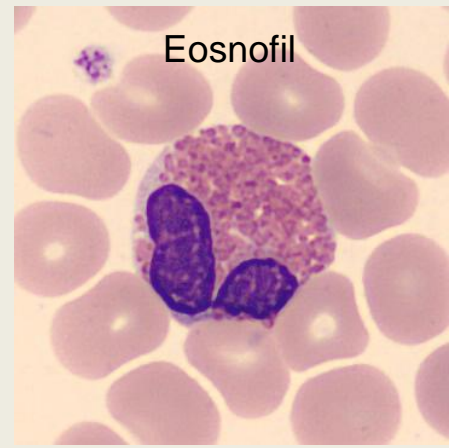
Lymfocyt



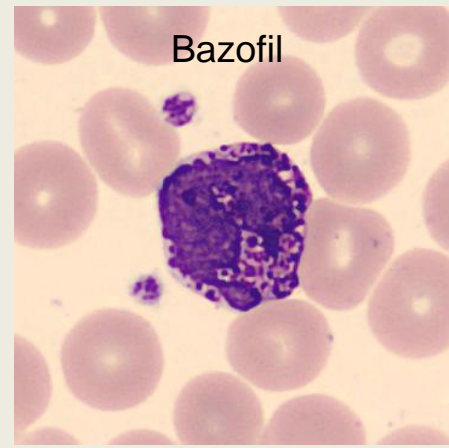
Monocyt



Neutrofil

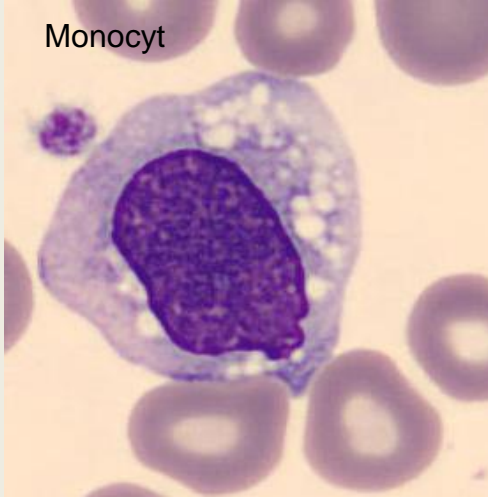
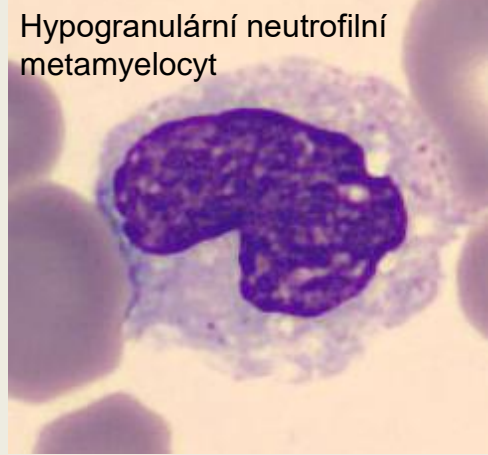
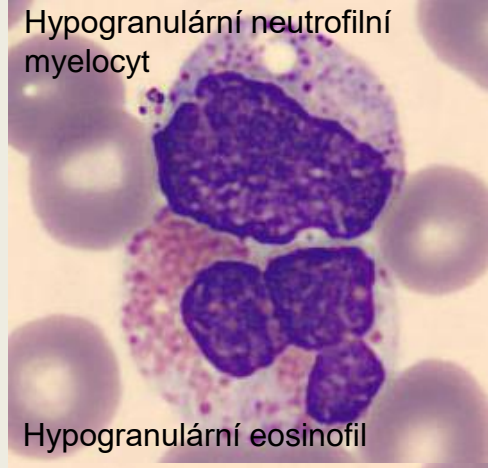
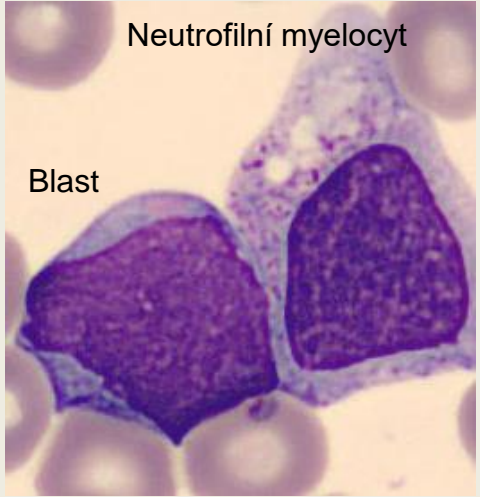
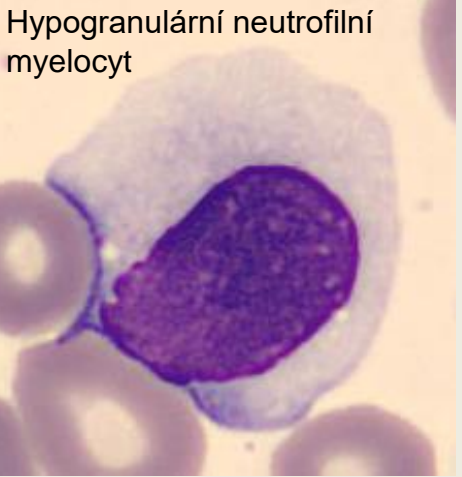
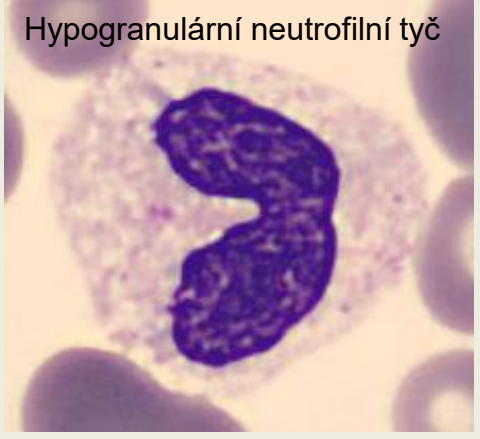
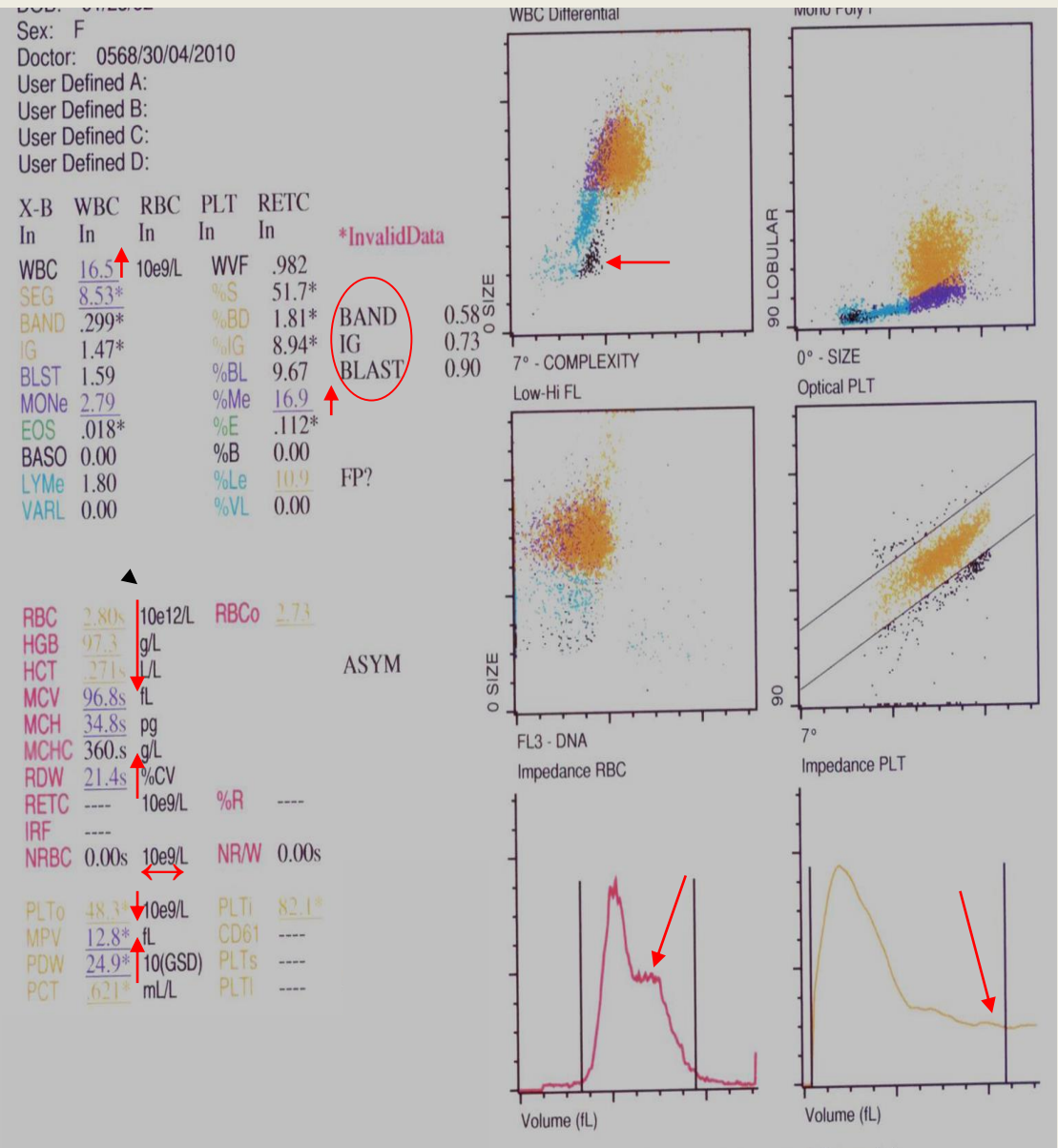


Eosnofil



Bazofil

Patologický vzorek



Hypogranulární neutrofilní tyč

Hypogranulární neutrofilní myelocyt

Hypogranulární eosinofil

Hypogranulární neutrofilní myelocyt

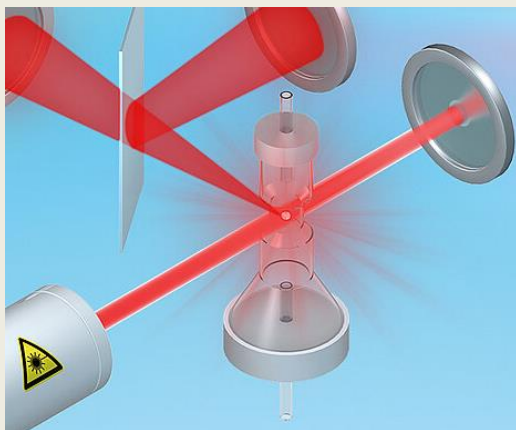
Hypogranulární neutrofilní metamyelocyt

Neutrofilní myelocyt

Monocyt

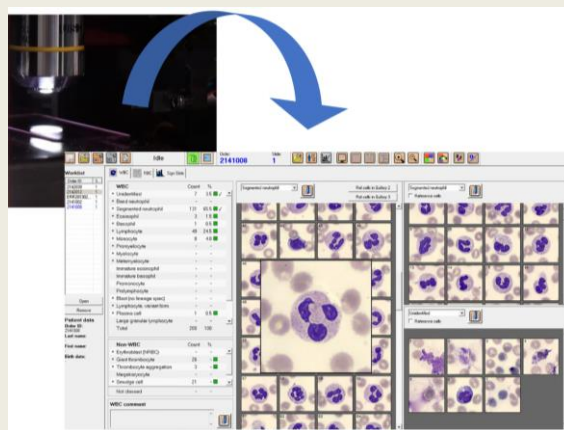
Blast

Mikroskopické vyšetření periferní krve



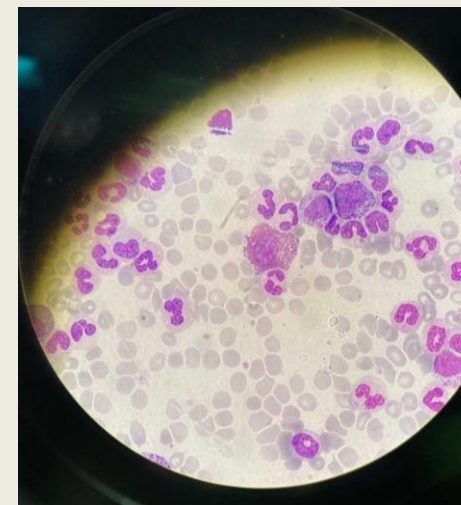
Hematologický analyzátor

- KO+diff



Digitální morfologie

- předklasifikace buněk

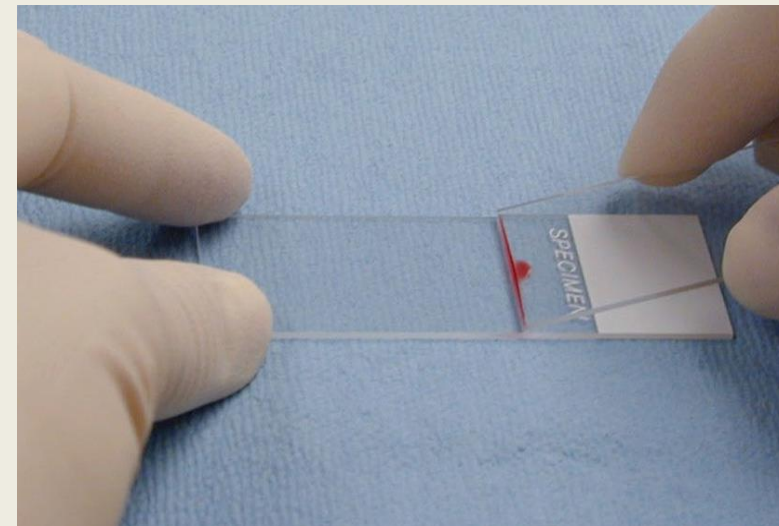
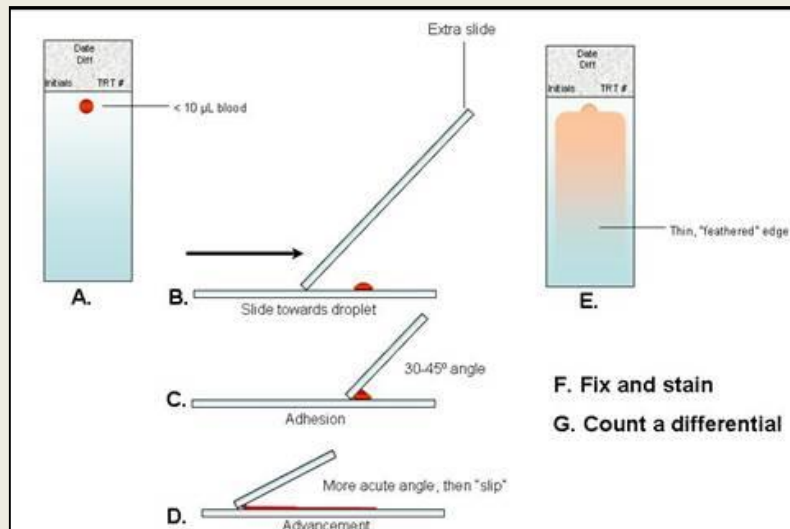


Mikroskopické vyšetření

- klasifikace buněk
- morfologie buněk

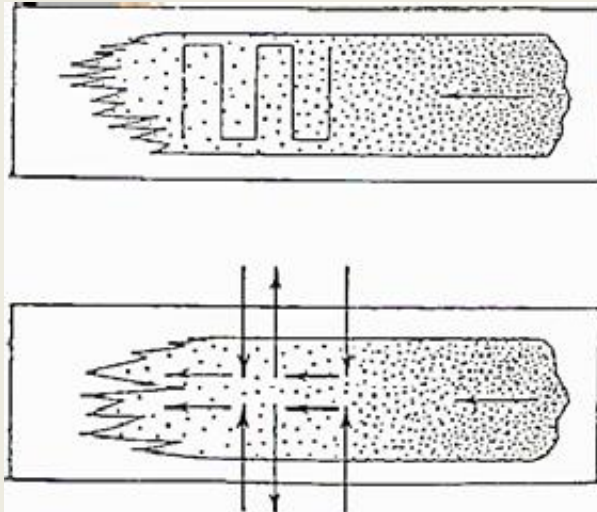
Zhotovení nátěru krve

- řídí se hodnotou hematokritu (větší úhel = silnější nátěr)
- potřeby: podložní sklíčko, roztírací sklíčko
- roztírací sklíčko položit před kapku krve na podložním skle pod úhlem cca 30 ° - 40° (*nikdy ne do kapky krve*); po doteku krve a roztíracího skla se krev rozlije podél hrany skla; poté rychle krev rozetřít po podložním skle
- sílu nátěru zvažovat – čím větší úhel, tím silnější nátěr
- nátěr musí být: rovnoměrný, přiměřeně tenký, dlouhé okraje musí být rovné, na konci přechází „do ztracena“ (alespoň 1 – 2 cm)



Barvení

- správné provedení nátěru, zaschnutí, fixování (metanol + barviva), barvení nátěrů (metanol + glycerin + fosfátové pufrů + barviva), pH 6,8 - 7,0
- Nejběžnější metoda barvení je Pappenheimova
 - **May-Grünwald / Giemsa-Romanowski**
 - nejpoužívanější metoda, ve všech směrech zcela uspokojující
- preparáty lze také připravovat na nátěrových a barvicích automatech



- Kationtové (zásadité) barvy, jako je např. azur B, se váží na aniontovou složku a dávají modrošedá zbarvení nukleových kyselin (DNA nebo RNA), nukleoproteinů, granulí bazofilů a slabě barví granula neutrofilů.

- Aniontové (kyselé) barvy, jako je např. eosin Y, se váží na kationtovou složku proteinů a dávají oranžovočervená zbarvení hemoglobinu a eozinofilním granulím

Hematologická linka



Digitální morfologie

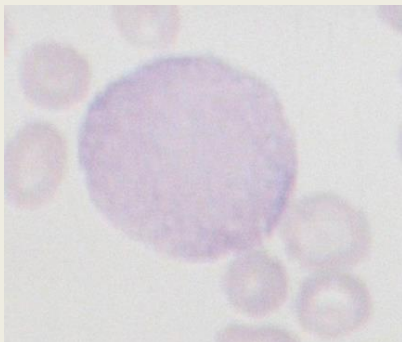


Mikroskopické hodnocení



Hodnocení trombocytů

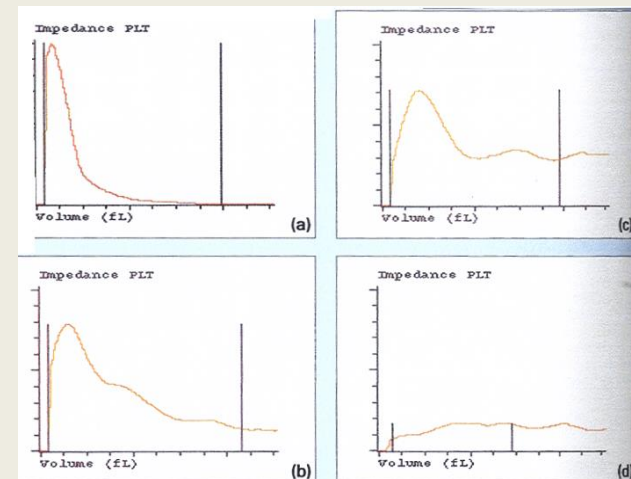
- velikost (MPV, PDW, distribuční křivka)
- kontrola mikroskopicky při početních a morfologických anomáliích
- hodnocení granulace, shluků (satelitózy), přítomnost megakaryocytů (MGK), holá jádra MGK
- speciální odběr (falešné trombocytopenie – vliv EDTA, satelitóza PLT) - odběr do hořčíku Mg^{2+} Tromboexact (nebo citrátu)
- opticky (vyloučí netrombocytární elementy)
- Interference PLT: mikro RBC, makro PLT (sraženiny), buněčné/nebuněčné fragmenty



makro PLT

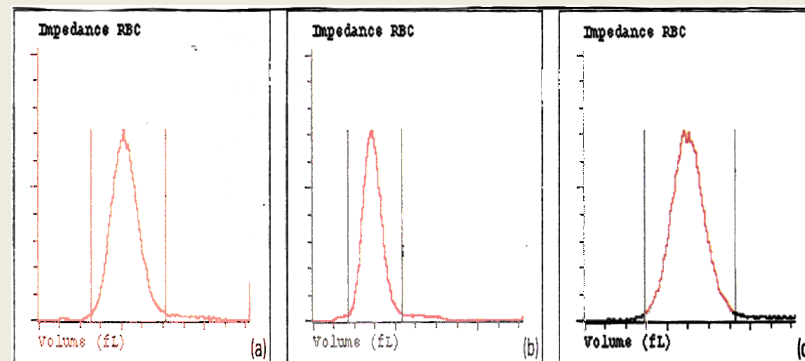


satelitóza PLT



Hodnocení erytrocytů

- měřené parametry: RBC, HGB, MCV (HCT)
- počítané parametry: HCT (MCV), MCH, MCHC, RDW + distribuční křivka (šířka, vrcholy)
- z měřených parametrů nelze jasně sledovat morfologii
- v vypočítaných parametru a distribučních křivek lze sledovat
 - MCV: normocyty, mikrocyty, makrocyty (izocytóza, anizocytóza)
 - MCH, MCHC: normochromie, hypochromie, hyperchromie
 - RDW+křivka: homogenita, heterogenita populace dle velikosti
- interference RBC: sraženiny/mikrosraženiny PLT, aglutinace
- mikroskopické hodnocení RBC: tvarové odchylky, buněčné inkluze, shluky, rozložení, jaderné elementy (NRBC)



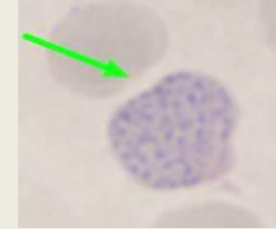
Poikilocyty – tvarové odchylky erytrocytů



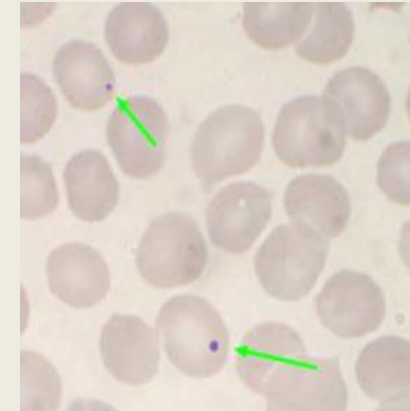
- akantocyty
- eliptocyty
- echinocyty
- slzičkovité
- terčovitě
- schistocyty - fragmenty erytrocytů
- knizocyty
- keratocyty
- stomatocyty
- srpkovitě
- sférocyty

Inkluze v erythrocytech

- Bazofilní tečkování (degradované zbytky RNA v organelách)



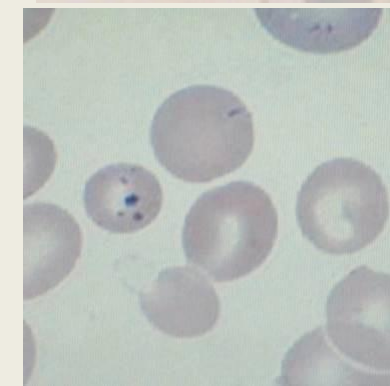
- Howell-Jollyho tělíčka (jaderné fragmenty obsahují DNA)



- Cabotovy prstence (mikrotubuly z mitotického vřeténka nebo zbytky jaderné membrány)



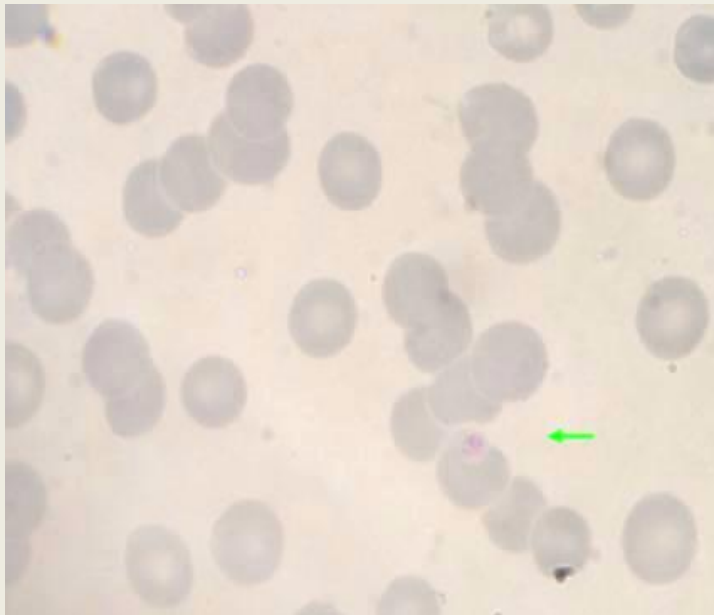
- Pappenheimerova tělíčka (granula obsahují zásobní železo, agregují s mitochondriemi a ribozomy)



Penízkovatění (rouleax)
- erythrocyty tvoří „řetízky“
(tři a více buněk)

Příčina

zvýšené množství
plazmatických proteinů
navázaných na povrchu
erytrocytů



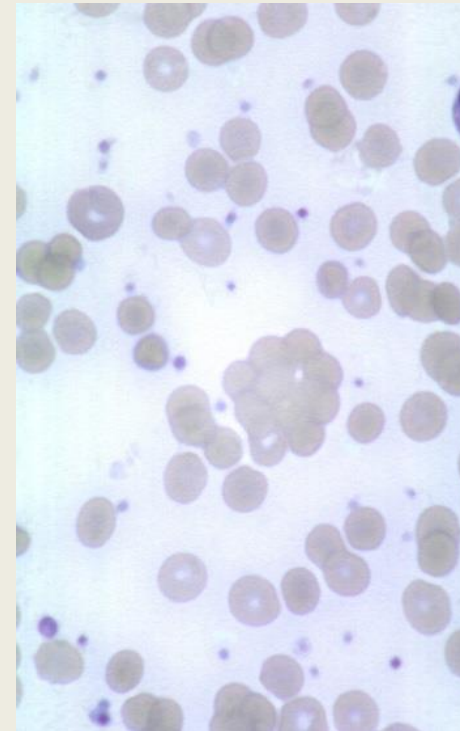
X

Aglutinace

seskupené erythrocyty do
větších, či menších shluků

Příčina

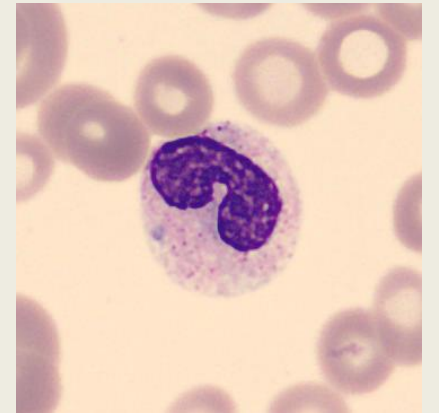
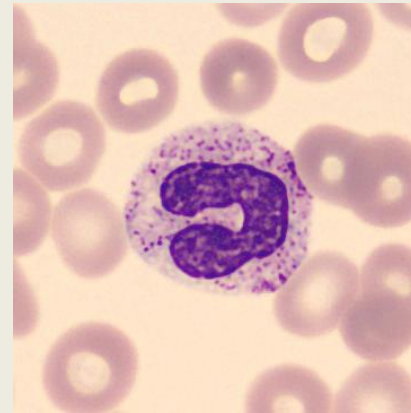
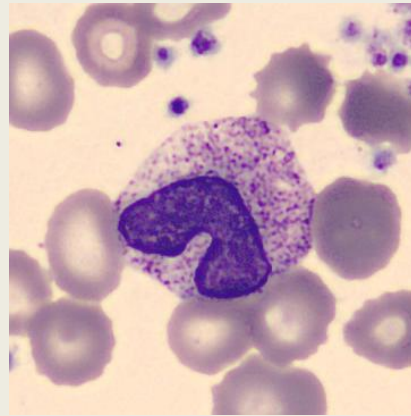
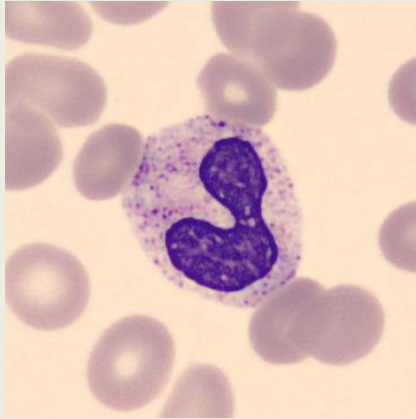
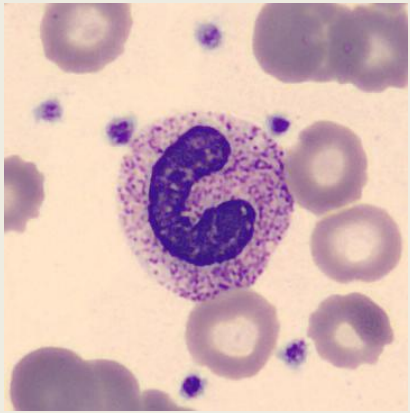
přítomnost protilátek
(nejčastěji chladové)



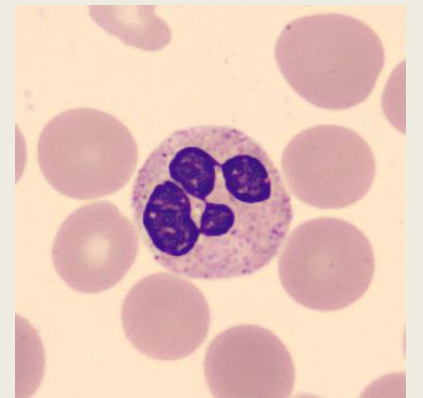
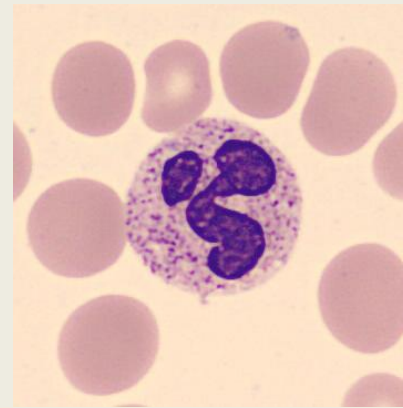
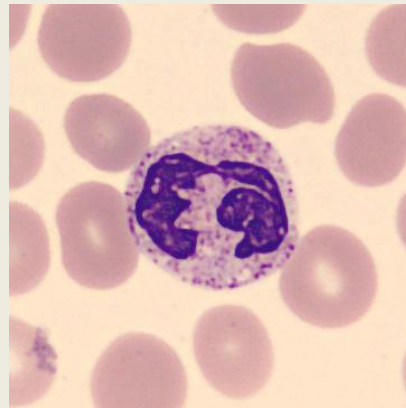
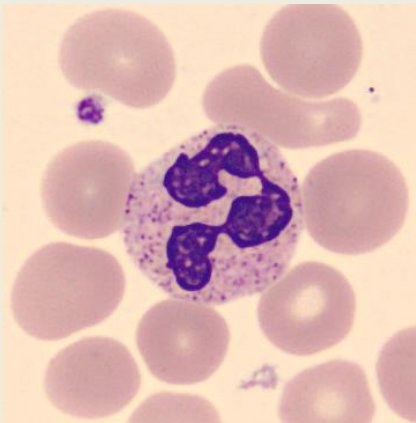
Hodnocení leukocytů

- Velikost buněk: malé, střední, velké
- Charakteristika jádra: jaderné stíny, holá jádra, poměr jádra k cytoplazmě, jaderný chromatin, jadérka (přítomnost, nepřítomnost, počet, velikost), členitost a tvar jádra (variantní lymfocyty, reaktivní lymfocyty), velikost jádra (tyče, metamyelocyty), hypo-,hyper- segmentace neutrofilů
- Charakteristika cytoplazmy: granulace, bez granulace, specifická, nespecifická, toxická granulace, barevný odstín cytoplazmy (zralost buňky, reaktivní lymfocyty), vakuolizace, barevné inkluze, Auerovy tyče, okraje cytoplazmy (členité, hladké, vlasaté), velké granulované lymfocyty – LGL (large granular lymphocytes)

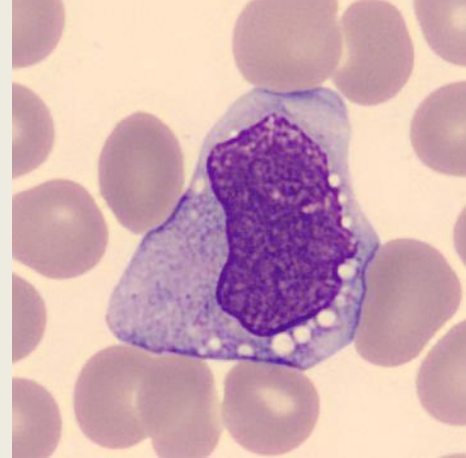
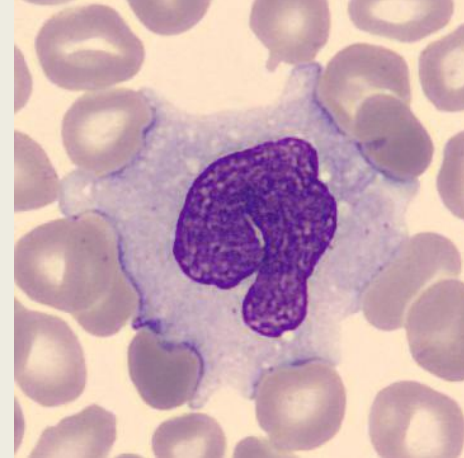
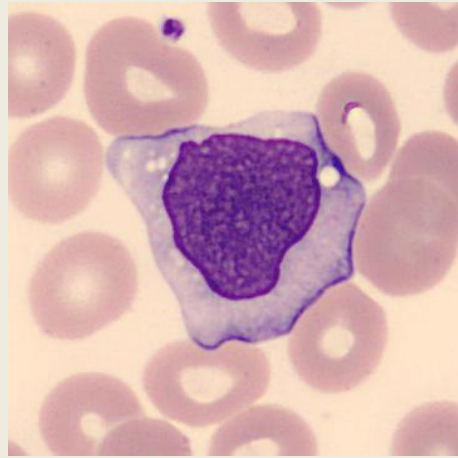
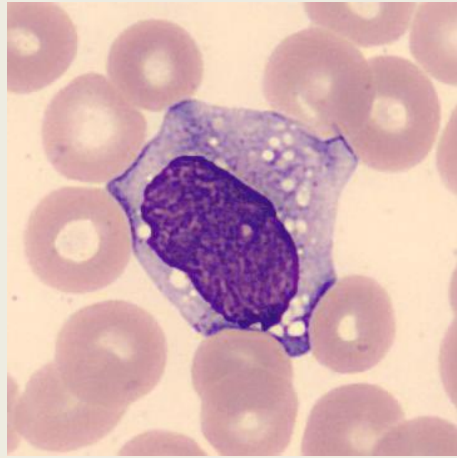
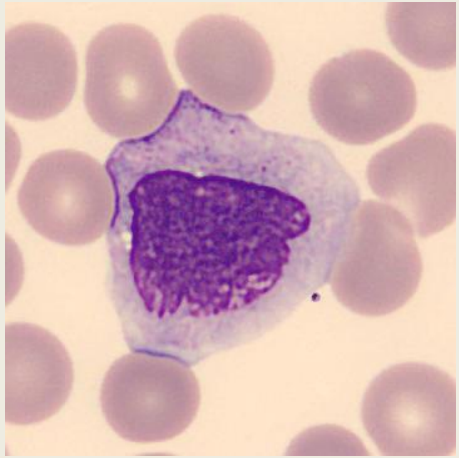
Neutrofilní tyč (rozdíl mezi nejširším a nejužším tvarem jádra je $\frac{1}{3}$ až $\frac{1}{2}$)



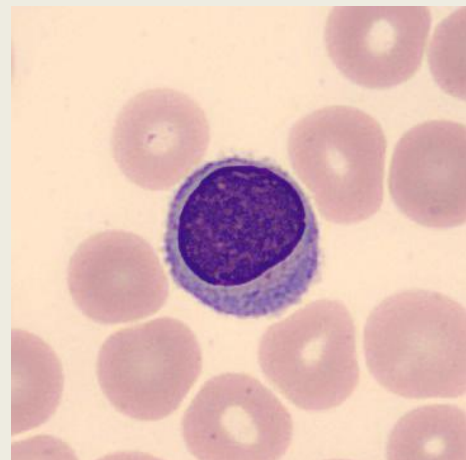
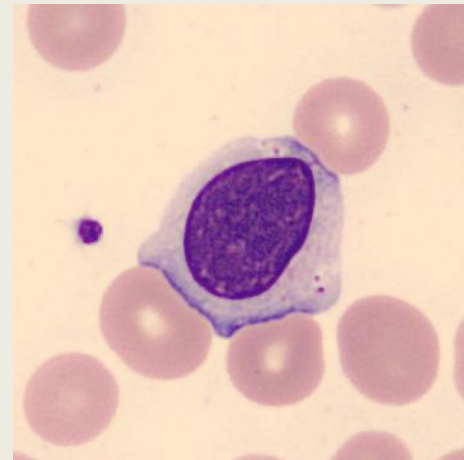
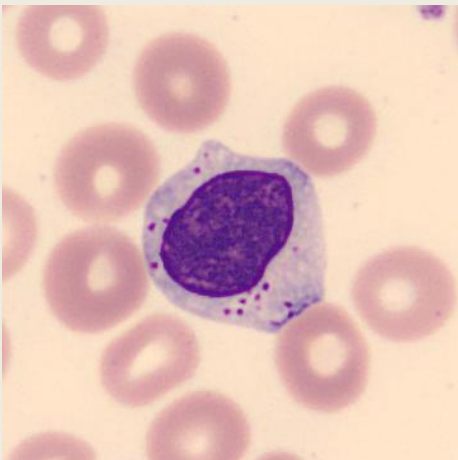
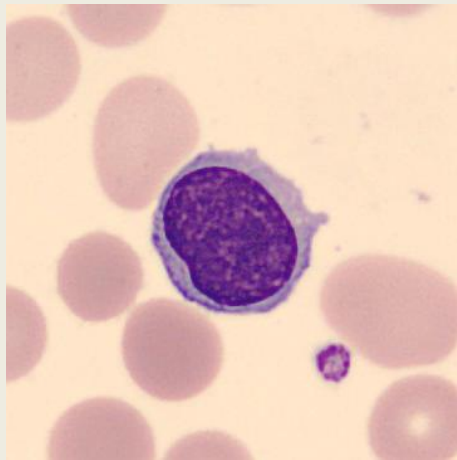
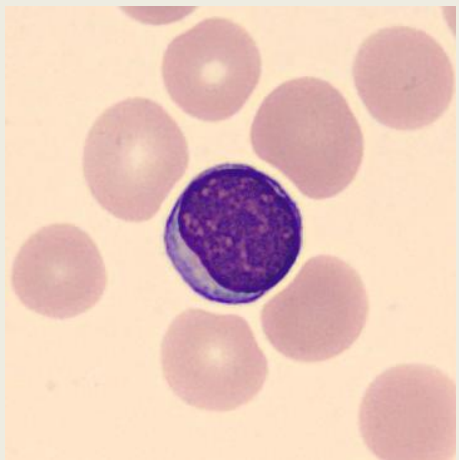
Neutrofilní segment



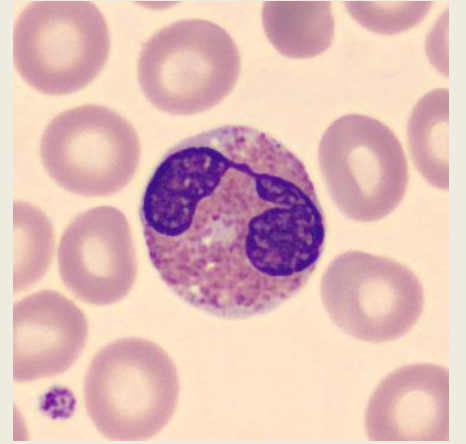
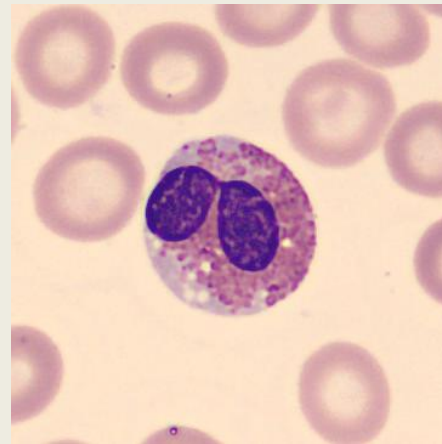
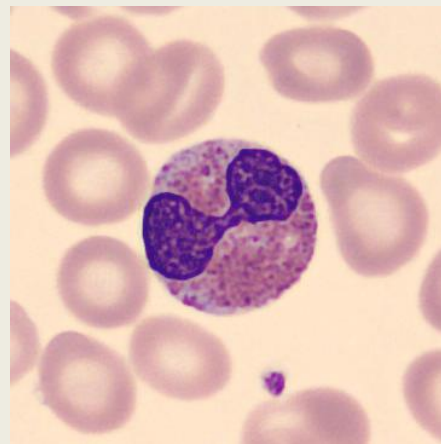
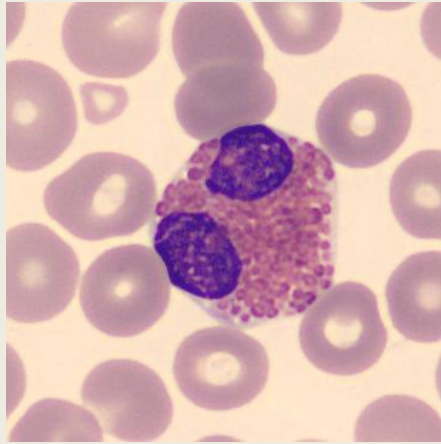
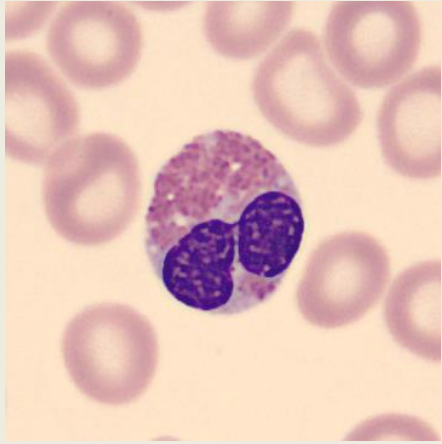
Monocyty



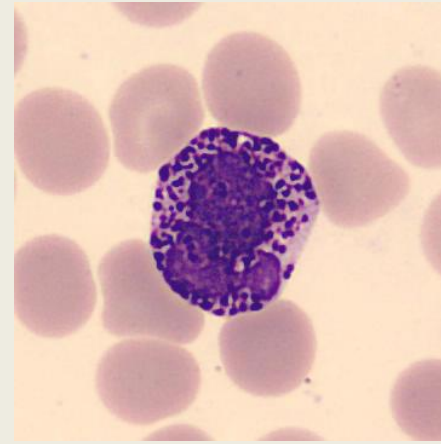
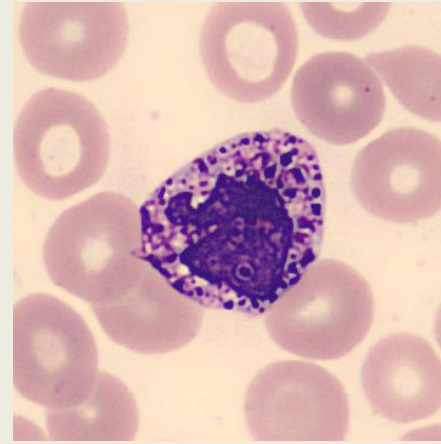
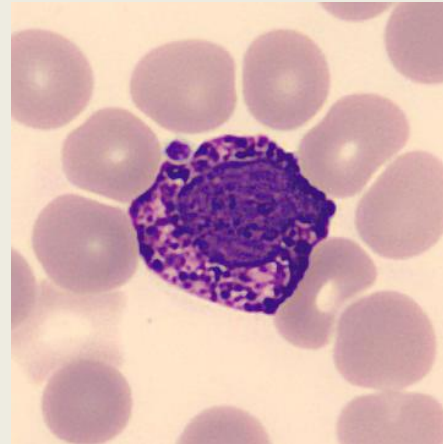
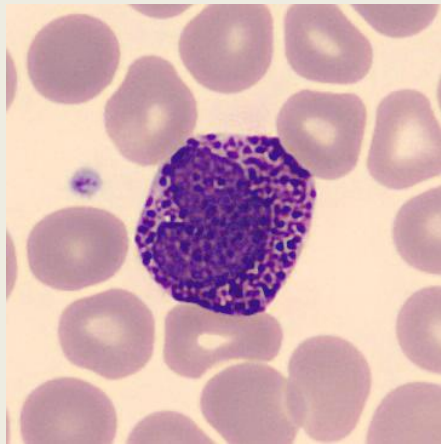
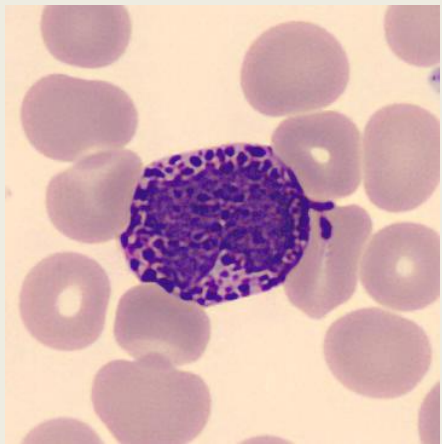
Lymfocyty



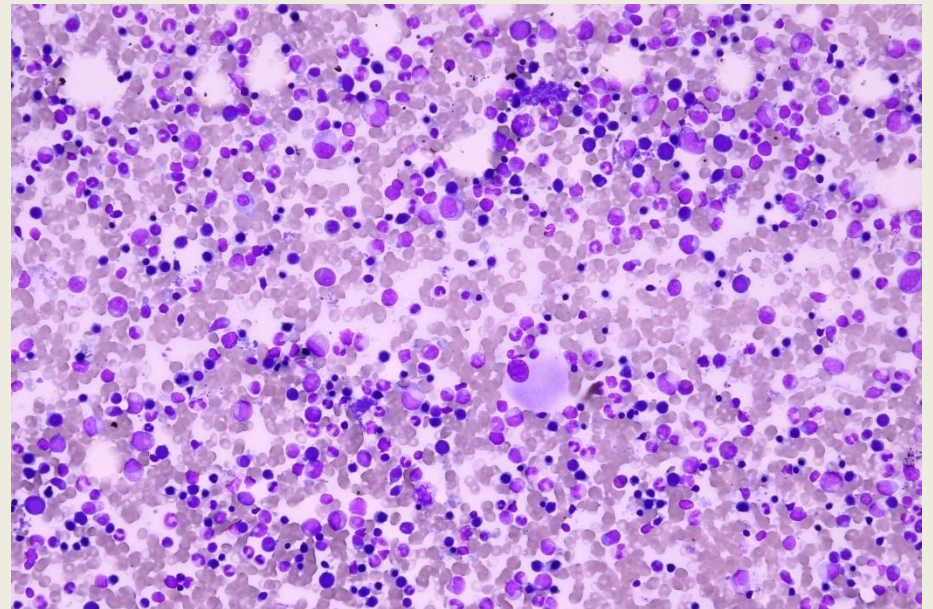
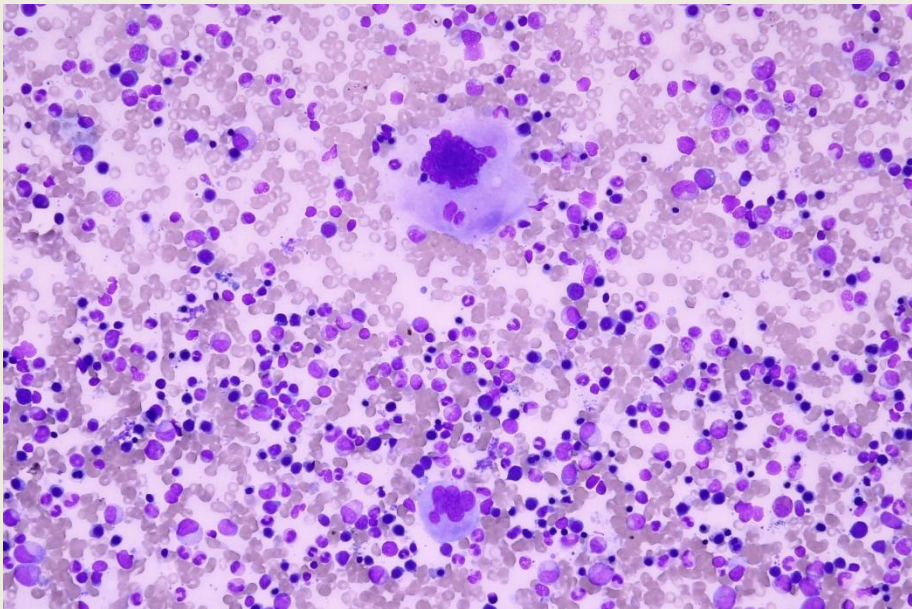
Eozinofily



Bazofily



Morfologické vyšetření kostní dřeně



Vyšetření nátěrů kostní dřeně

- diagnostika a sledování léčebné odpovědi u hematologických onemocnění
 - nádorová onemocnění kostní dřeně a hematopoetických orgánů
 - poruchy krvetvorby (diagnostika a diferenciální diagnostika změn v periferním krevním obraze)
 - primární postižení dřeně nádorovým onemocněním (staging postižení dřeně metastaticky)
- uplatnění u některých infekčních procesů, metabolických střádacích chorob
- diagnostický proces při horečce neznámého původu (zde však beze změny v krevním obraze až jako jeden z posledních diagnostických kroků)
- **aspirační biopsie**, kdy je nasávána dřeňová krev a tato následně různým způsobem vyšetřována – nejčastěji ze sterny
- **trepanobiopsie** – je proveden odběr dřeně k histologickému vyšetření z lopaty kosti kyčelní
- obvykle je současně prováděna i aspirační biopsie

Typy odběru kostní dřeně k vyšetření

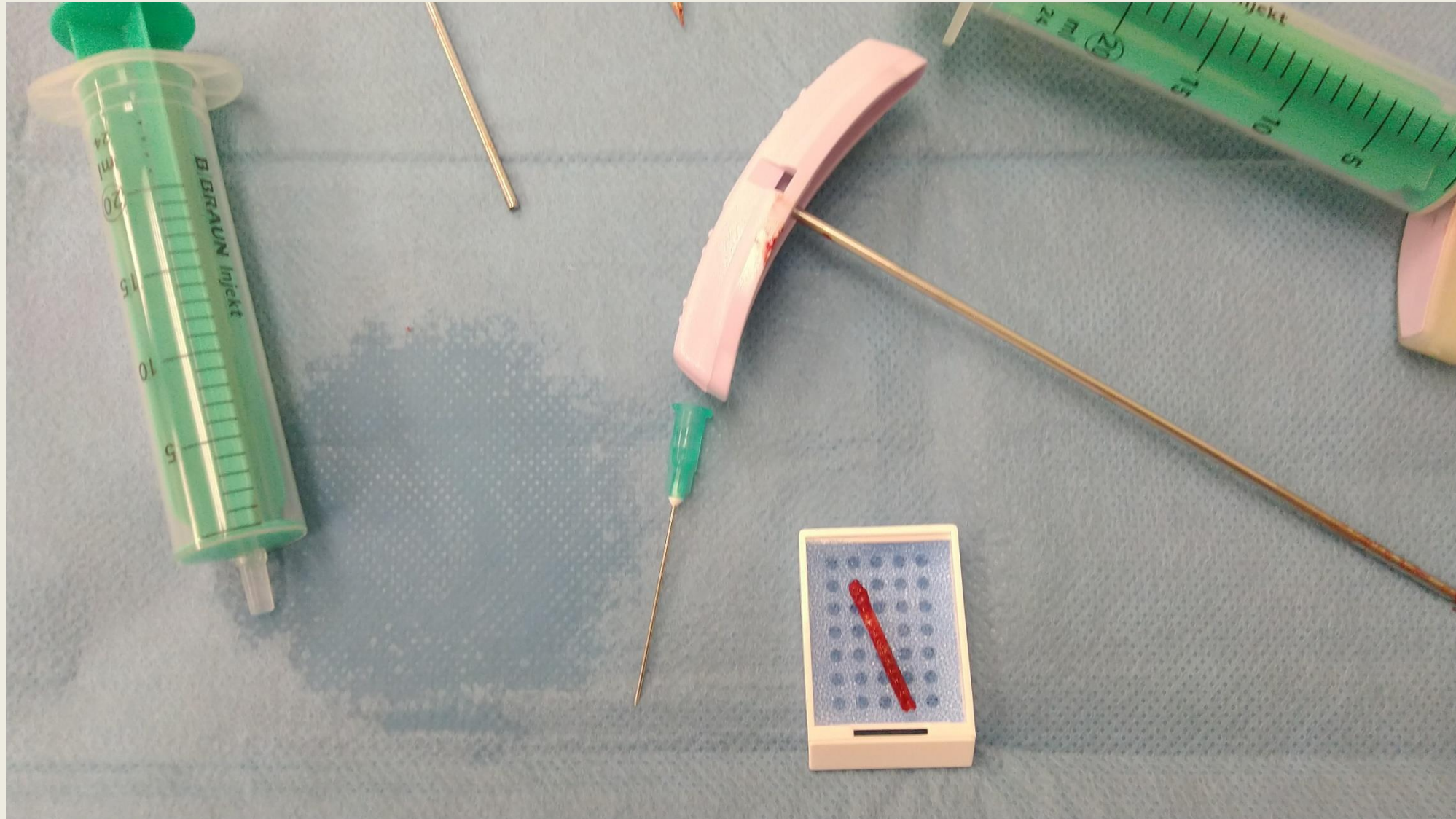


Obr. 2. Sternální punkce. Odběr dřeňové krve speciální jehlou z hrudní kosti. Odběr se provádí v místním znecitlivění. (Foto M. Doubek.)



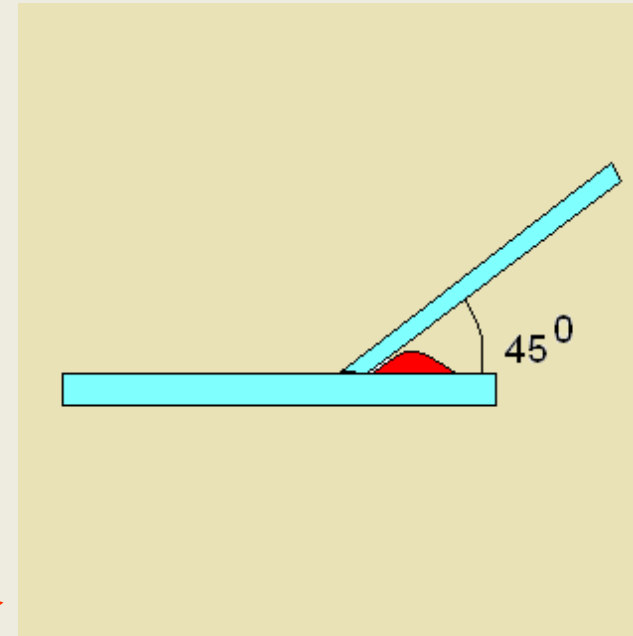
Obr. 3. Trepanobiopsie kosti kyčelní. Odběr dřeňové krve a vzorku kostní dřeně z lopaty kosti kyčelní. (Foto M. Doubek.)

Trepanobiopsie

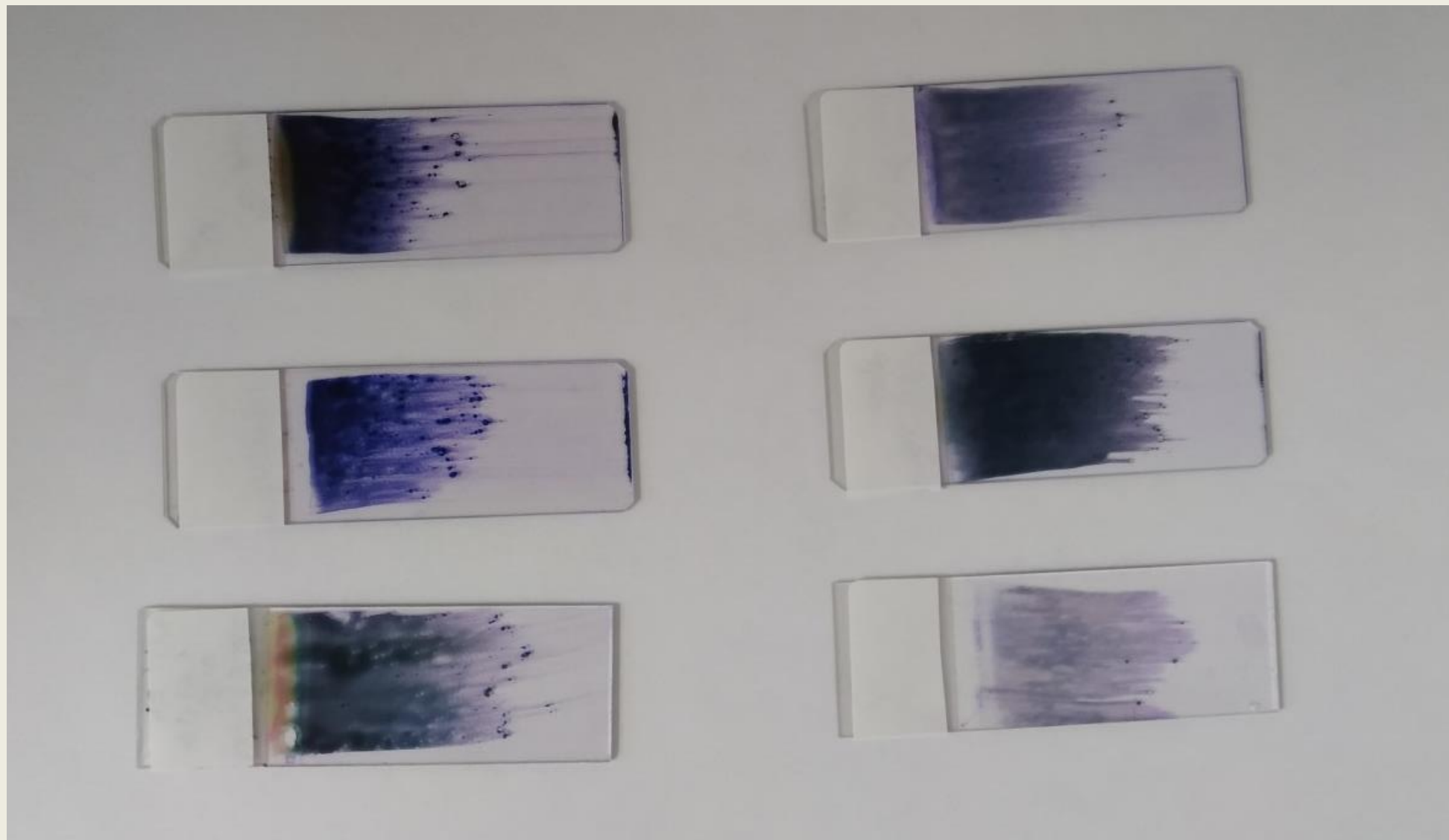


Zhotovení nátěru kostní dřeně

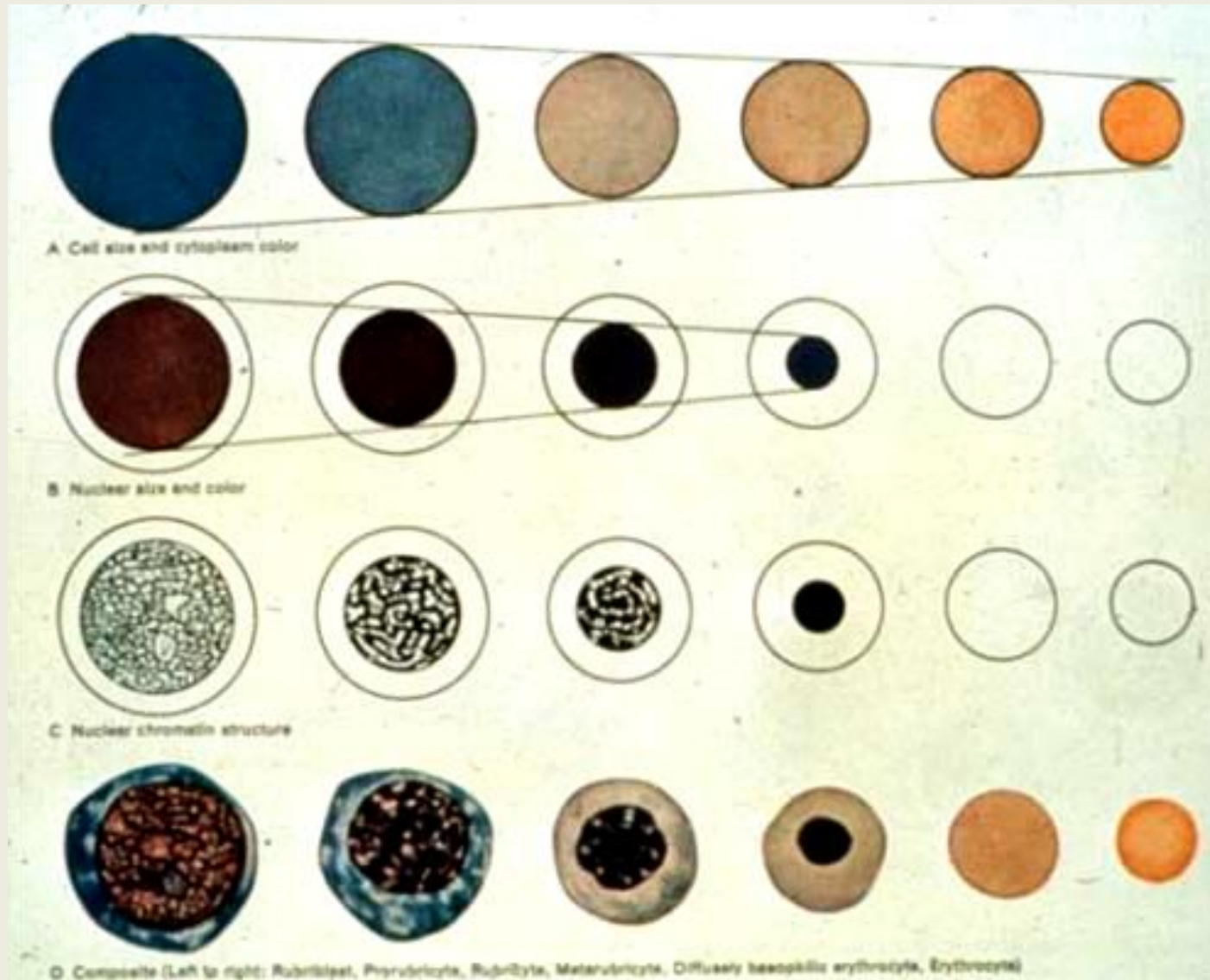
- z aspirace KD obdržíme materiál k nátěru v petriho misce
- misku nakloníme, necháme materiál stéci po jejím dně
- na roztírací sklo nabereme kapku KD s hrudkami, která díky její větší vazkosti zůstala na dně misky
- po rozprostření kapky na hraně roztíracího skla použijeme čisté podložní sklíčko nebo rozprostřeme kapku KD na hranu roztíracího sklíčka v Petriho misce
- provedeme nátěr na sklíčko



Obarvený nátěr KD



Sledování buněčných morfologických změn



zbarvení, obsah
cytoplazmy

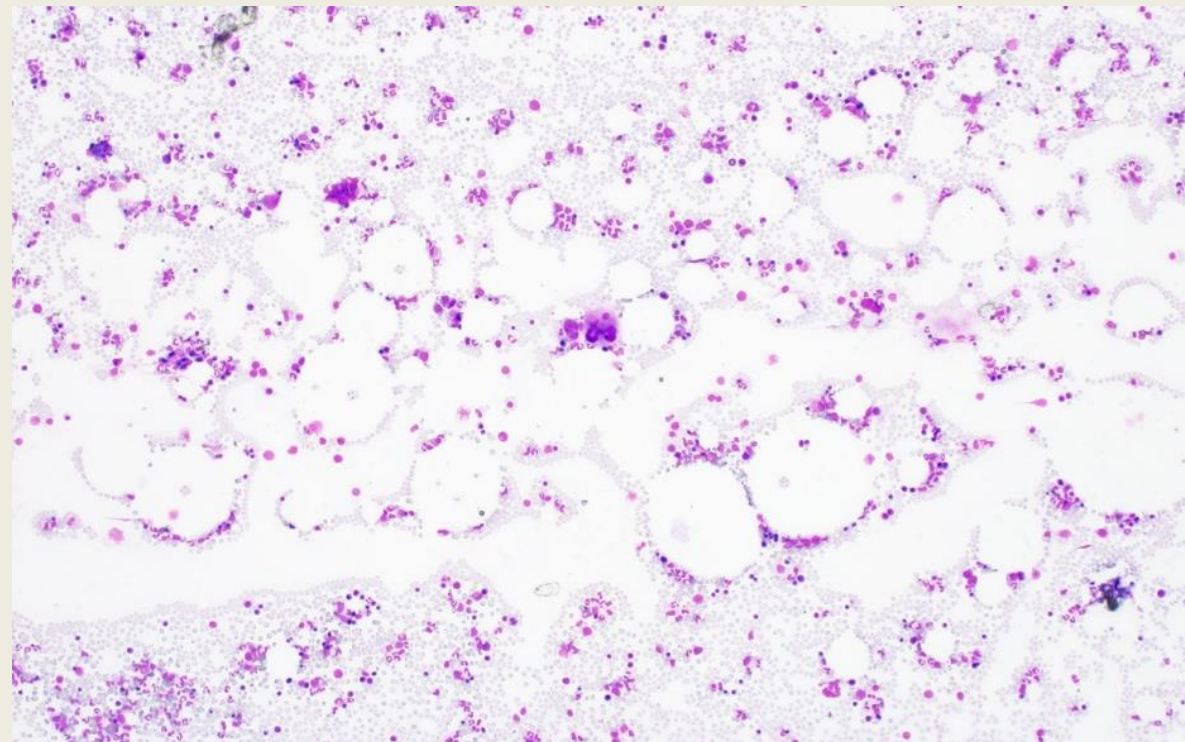
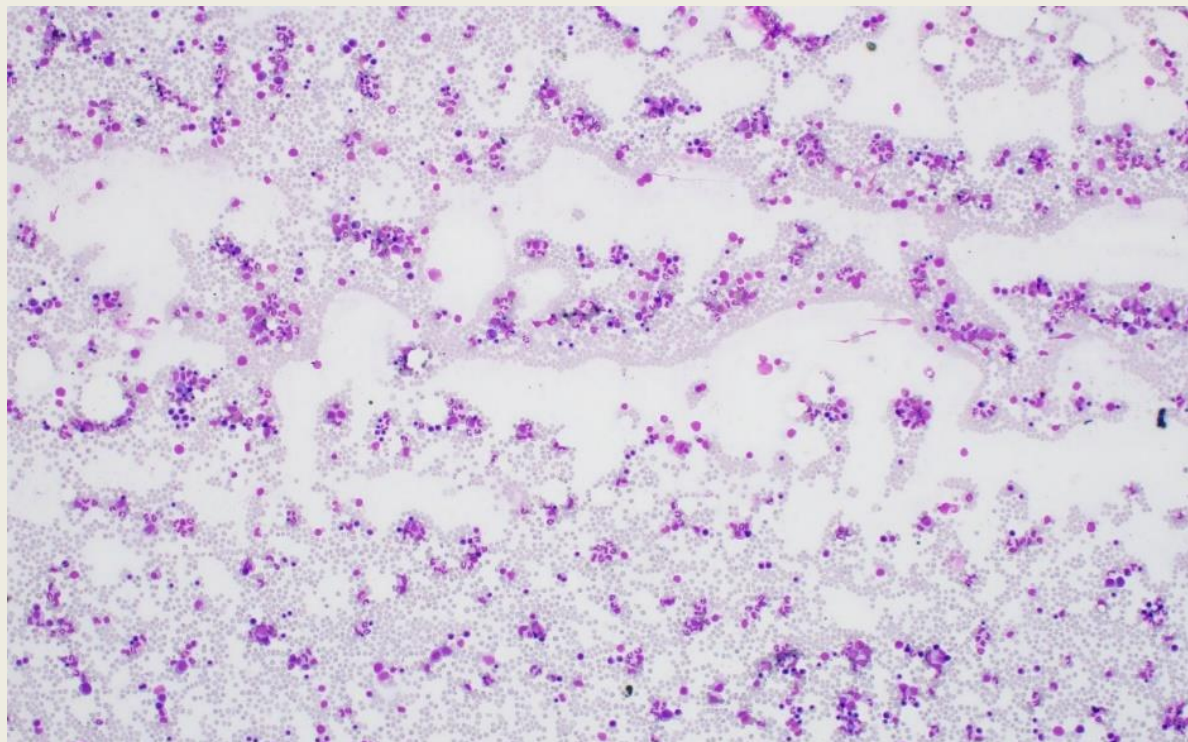
velikost, tvar
jádra

struktura chromatinu,
jadérka

komplexní hodnocení

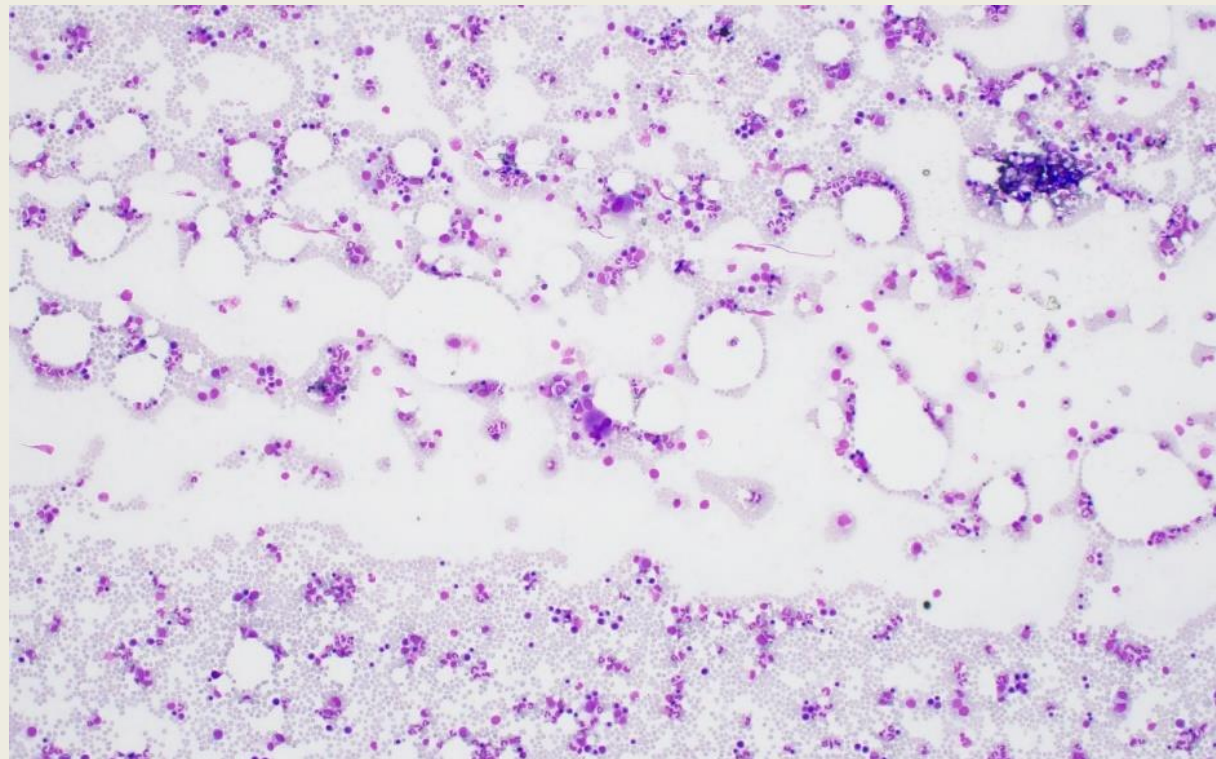
Hodnocení nátěrů kostní dřeně

Zvětšení 100x

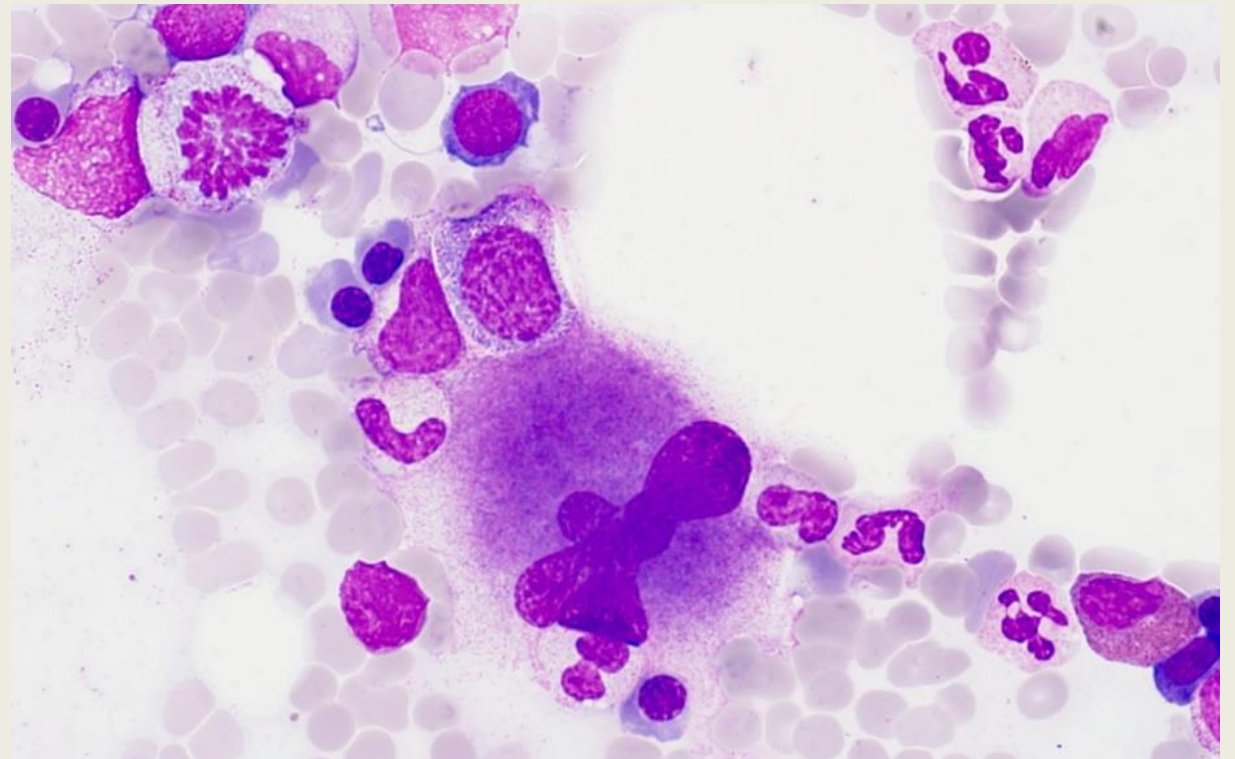


Hodnocení nátěrů kostní dřeně

Zvětšení 100x

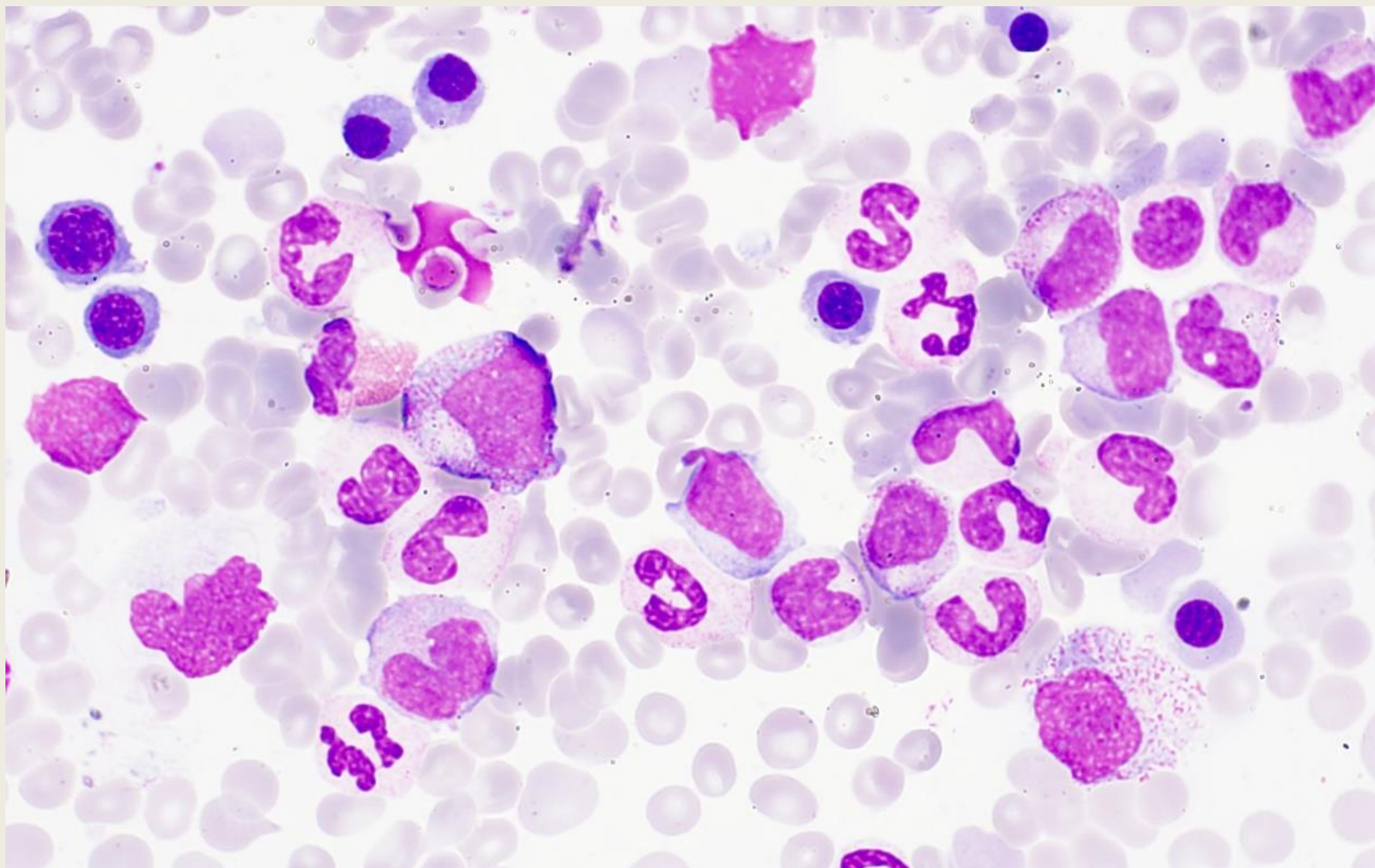


Zvětšení 1000x

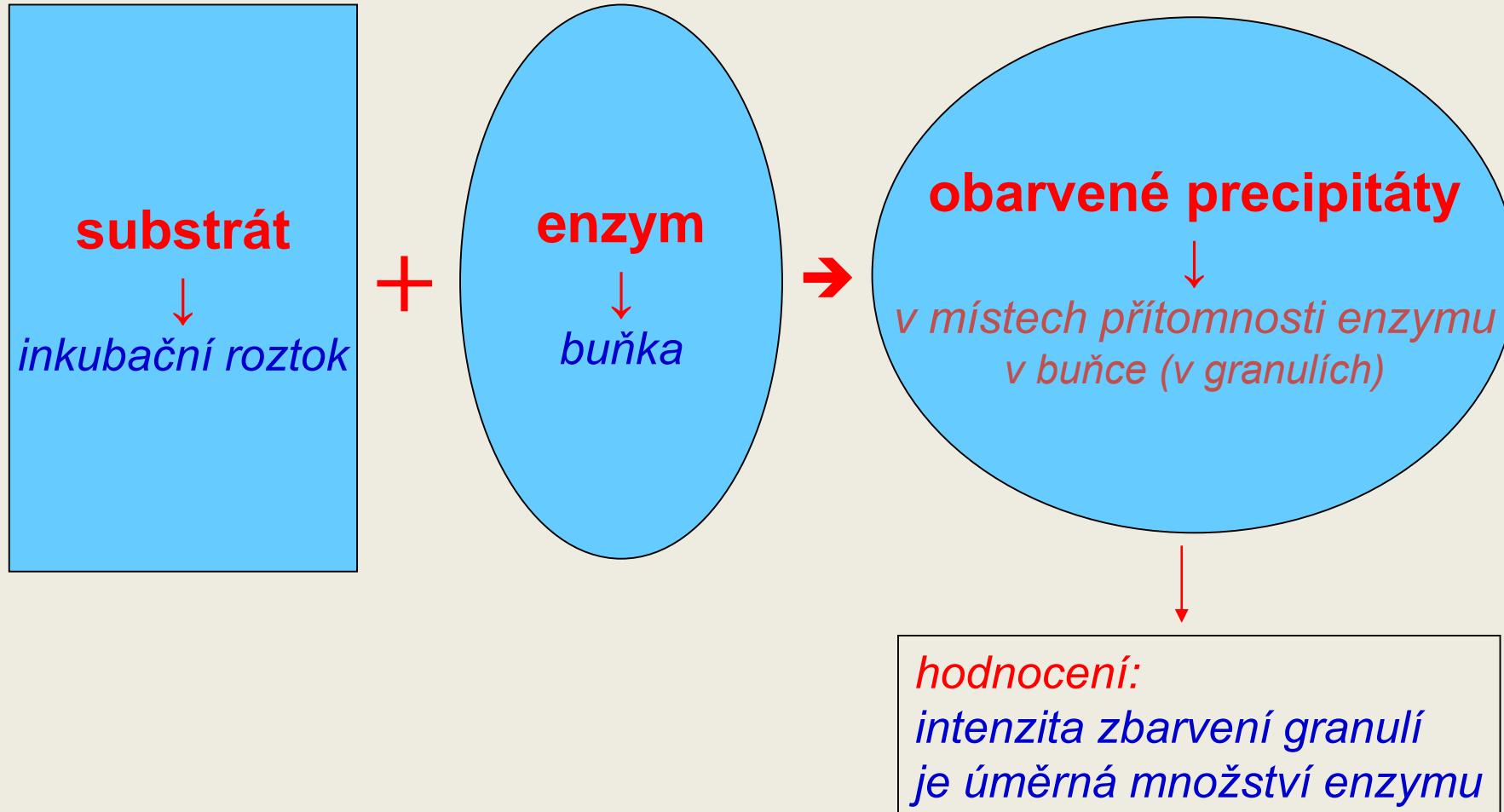


Hodnocení nátěrů kostní dřeně

Zvětšení 1000x



Cytochemická reakce



Cytochemické vyšetření KD

- Myeloperoxidáza – myeloidní buňky, Auerovy tyče
- PAS – průkaz sacharidů, vzhled positivity
- Nespecifická esteráza – zeslabení positivity po přidání NaF u monocytárních buněk
- Kyselá fosfatáza – hlavně pro diagnostiku vlasatobuněčné leukémie (HCL)
- Vyšetření zásobního železa v KD (diagnostika anémií, MDS)

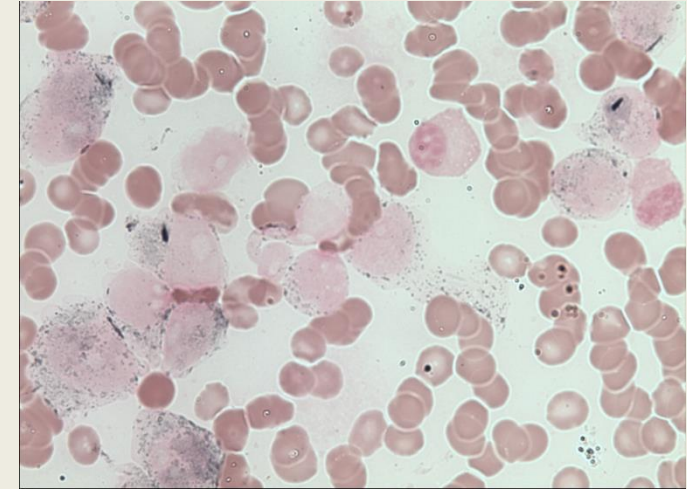
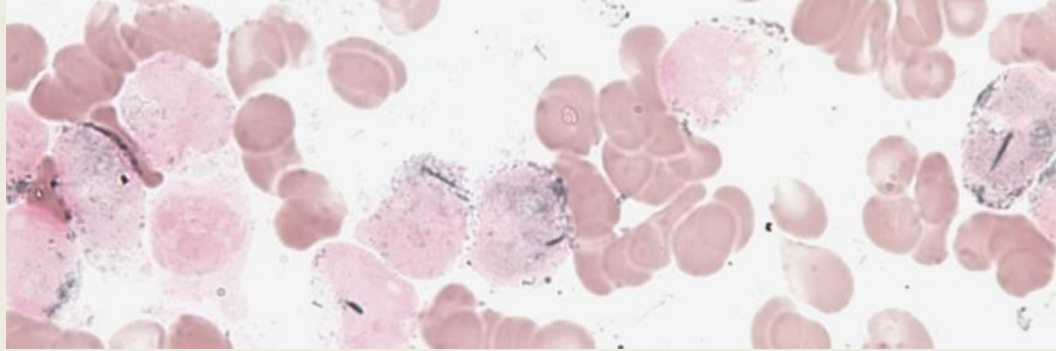
Cytochemická vyšetření hodnotit v souvislosti s:

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

Cytochemická vyšetření KD

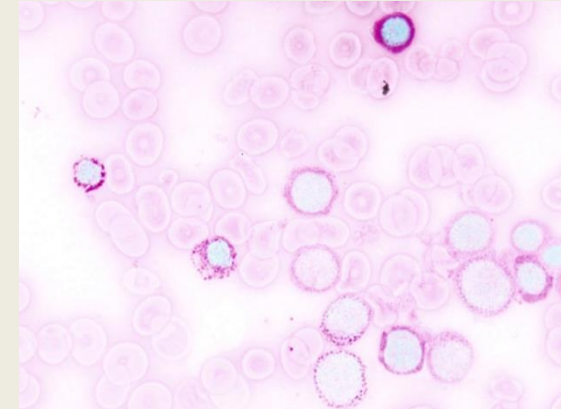
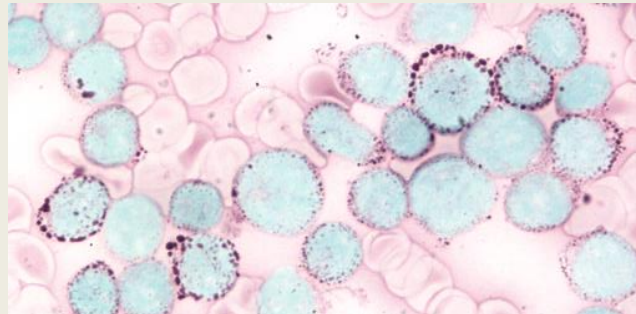
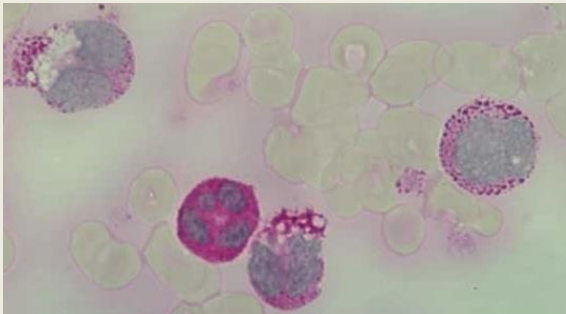
- **myeloperoxidáza**

- *hodnocení: v primární granulaci NE, EO, MO (množství enzymu se zvyšuje s vyzáváním buněk), lymfocyty jsou vždy negativní, sledování přítomnosti **Auerových tyčí***
- *klinický význam: rozlišení myeloblastické / monoblastické leukémie od lymfoblastické*



- **PAS**

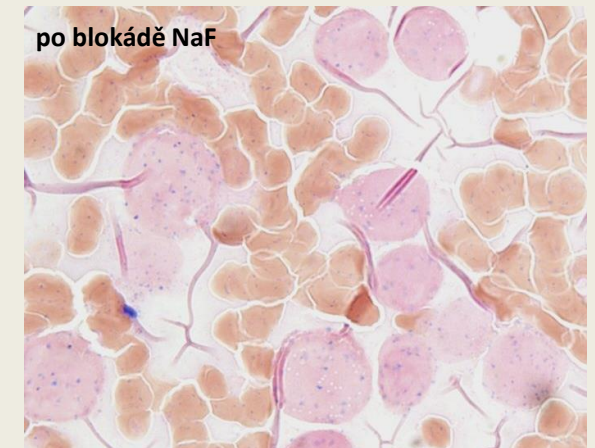
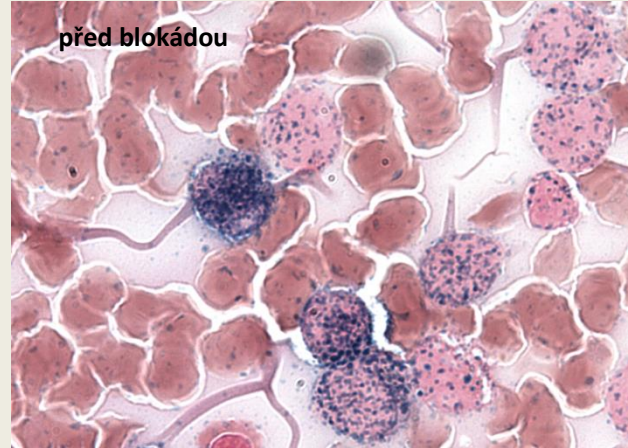
- *hodnocení: typ positivity (difúzní, jemně nebo hrubě pozitivní granula)*
 - *fyziologická: myel. buňky (difúzní), monocytární buňky (jemná granula), lymfocyty (mohou být výraznější granula), NRBC (negativní)*
 - *patologická: LY u CLL (většinou výrazná granulární pozitivita), lymfoblasty u ALL (většinou pozitivní), NRBC hrubozrnná pozitivita*
- *klinický význam: leukémie, MDS, anémie*



Cytochemická vyšetření KD

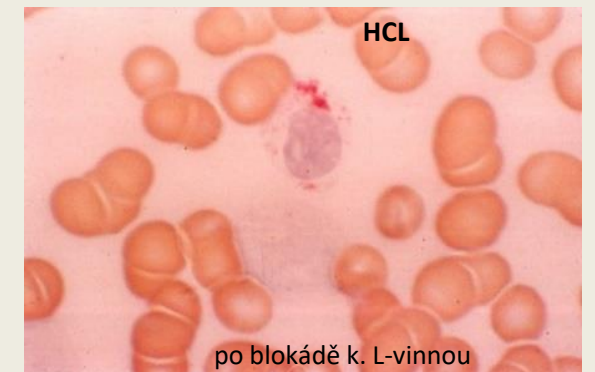
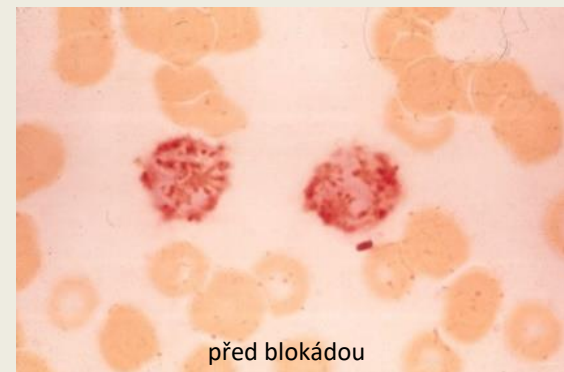
- **nespecifická esteráza s blokádou fluoridem sodným**

- princip: enzym reaguje se substrátem nebo je reakce blokována NaF (současné barvení dvou nátěrů)
- hodnocení:
 - po inkubaci bez blokády: myeloidní buňky a lymfocyty pozitivní (0/+), monocyty (+/+++)
 - po inkubaci s NaF: pozitivita u granulocytárních buněk a lymfocytů stejná nebo jen lehce zeslabená, u **monocytů zeslabení (0/+)**
- klinický význam: průkaz patologické monocytární populace



- **kyselá fosfatáza s rezistencí na kyselinu L-vinnou**

- princip: enzym reaguje se substrátem nebo je reakce blokována kyselinou L-vinnou, pokud je v buňce přítomen isoenzym -5, potom je reakce na kyselinu L-vinnou rezistentní (současné barvení dvou nátěrů)
- hodnocení:
 - po inkubaci bez blokády: granulocyty, monocyty, lymfocyty pozitivní na (0/+)
 - po inkubaci s kyselinou L-vinnou: pozitivita zůstává pouze v lymfocytech s izoenzymem-5
- klinický význam: pozitivita v lymfocytech po inkubaci s kyselinou L-vinnou slouží k diagnostice **leukémie z vlasatých buněk (HCL)**



Cytochemické vyšetření zásobního železa v KD

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.

Hodnocení:

zelenomodrá/modrá granula

- v erytrocytech (siderocyty)
- v NRBC (sideroblasty)
 - zrnka v NRBC okolo $\frac{2}{3}$ jádra (prstenčité sideroblasty)
- v makrofázích (siderofágy)

Normální hodnoty:

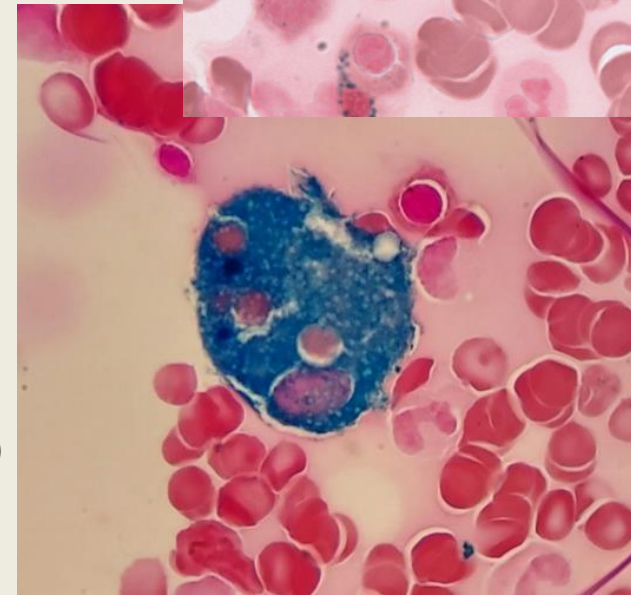
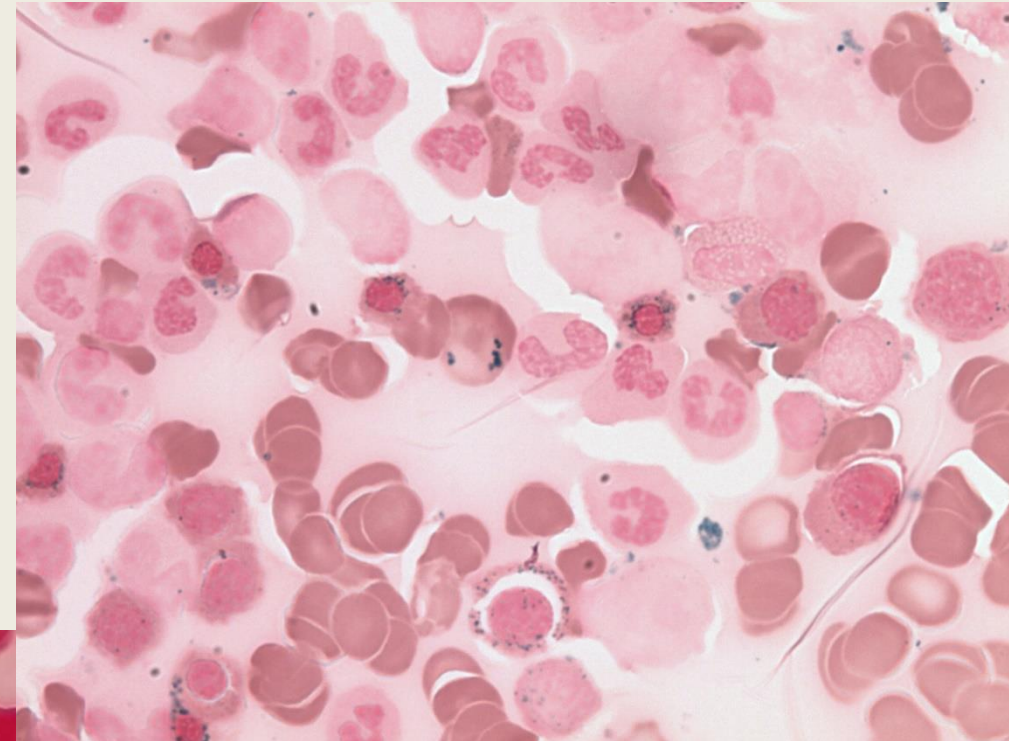
20 – 60 % pozitivních NRBC

2 - 4 siderofágy ze 6 nalezených makrofágů

Klinický význam:

anémie

- sideropenické (*nízké hodnoty*)
- sideroplastické (*přítomné prstenčité sideroblasty, zvýšené zásobní Fe*)
- hemolytické anémie (*vysoké hodnoty*)
- refrakterní anémie (*vysoké hodnoty*)



Děkuji za pozornost

