

# Anémie

*Bourková L., OKH FN Brno*

# Vyšetření retikulocytů

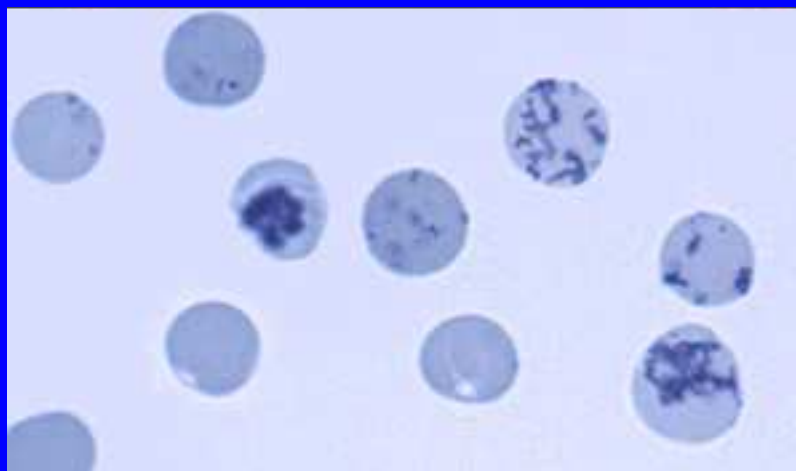
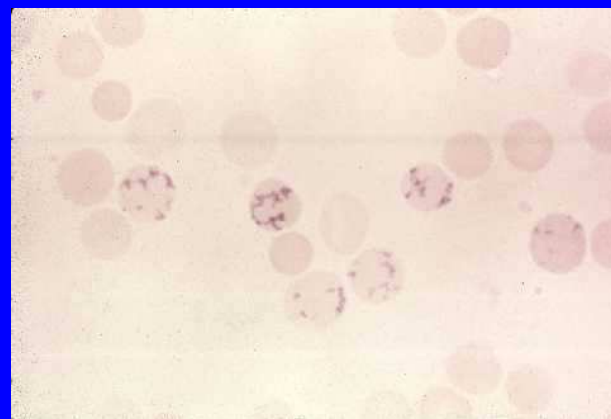
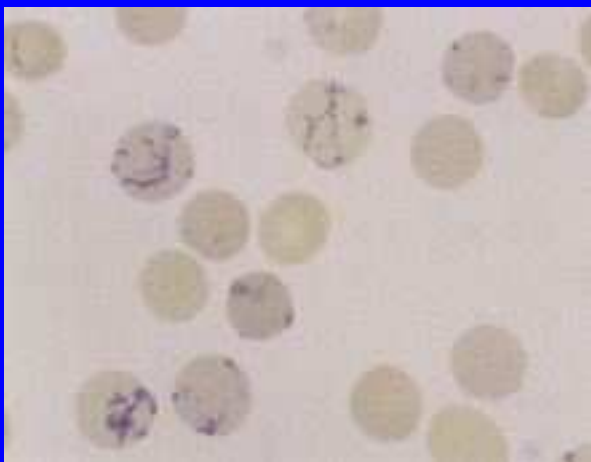
Barvení RNA v erythrocytech:

- mikroskopicky
  - supravitální barvení (*bez fixace preparátu*)
- analyzátozem
  - analýza prošlého 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 světla  
měření RNA v retikulocytech obarvených brillantcresilovou modří (*měření absorbance*)
- fluorescenční analýza  
měření RNA v retikulocytech obarvených fluorescenčními barvami (*měření fluorescence*)
- *Normální hodnoty:*  
0,5 – 2,5 %  
25 – 75 x 10<sup>9</sup>/L

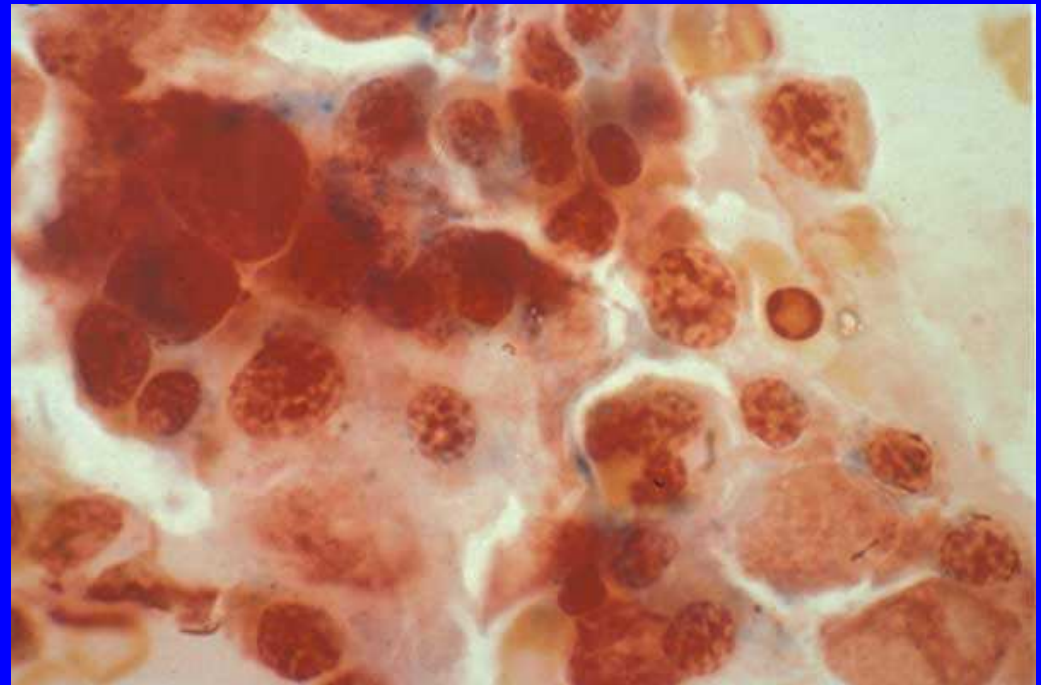
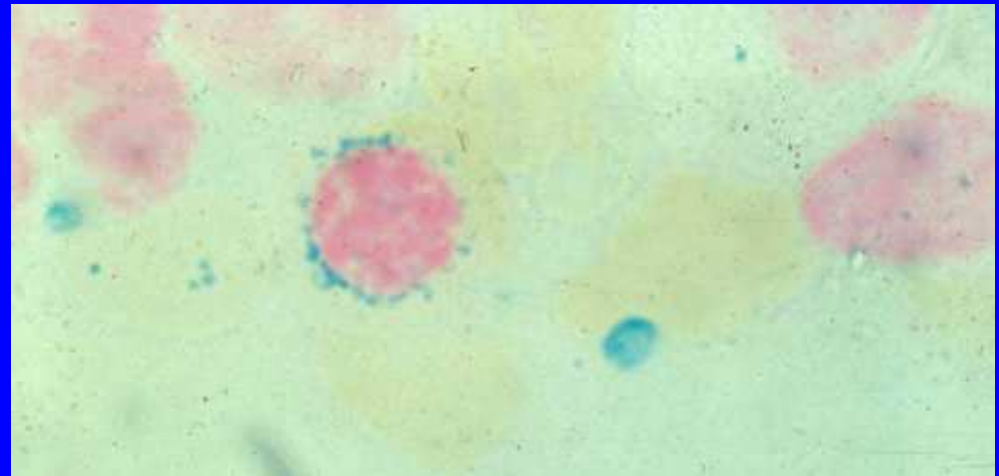
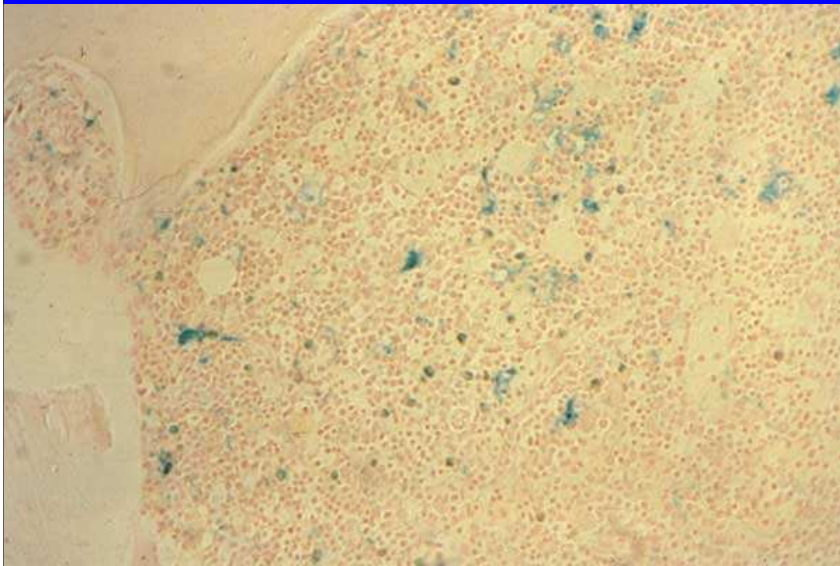
# Cytochemické vyšetření zásobního Fe - I

- Provádí se v KD. Zásobní  $\text{Fe}^{3+}$  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  $\text{Fe}^{3+}$ , intra- nebo extracelulárně za vzniku barevných skvrn Berlínské modři

# Cytochemické vyšetření zásobního Fe - II

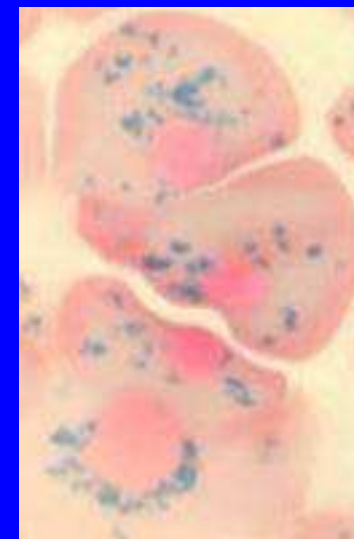
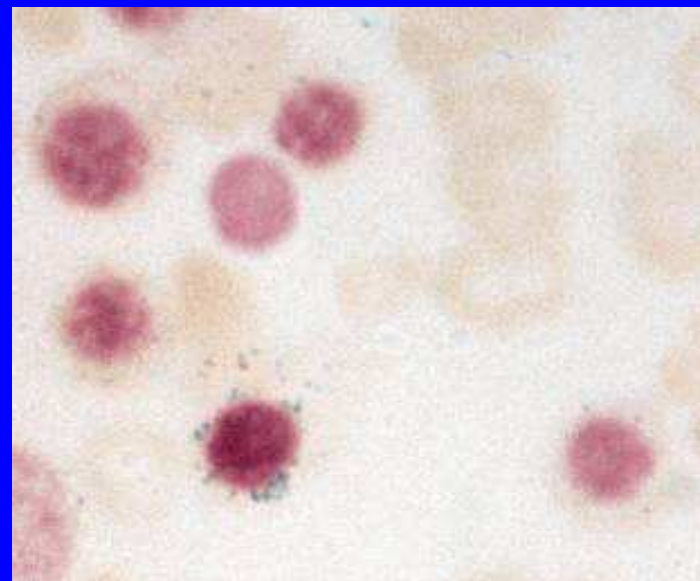
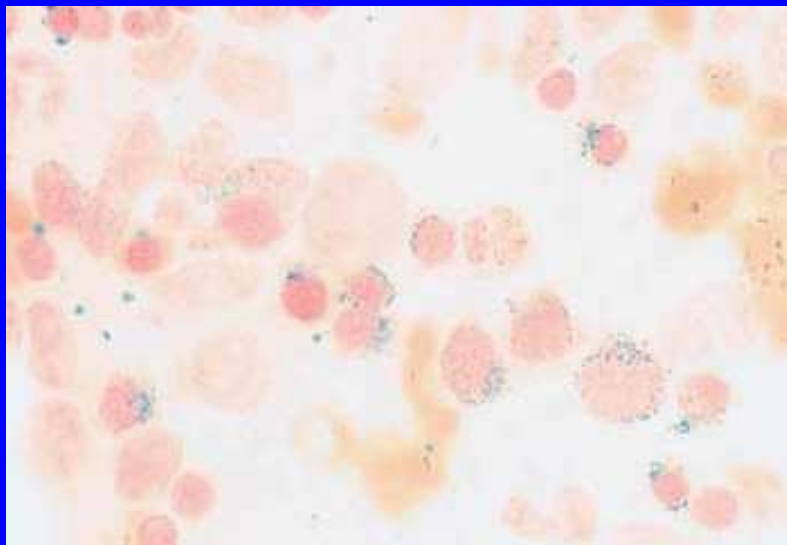
- Hodnocení:  
zelenomodrá granula v erytrocytech (siderocyty), v NRBC (sideroblasty), v makrofázích (siderofágy), zrnka v NRBC okolo  $\frac{2}{3}$  jádra (prstenčité sideroblasty)
  - normální hodnoty: 20 – 40 % pozitivních NRBC
- Klinický význam:
  - anémie
    - ✓ *např. sideropenické (nízké hodnoty)*
    - ✓ *např. refrakterní anémie s prstenčitými sideroblasty (vysoké hodnoty a prstenčité sideroblasty >15%), hemolytické anémie*

# Barvení Fe 3+





# Barvení Fe 3+



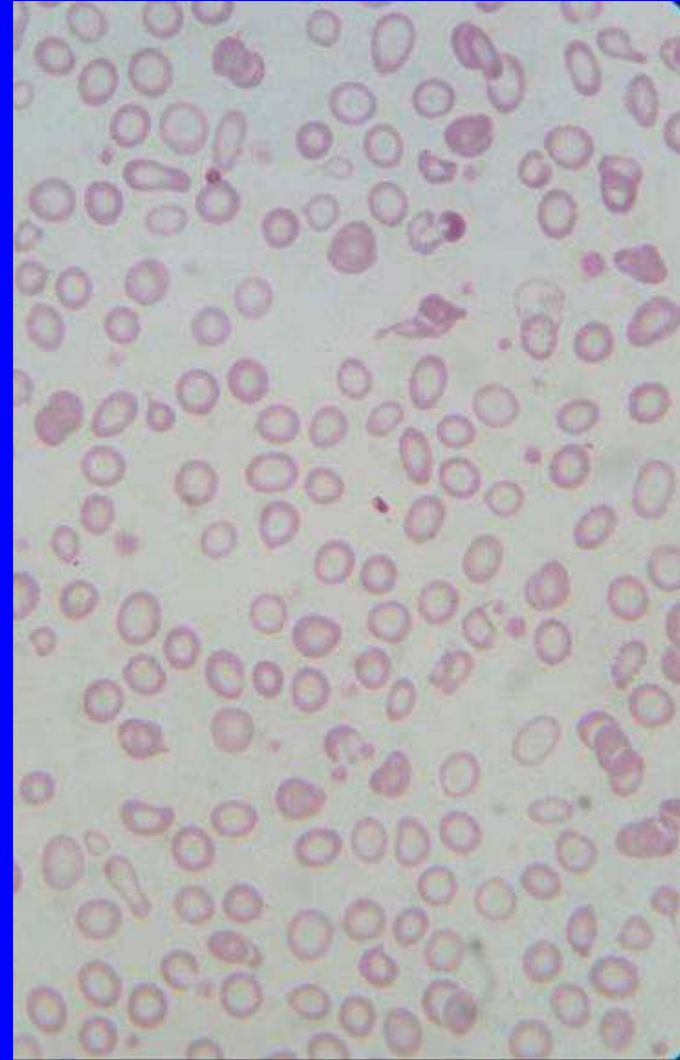
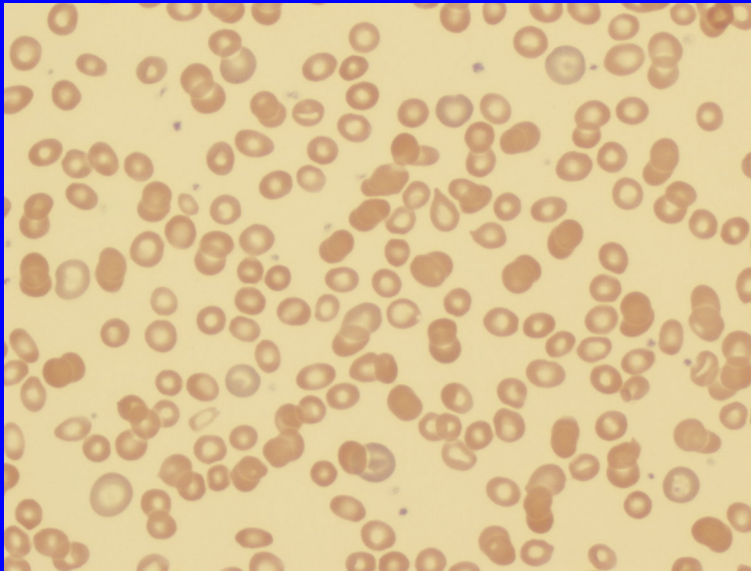
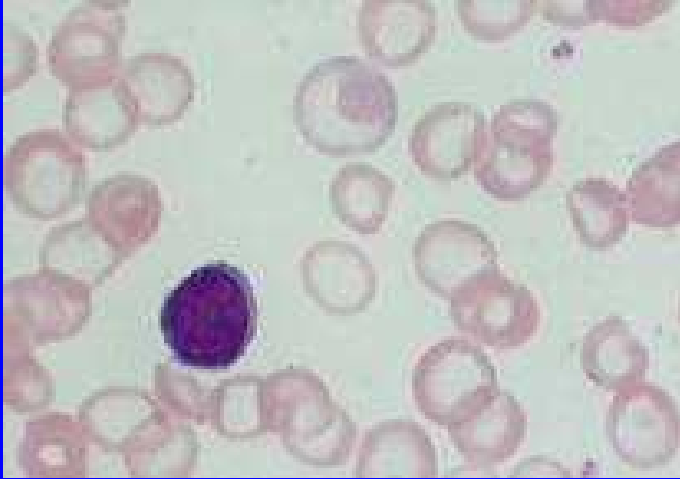
## *Porucha syntézy hemu*

### Sideropenická anémie

*(nedostatek železa)*

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

# Sideropenická anémie

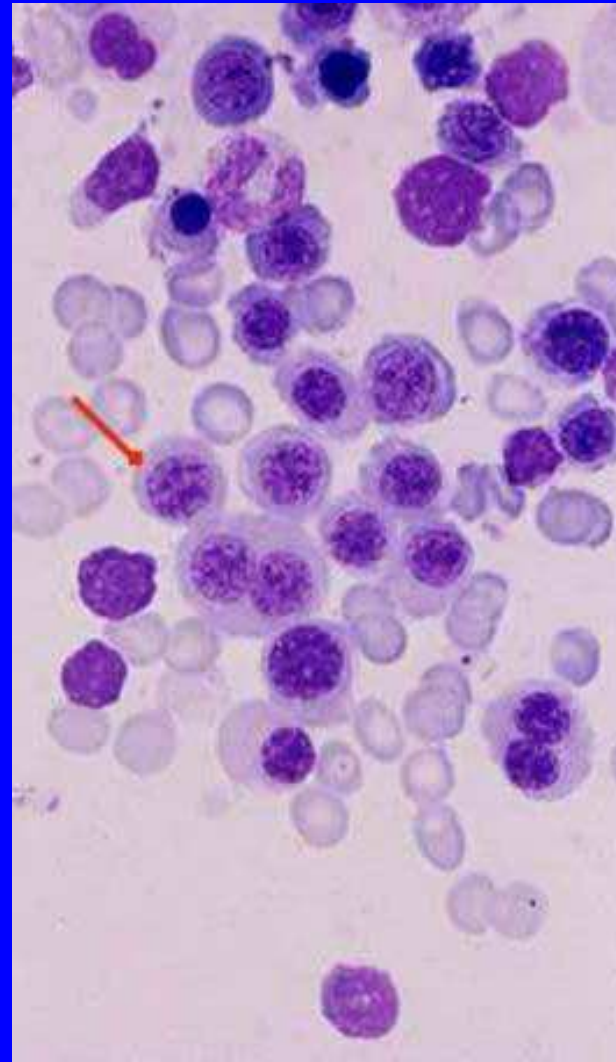
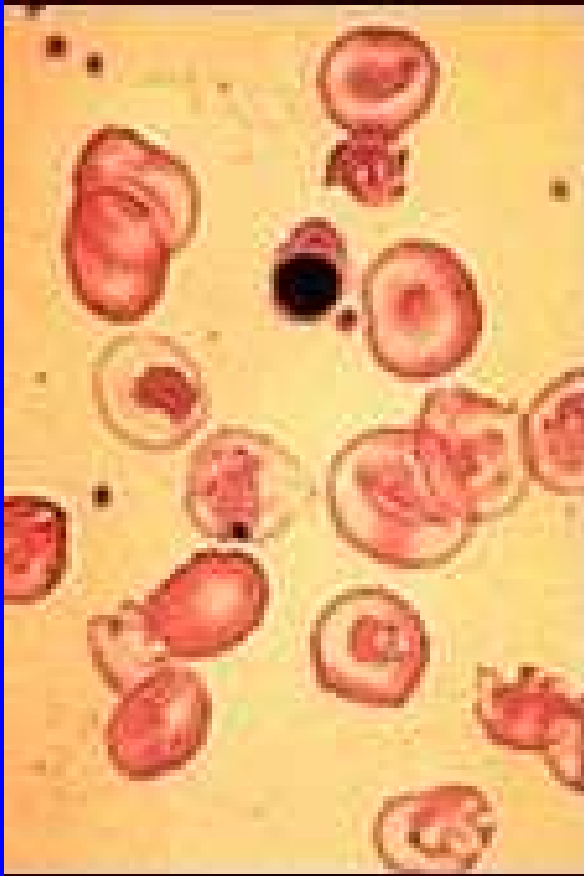


# *Porucha syntézy globinu*

## Thalasemie

- KO: nižší nebo normál. RBC, nižší nebo normál. HGB, výrazně snížené MCV, vyšší RDW, lehce vyšší WBC, lehce vyšší PLT
- 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



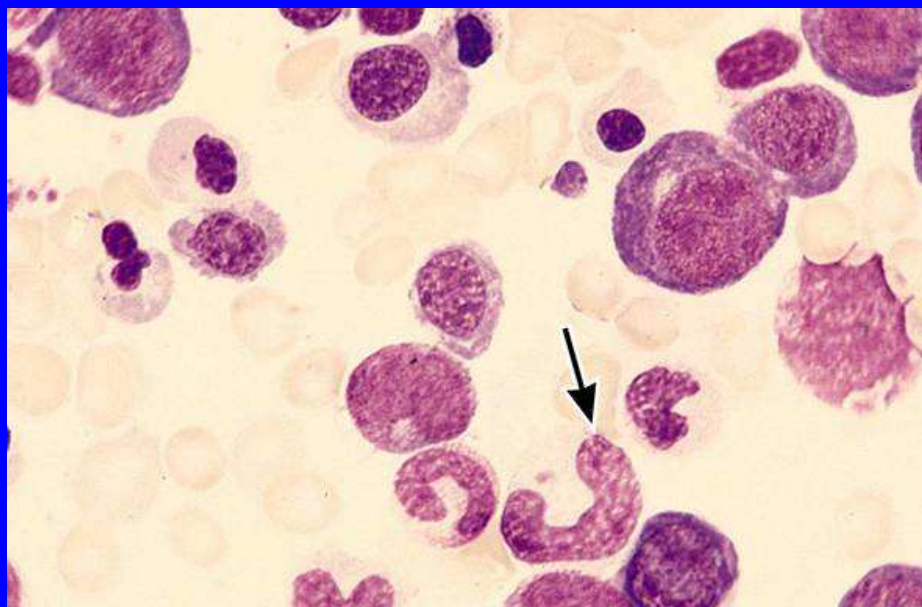
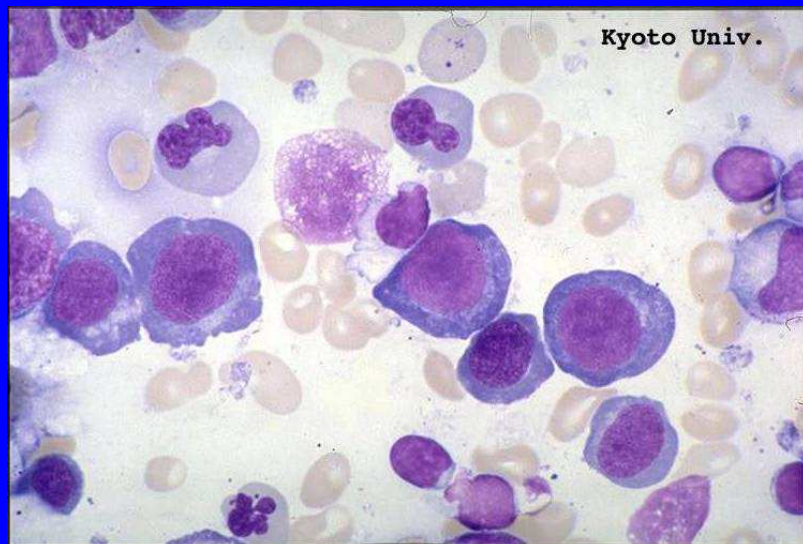
# *Porucha syntézy DNA*

## Megaloblastové anémie

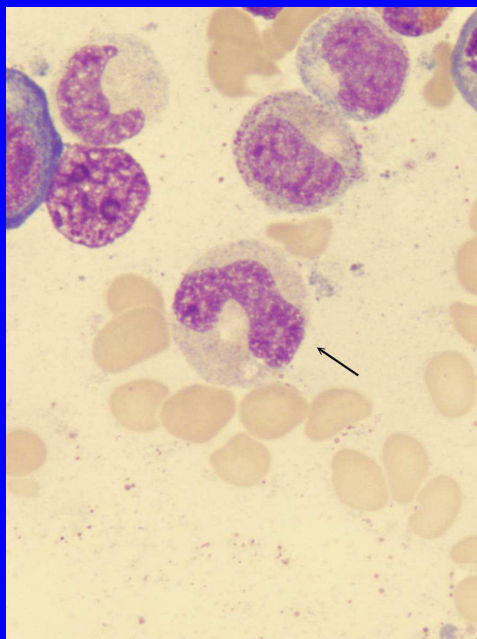
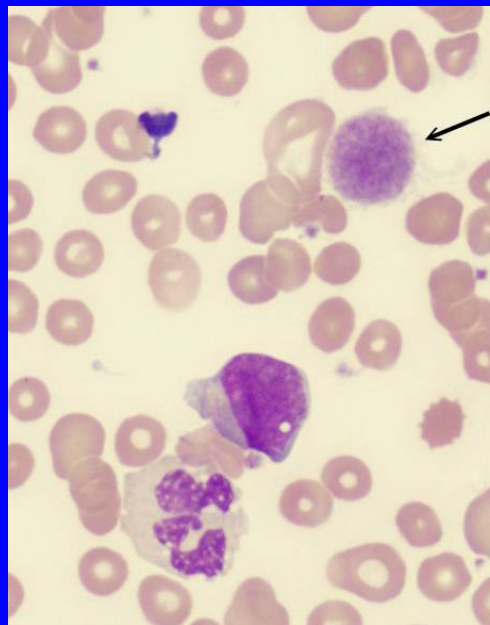
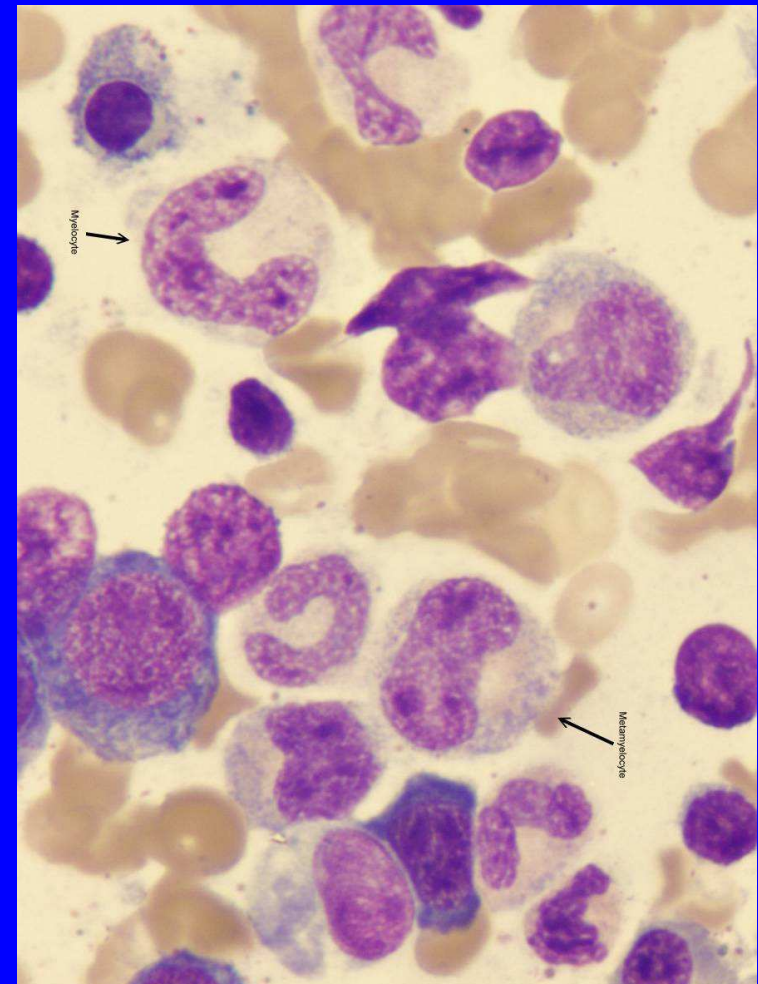
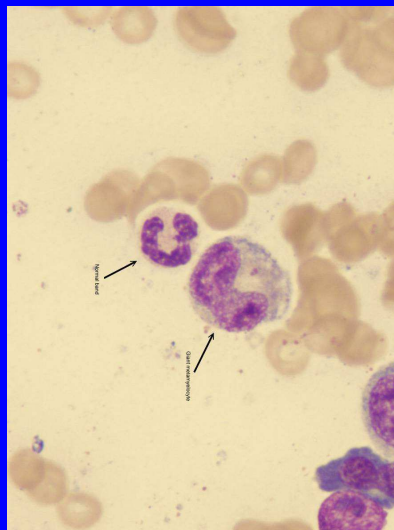
- KO: MCV  $>100\text{fl}$ , HGB až pod  $50\text{g/L}$ , vyšší RDW, snížení WBC, NE, PLT
- nátěr PK: makroovalocytóza, poikilocytóza, Cabotovy prstence, bazofilní tečkování, H.J. tělíka, NRBC, NE - hypersegmentace, větší buňky, větší laločnatost jader i u monocytů, velké až gigantické PLT
- nátěr KD: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



# Megaloblastová anémie



# Megaloblastová anémie





# *Aplastické anémie*

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

# *Dysplastické anémie*

*Dysplázie erythropoézy - porucha vyžívání,  
morfologické abnormality*

- Vrozené (kongenitální dyserythropoetické anémie - KDA)
  - perifrní krev: často makrocytóza, anizocytóza, poikilocytóza
  - kostní dřeň: často megaloidní rysy, vícejaderné NRBC, karyorexe, interplazmatické můstky, mitózy, bývají zvýšené 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 erytrocytární 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 tělíčka*
- *autohemolýza*
- *pink test*

## *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.

# Osmotická rezistence

příprava



normál



patologie

# Hemosiderin v moči

- Princip

Fe<sup>3+</sup> 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

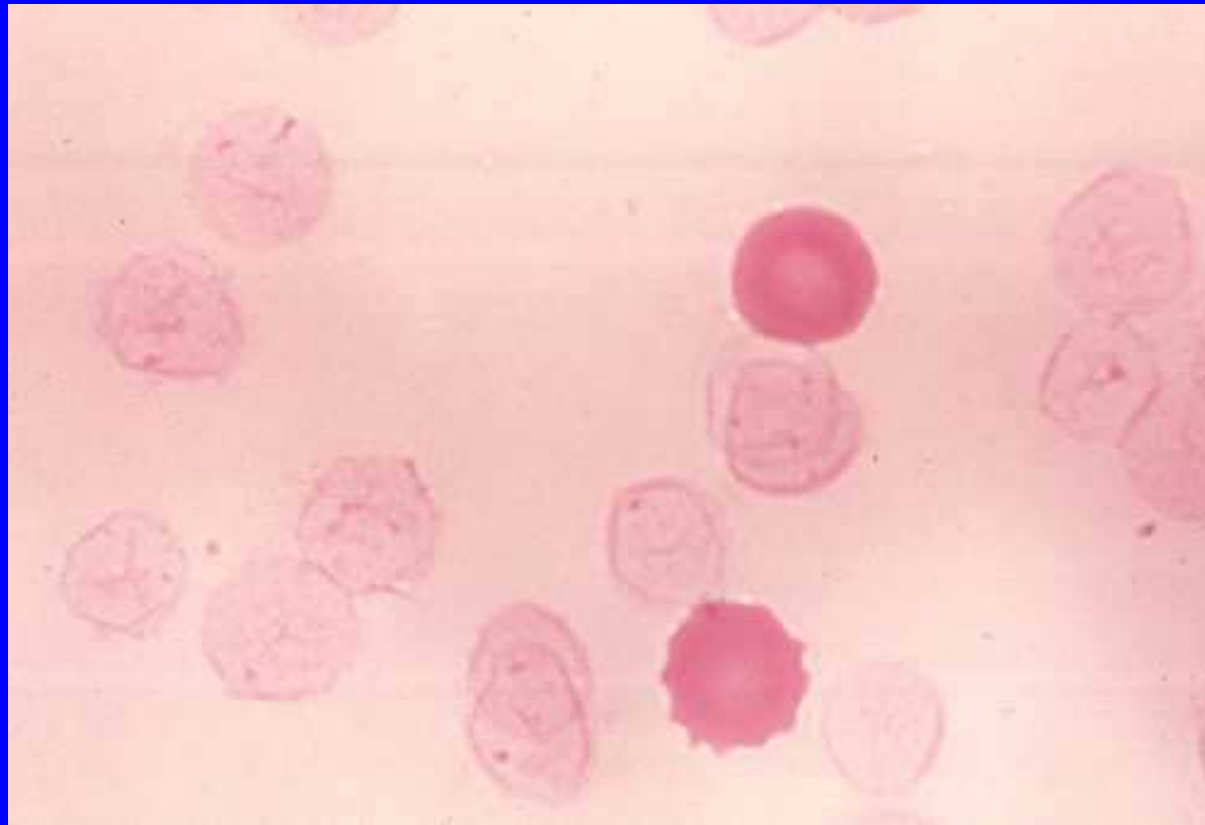
Nafixované, zaschlé nátěry se ponoří do pufru pH 3.3. Hemoglobin A (adult hemoglobin) je v buňce rozpuštěn a vyplaven, hemoglobin F (fetální hemoglobin) je ke kyselému prostředí rezistentní a v erytrocytu zůstává. Zbylý hemoglobin F se potom barví a odečítá mikroskopicky.

- 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 tělíška

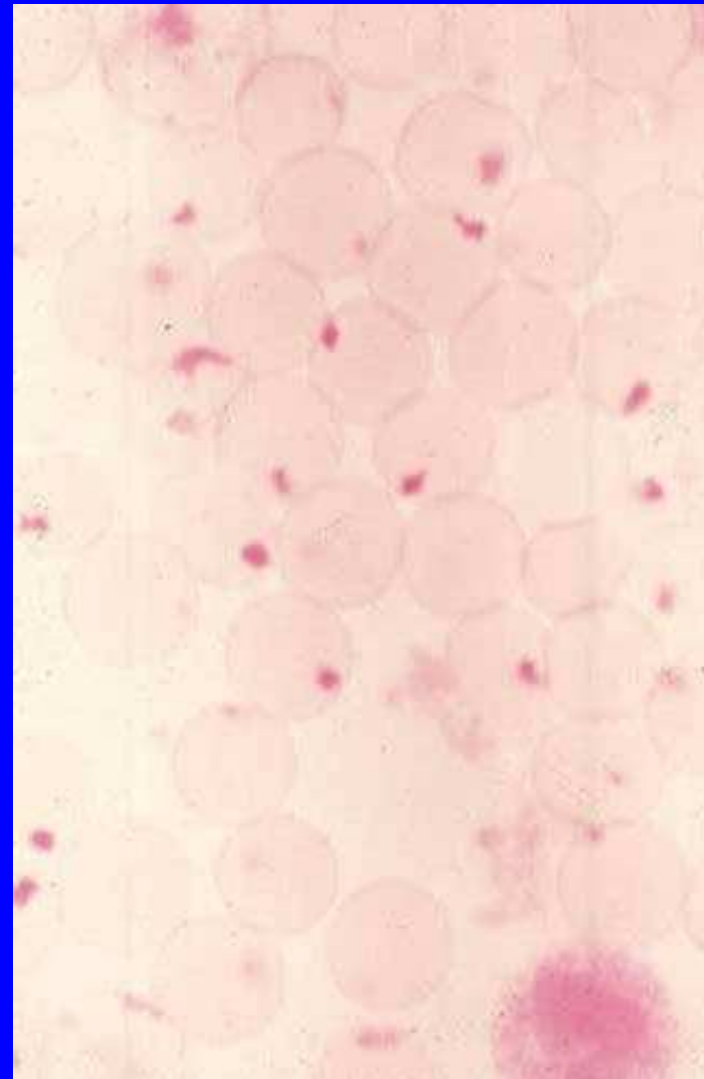
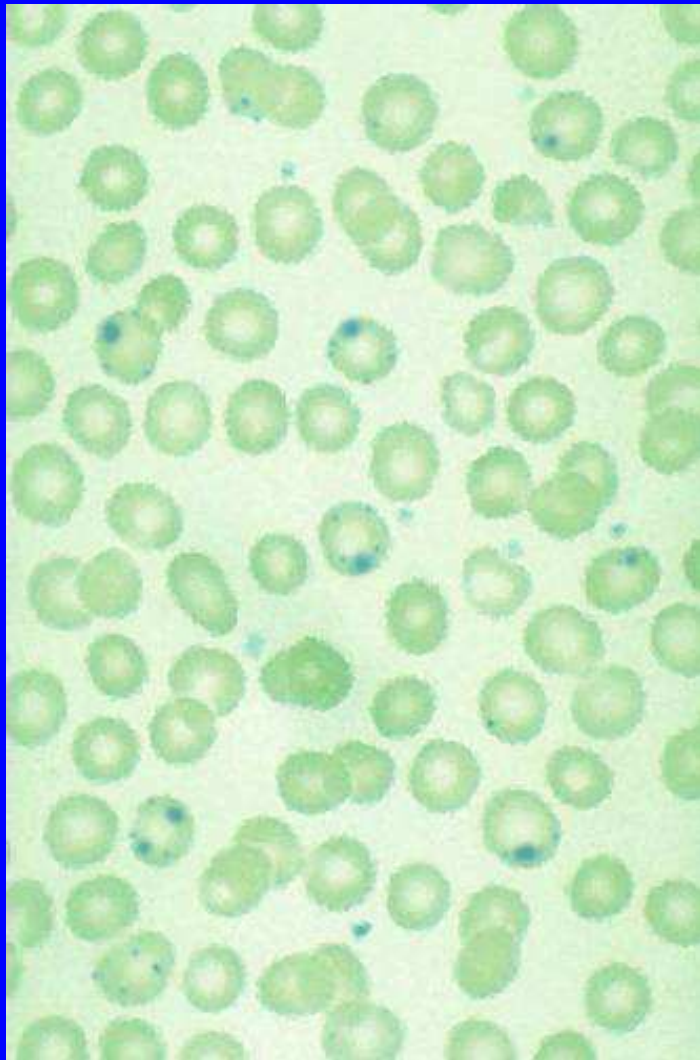
- Princip

Heinzova tělíška znázorňují vysrážený hemoglobin v případě, že glykolytické enzymy erytrocytů nejsou schopny zabránit oxidaci hemoglobinové molekuly. Precipitáty se jeví jako jedno nebo více oválných tělísek 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.