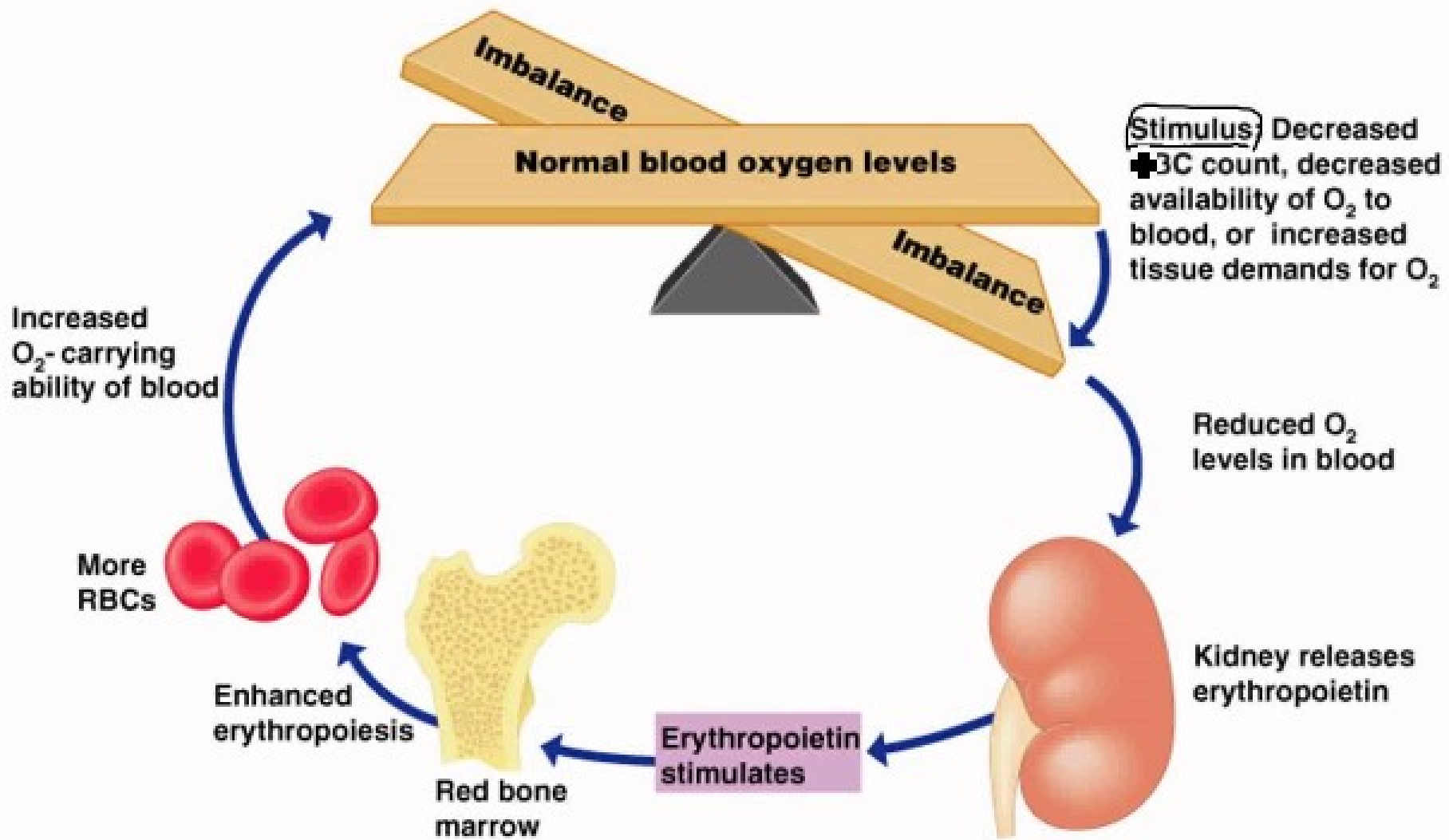


# Anémie

*Bourková L., OKH FN Brno*



ERYTHROPOIETIN IS A HORMONE PRODUCED BY KIDNEYS WHICH REGULATES ERYTHROCYTE PRODUCTION IN MYELOID TISSUE IN RED BONE MARROW



# *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

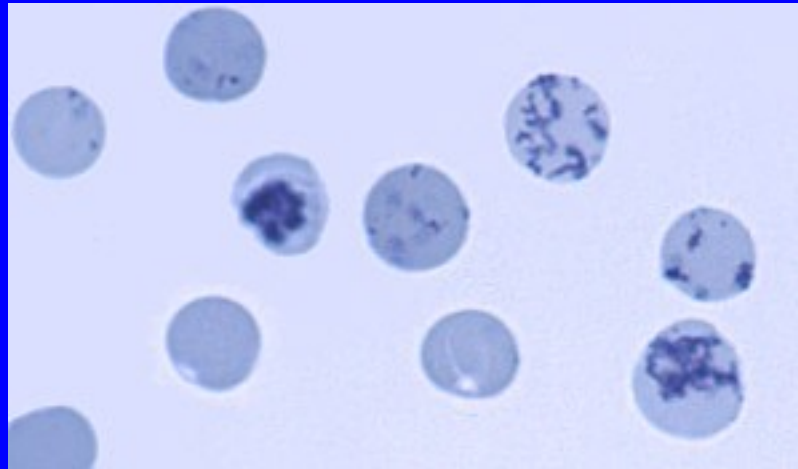
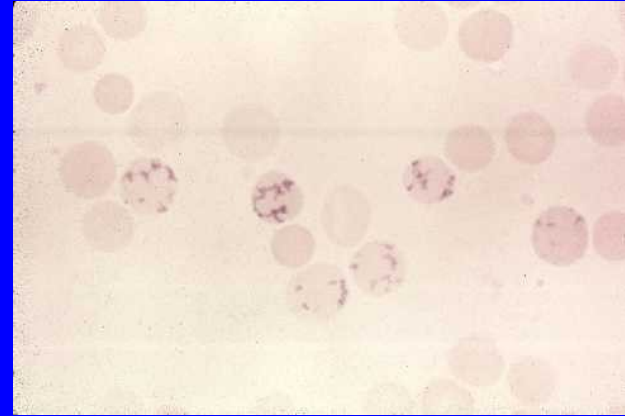
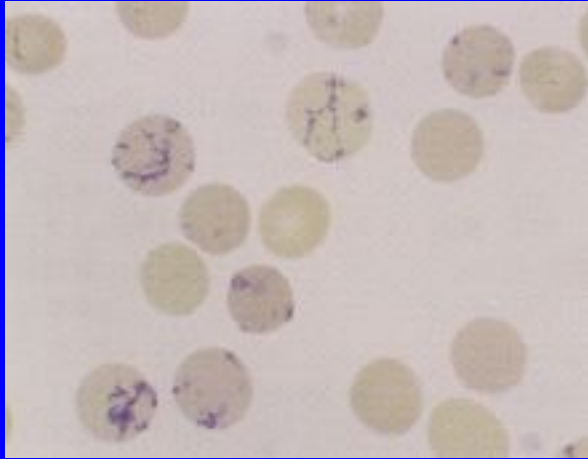
Barvení RNA v erythrocytech:

- 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 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 – 75 x 10<sup>9</sup>/L

# Cytochemické vyšetření zásobního Fe - I

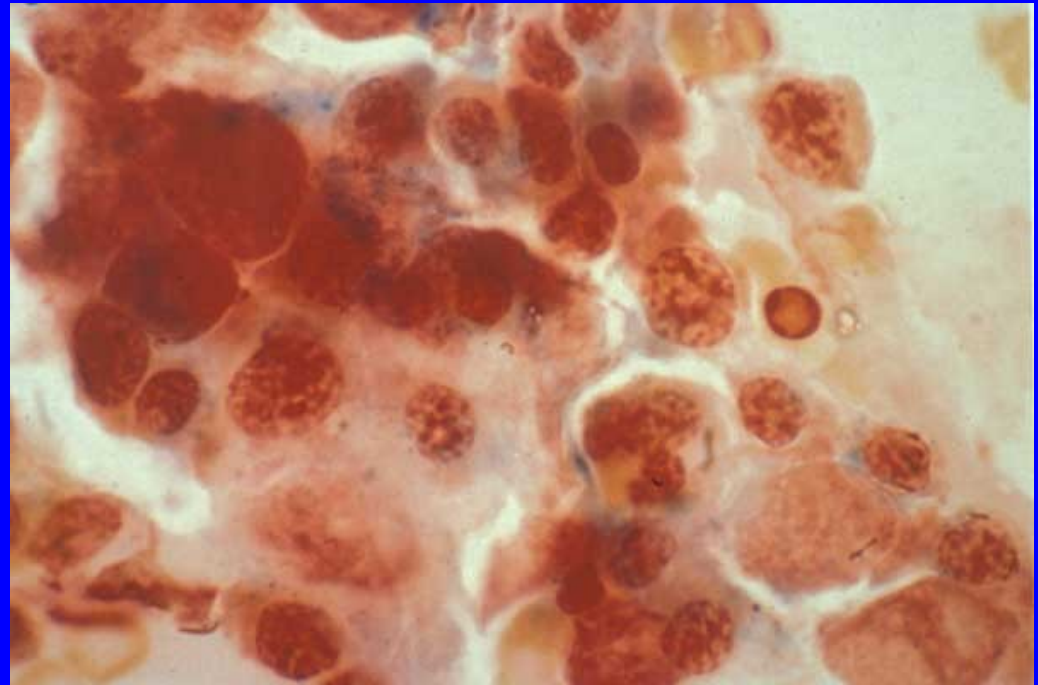
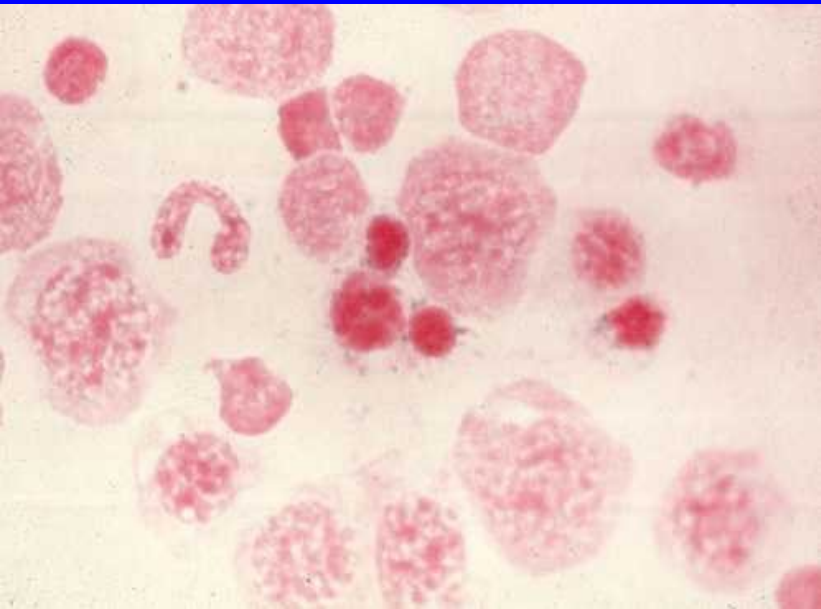
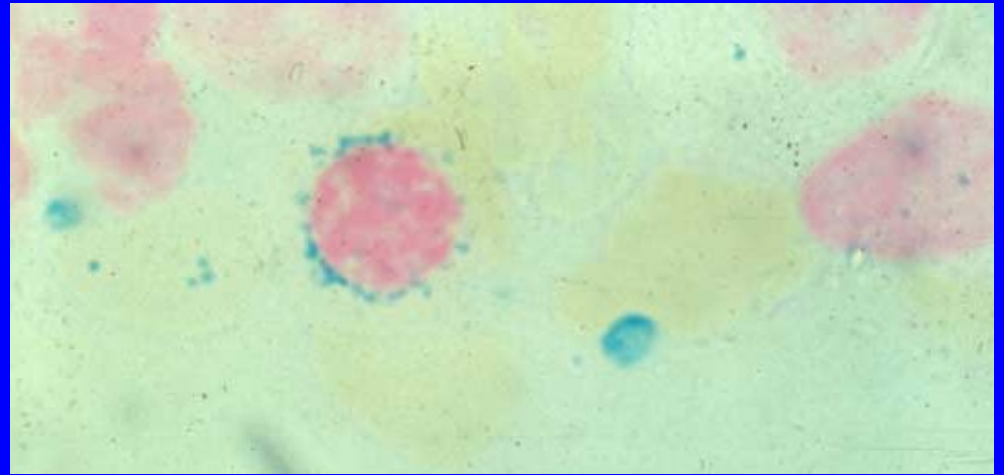
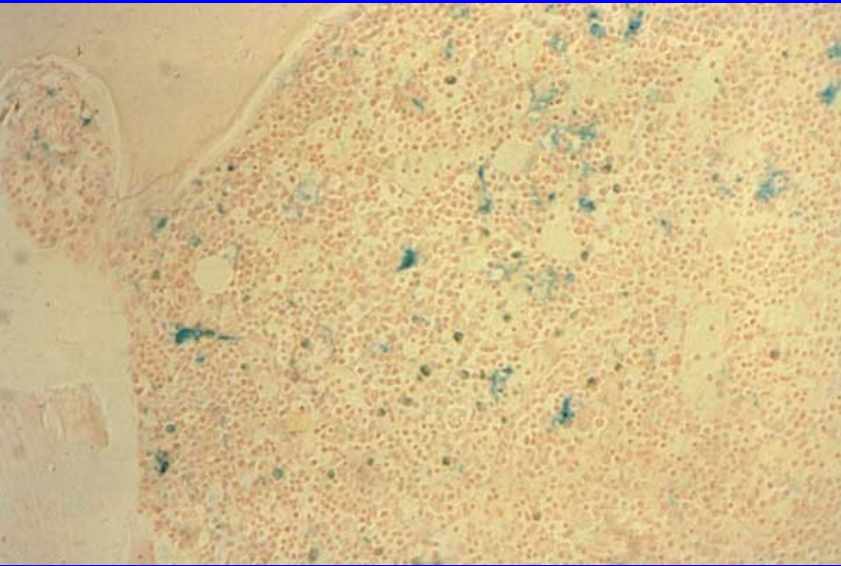
- Zásobní (*nehemové*) železo ve formě  $\text{Fe}^{3+}$ 
  - v erytrocytech
  - NRBC
  - makrofázích
- Princip:  
 $\text{Fe}^{3+}$  tvoří s ferrokyanidem draselným a kyselinou chlorovodíkovou barevný komplex – berlínskou modř.



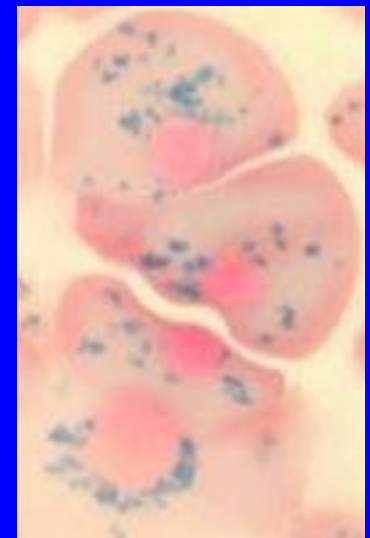
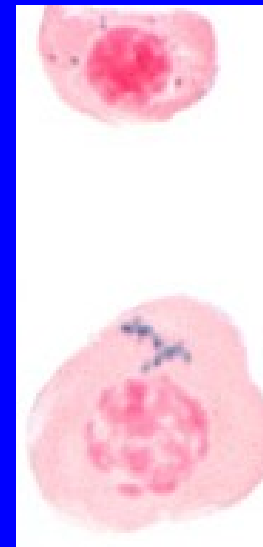
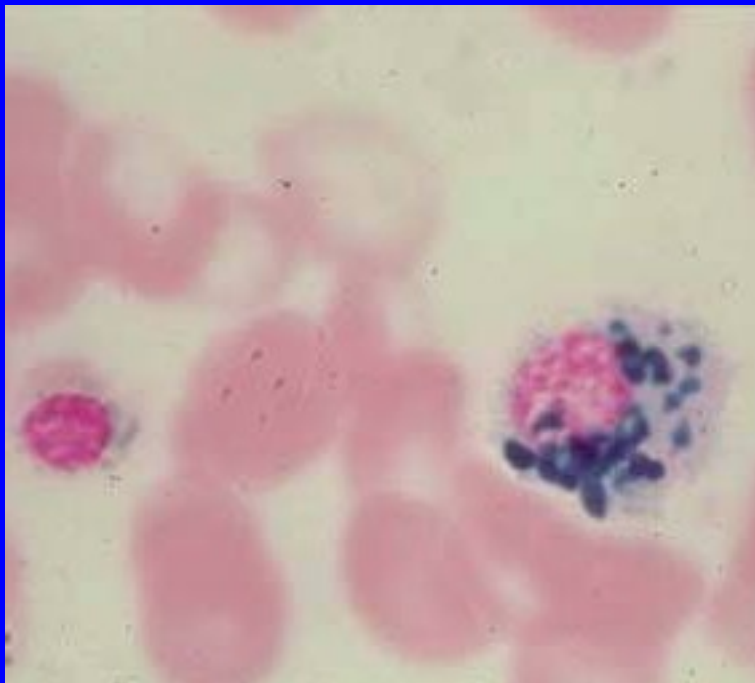
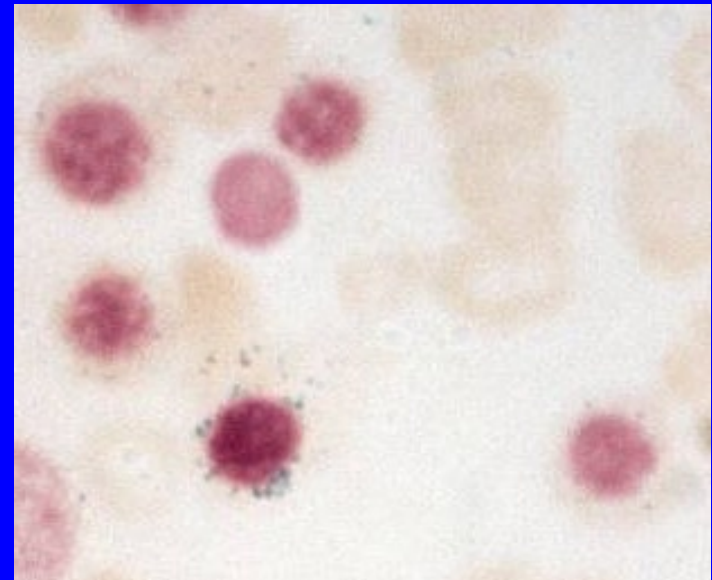
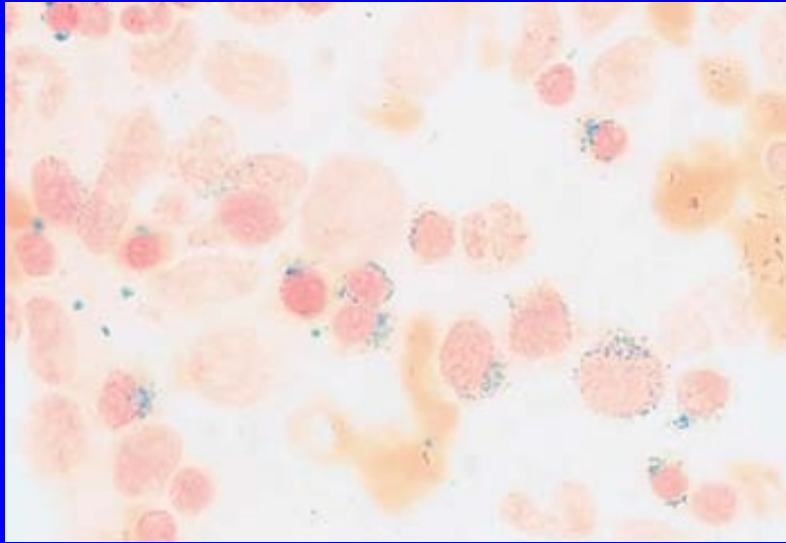
# Cytochemické vyšetření zásobního Fe - II

- 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 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<sup>3+</sup>



# Barvení Fe 3+



# *Porucha syntézy hemu*

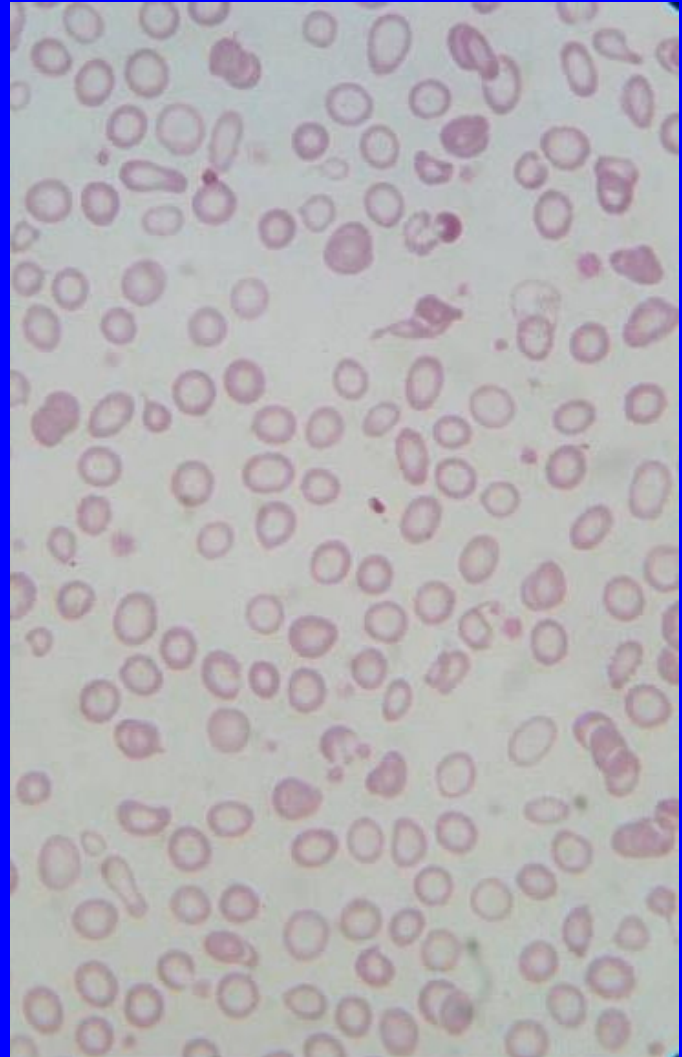
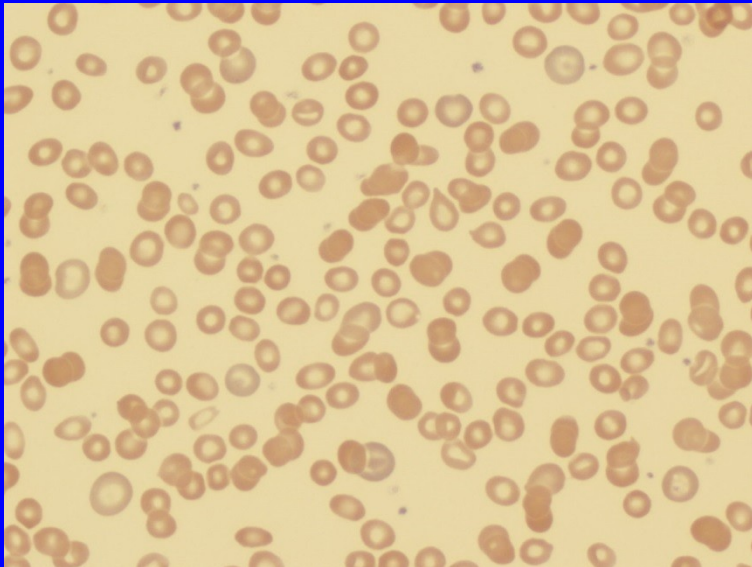
## Sideropenická anémie

*(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

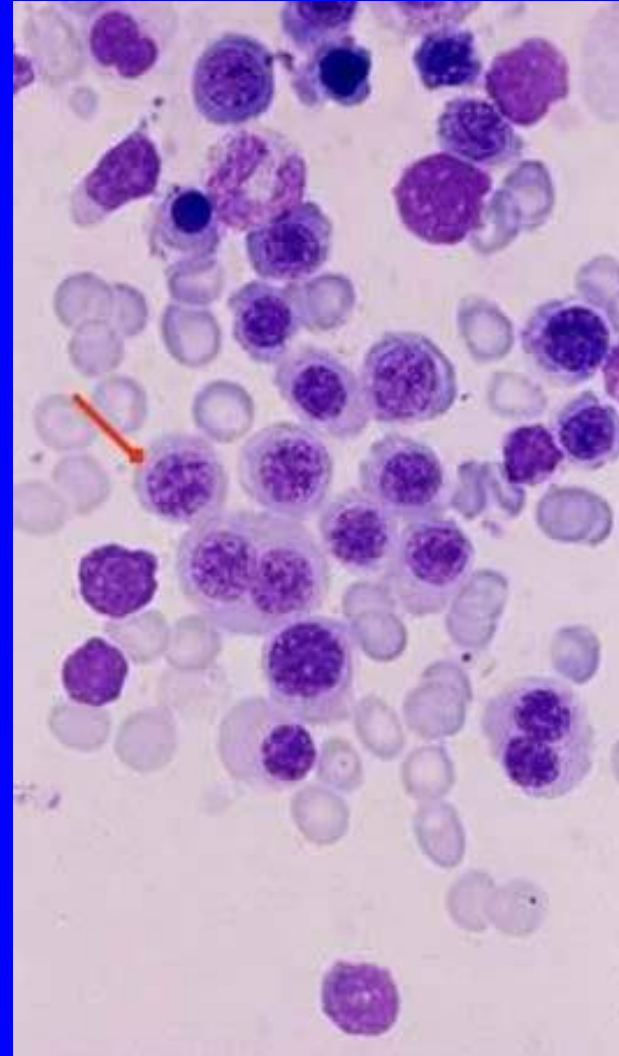
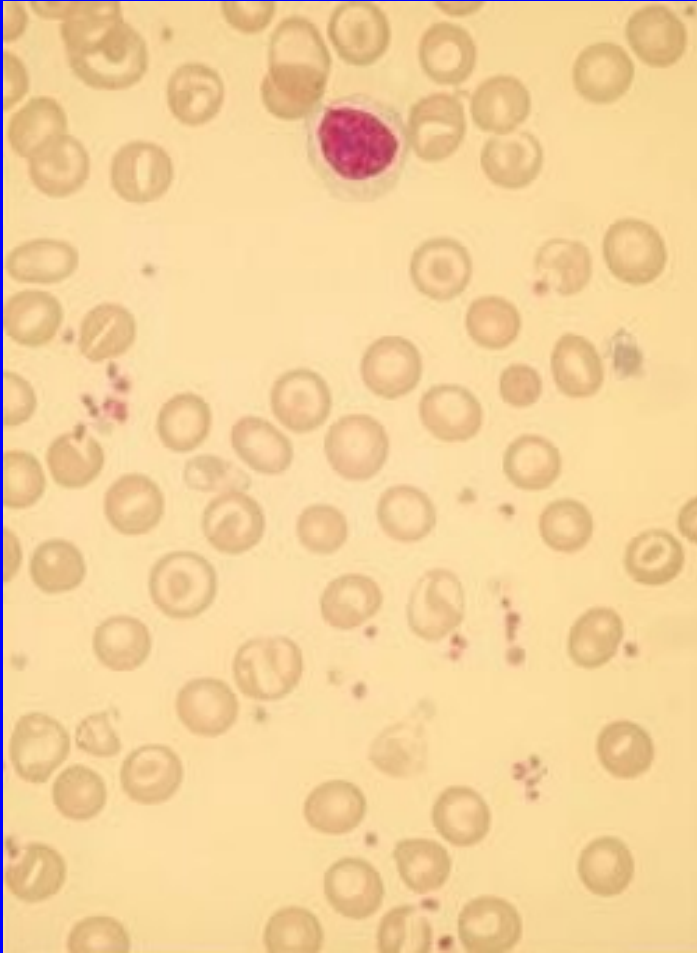


# *Porucha syntézy globinu*

## 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

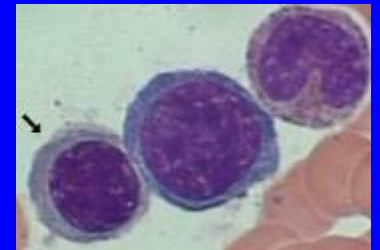
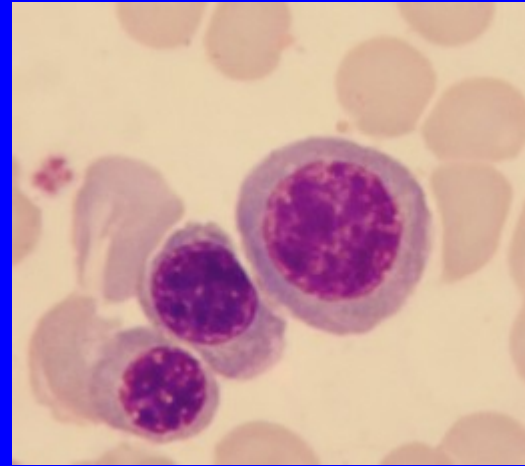
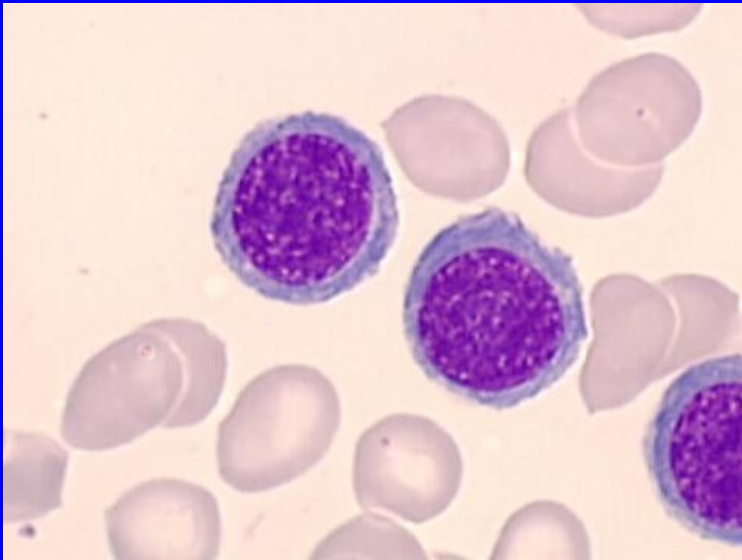


# Porucha syntézy DNA

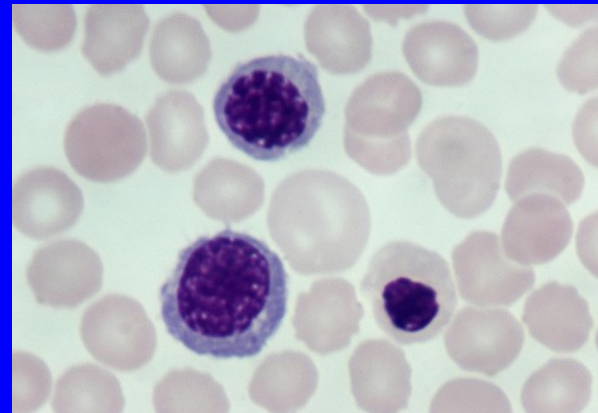
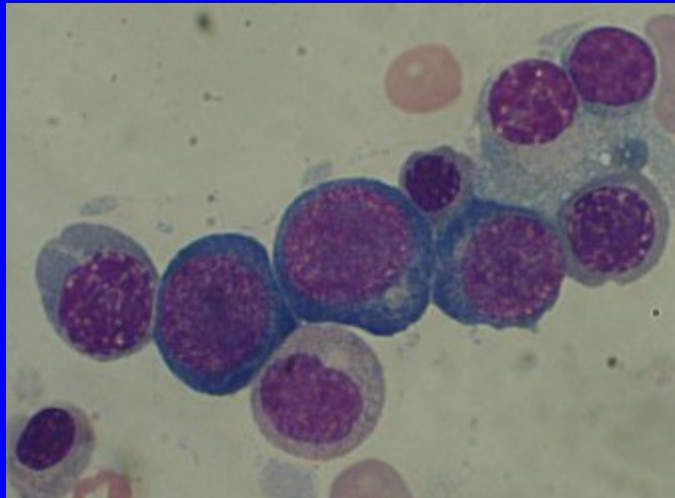
## Megaloblastové anémie

- KO: MCV  $>100\text{fl}$ , HGB až pod  $50\text{g/L}$ , 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)

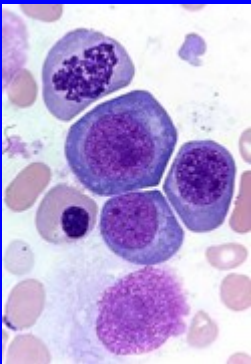
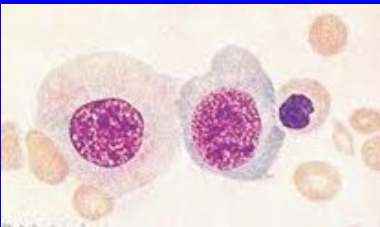
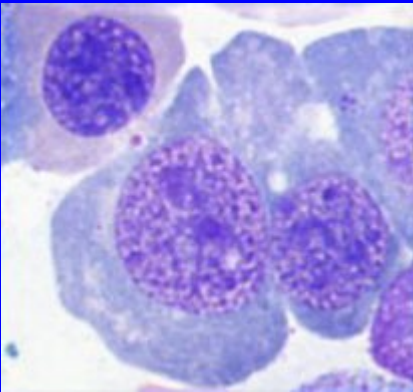
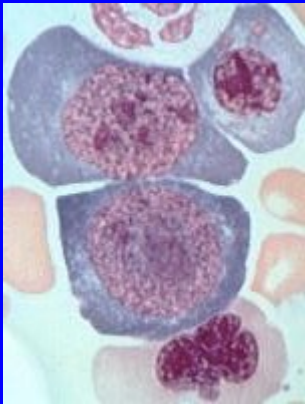
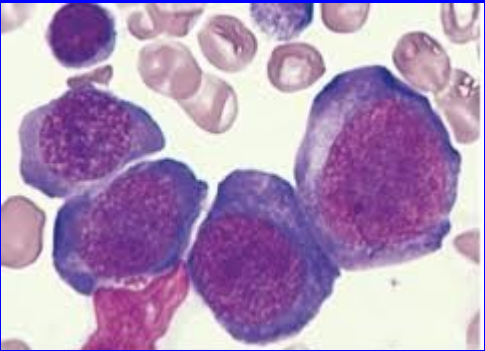




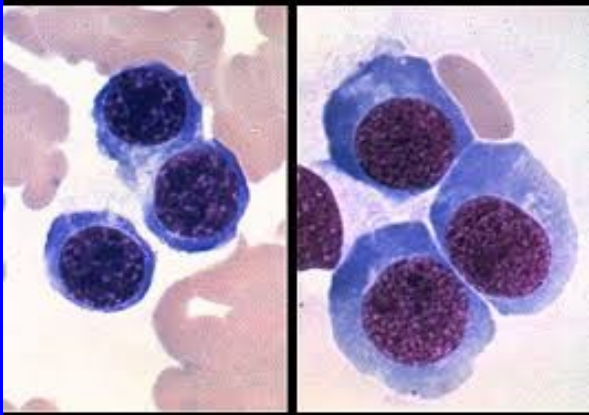
NRBC



# Megaloblasty

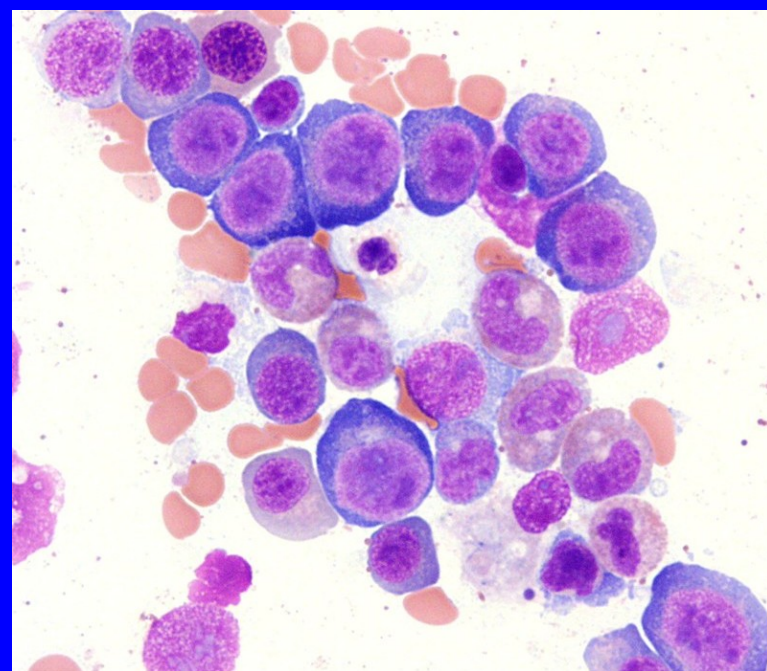
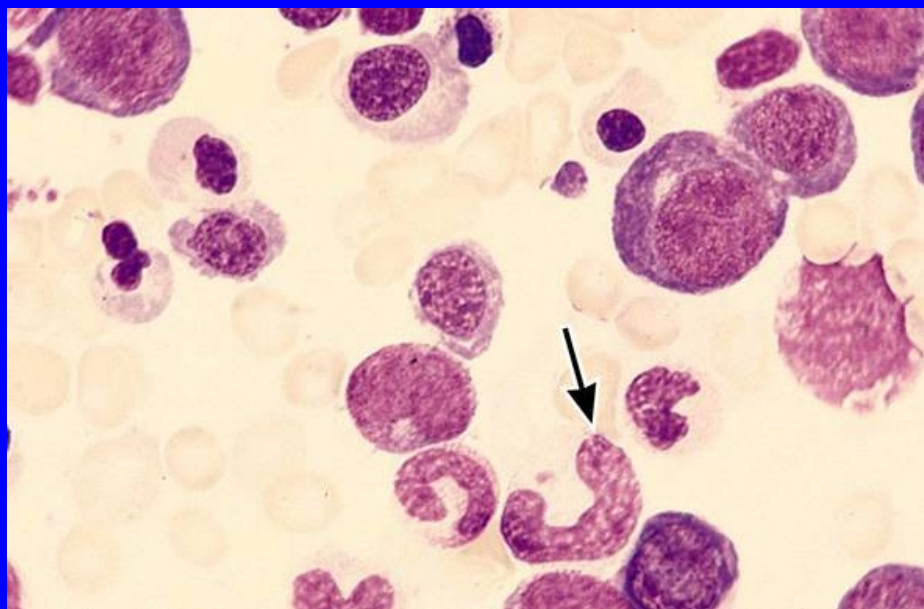
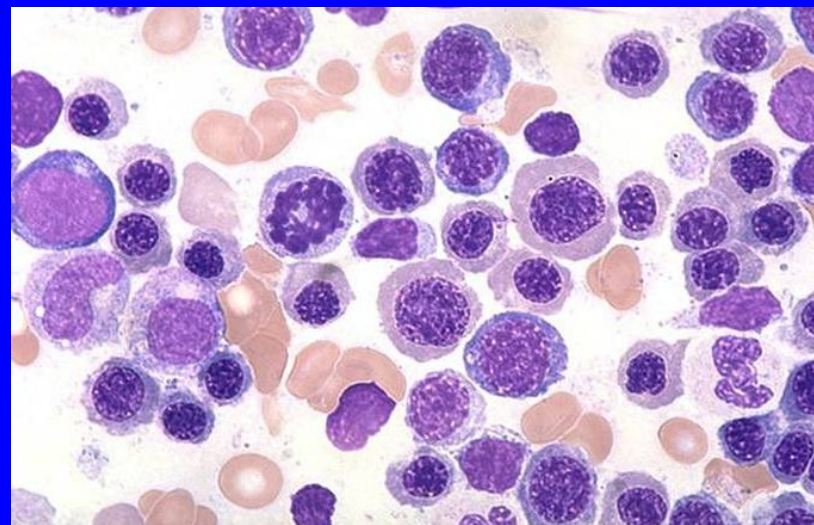
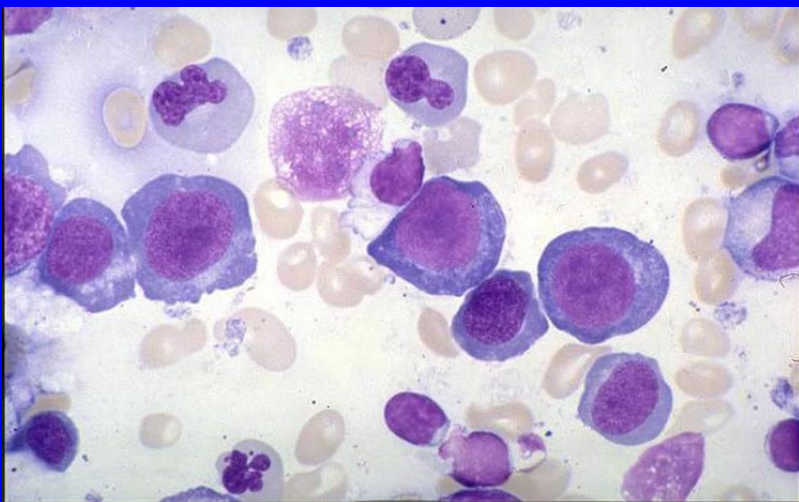


NRBC X Megaloblast



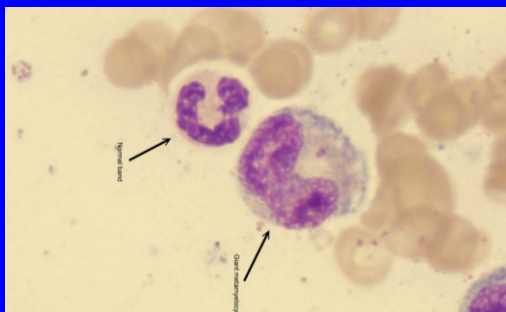
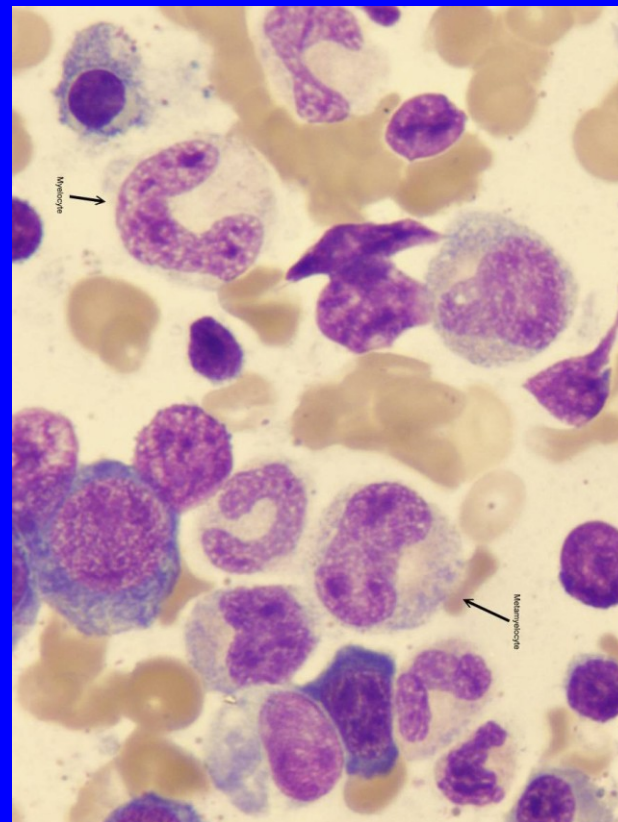
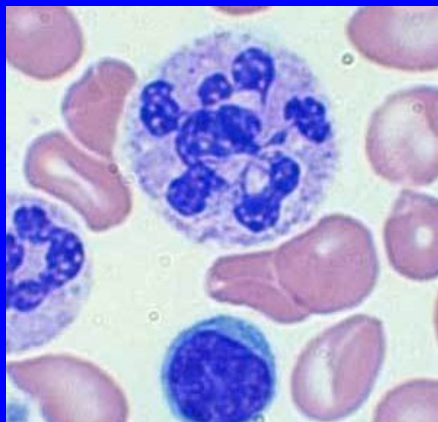
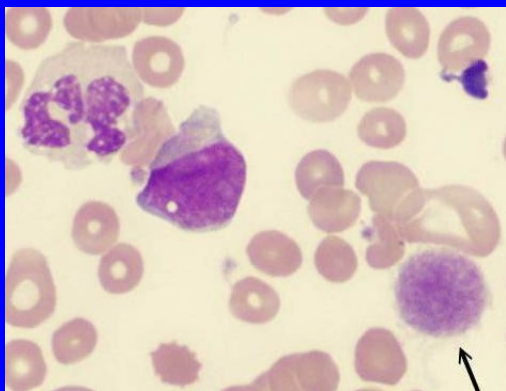
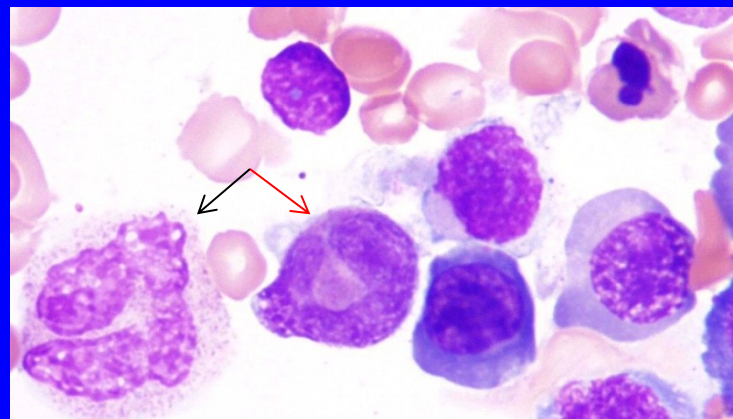
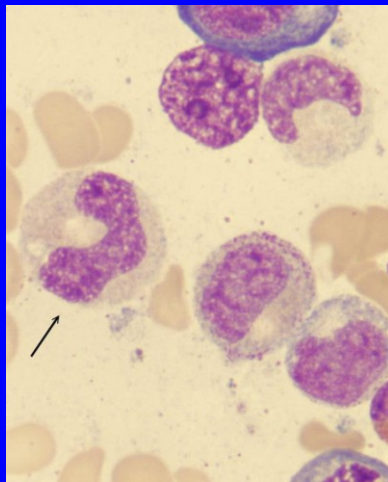
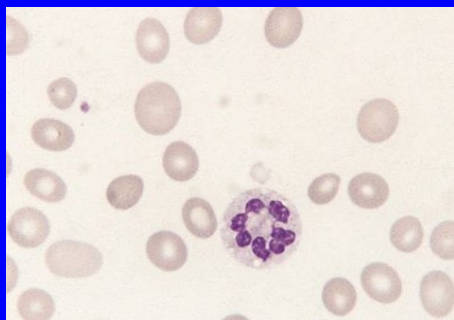


# Megaloblastová anémie



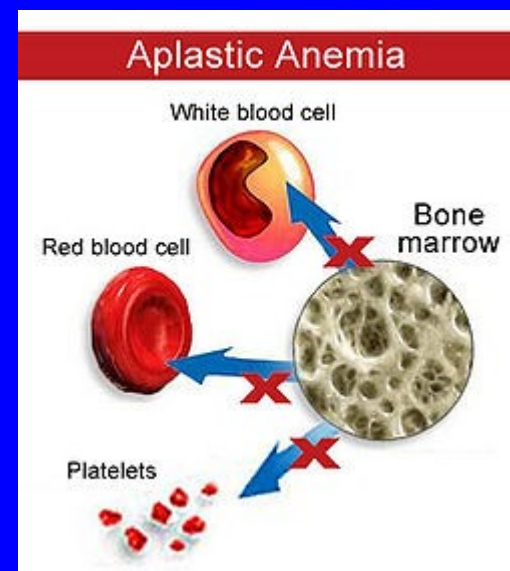


# Megaloblastová anémie

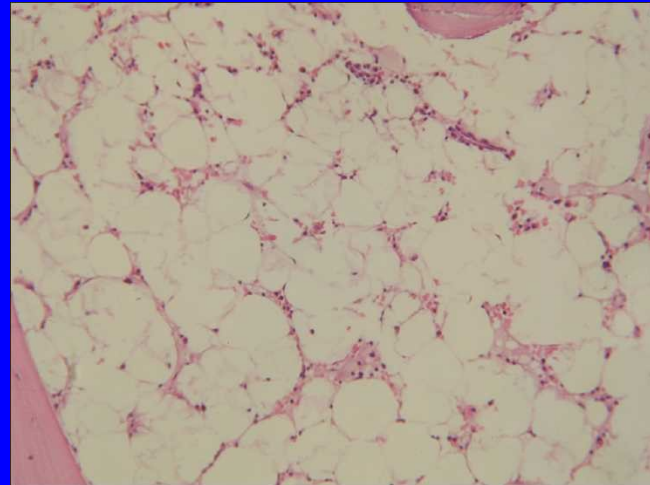
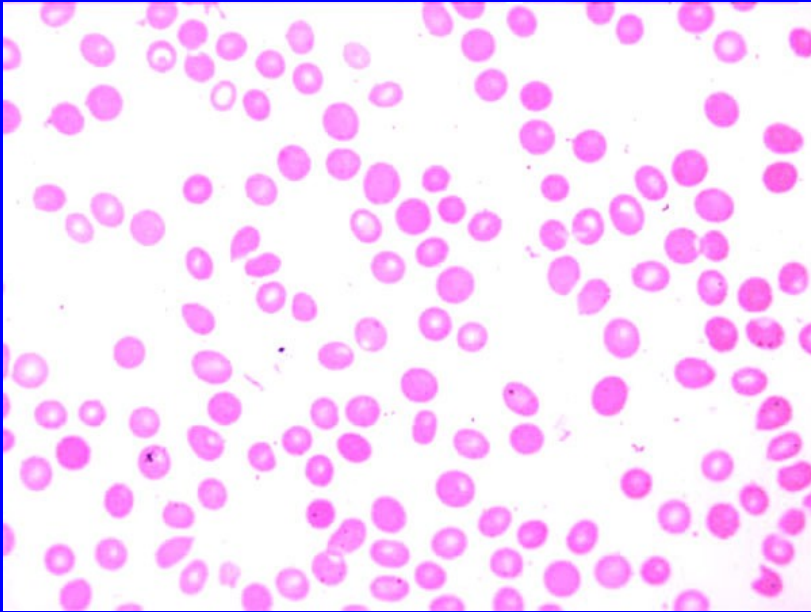


# Aplastické anémie - dřeňový útlum

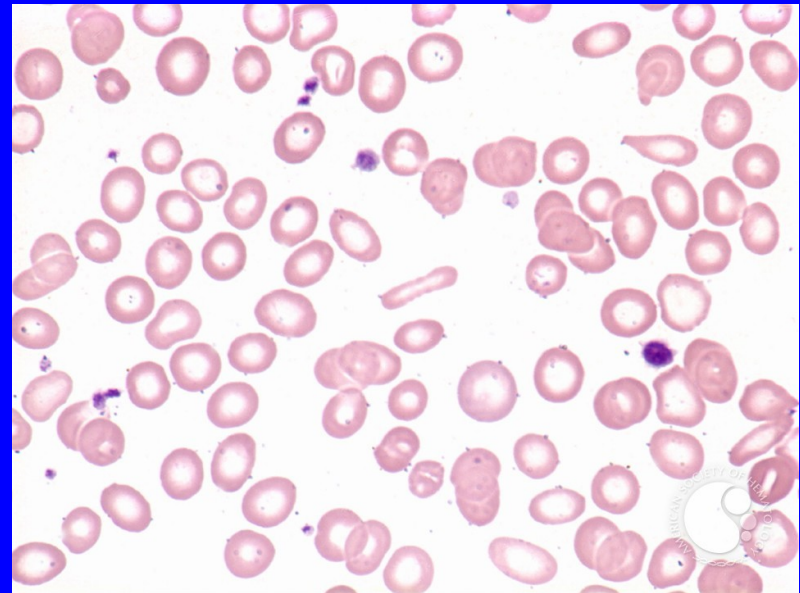
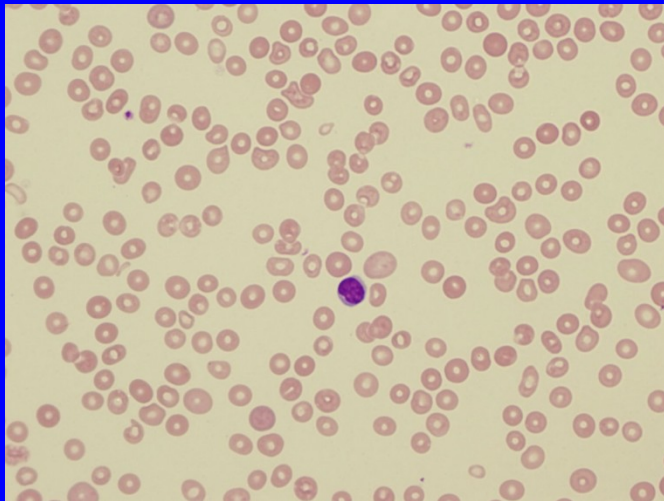
- *porucha kmenové (mateřské) buňky*
- periferní krev:  
pancytopenie nebo alespoň  
anemie a trombocytopenie,  
mírná makrocytóza a anizocytóza
- kostní dřeň:  
obvykle hypoplastická až aplastická



# 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(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.*

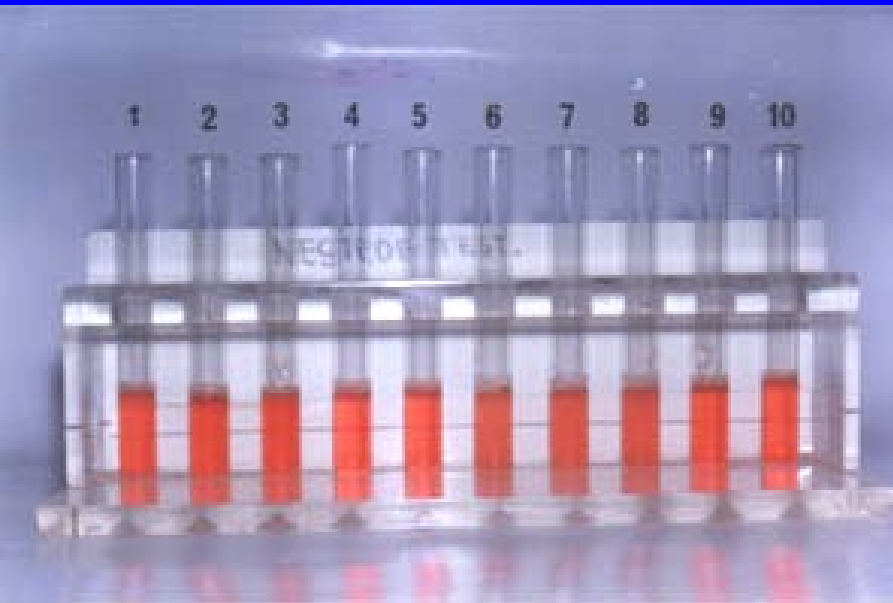
# Osmotická rezistence

- 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

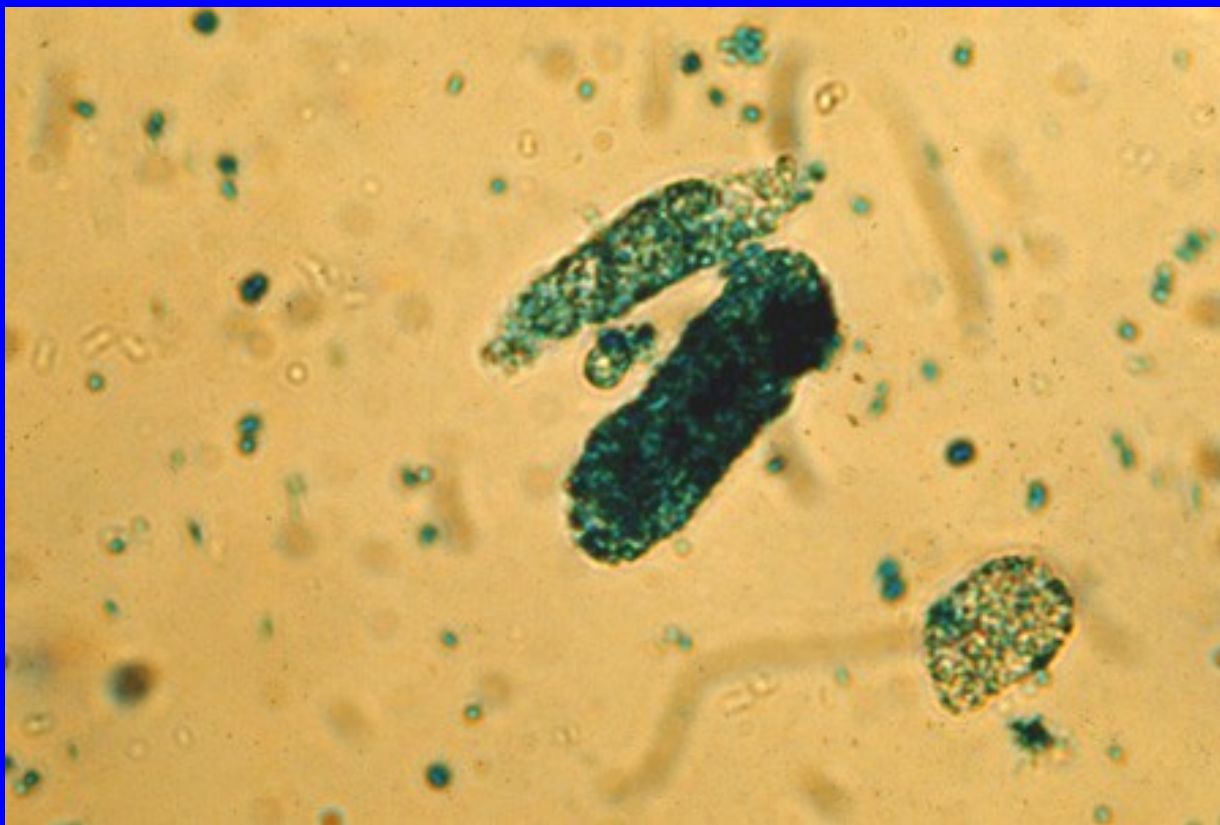
Fe<sup>3+</sup> v hemosiderinu reaguje s kyselým roztokem ferrokyanidu draselného na ferrokyanid železitý, který vytváří krystalky berlínské modři.

- Hodnocení

přítomnost modrých krystalů v moči

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

# Hemosiderin v moči



# Hemoglobin F

- Princip

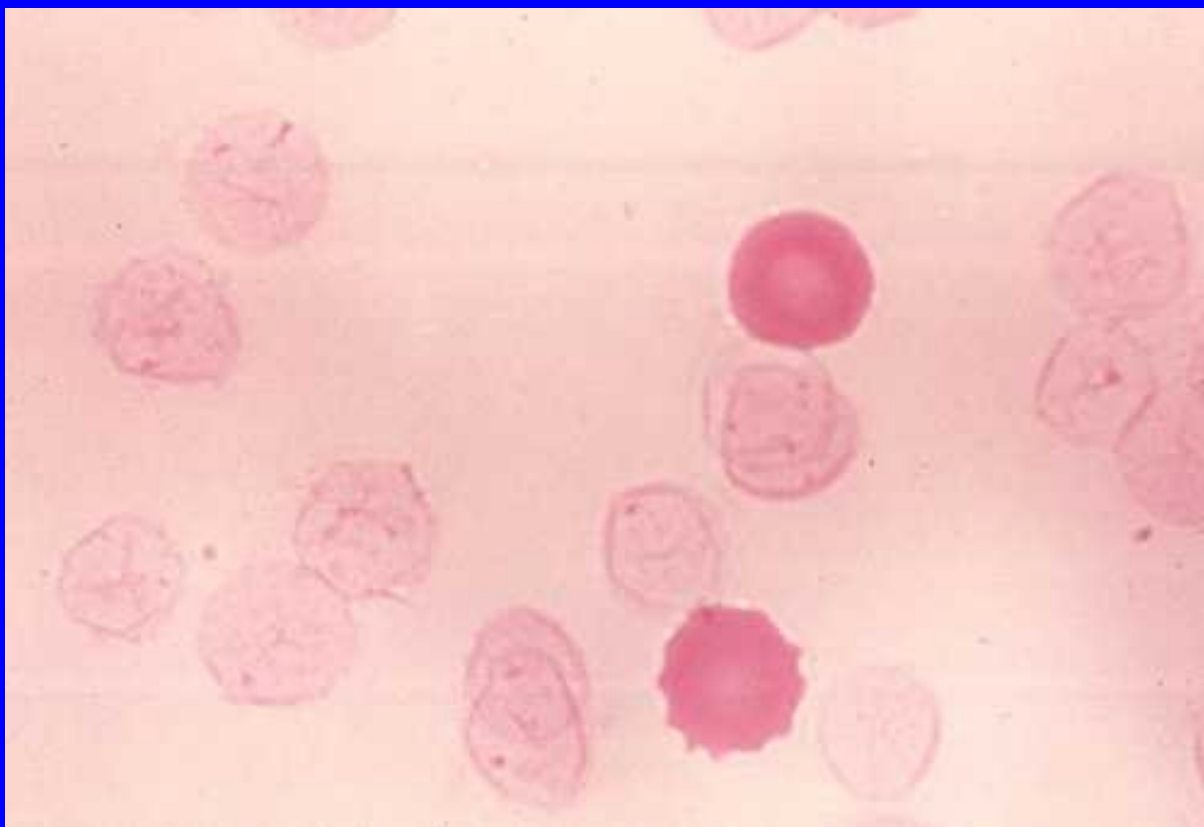
Nafixované, zaschlé nátěry se ponoří do pufru pH 3.3. Hemoglobin A (adult hemoglobin) je v buňce rozpuštěn a vyplaven, hemoglobin F (fetální hemoglobin) je ke kyselému prostředí rezistentní a v erytrocytu zůstává. Zbylý hemoglobin F se potom barví a odečítá mikroskopicky.

- 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 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.

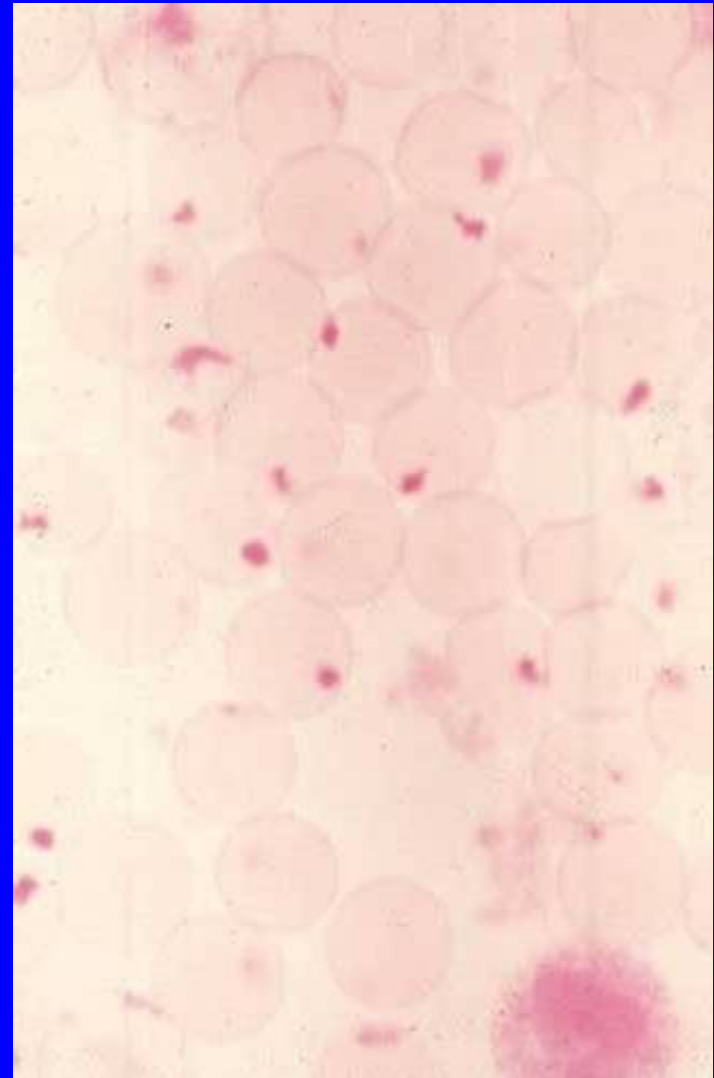
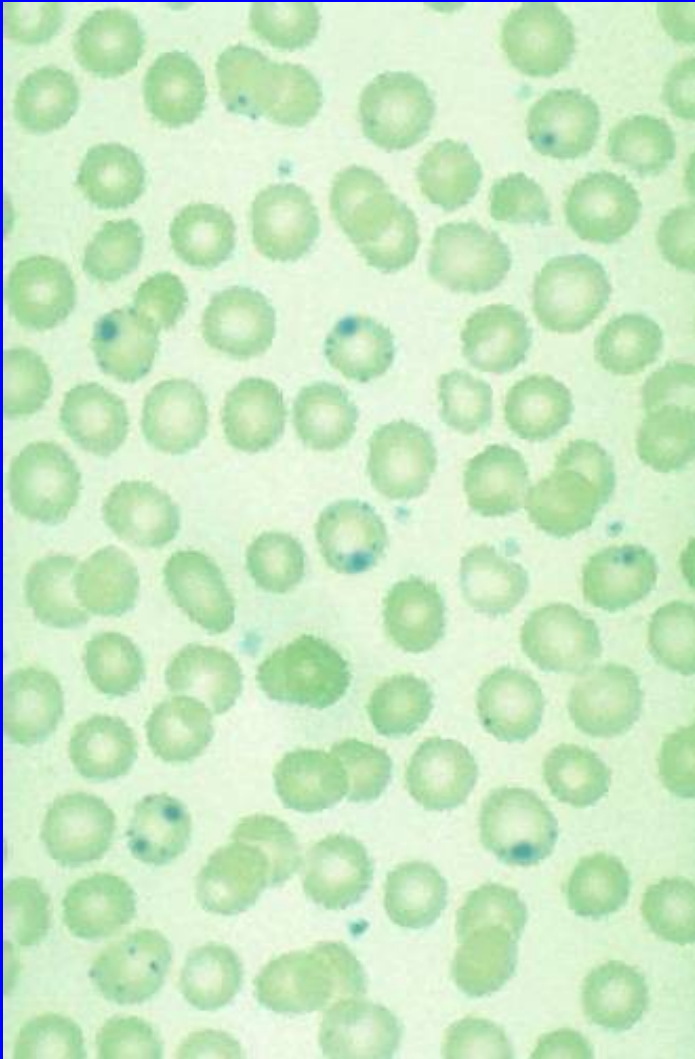
- Hodnocení

normální erytrocyty jsou negativní

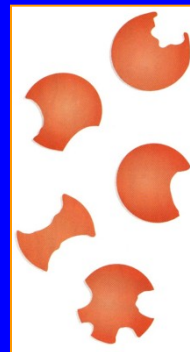
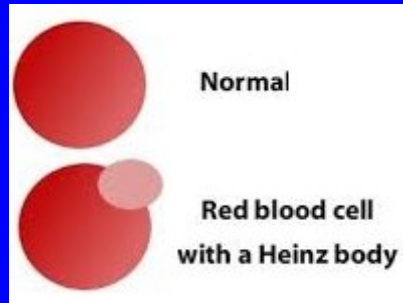
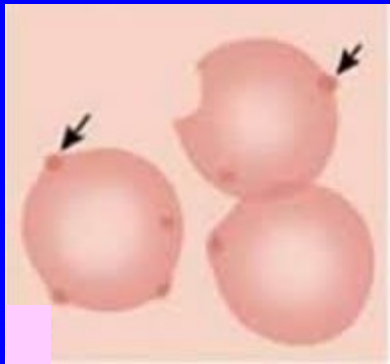
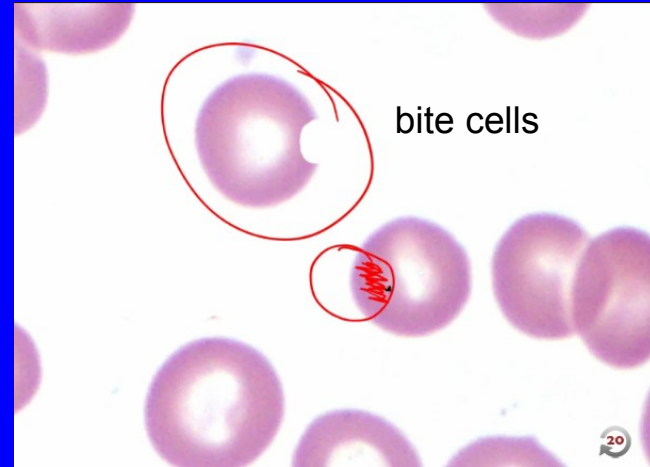
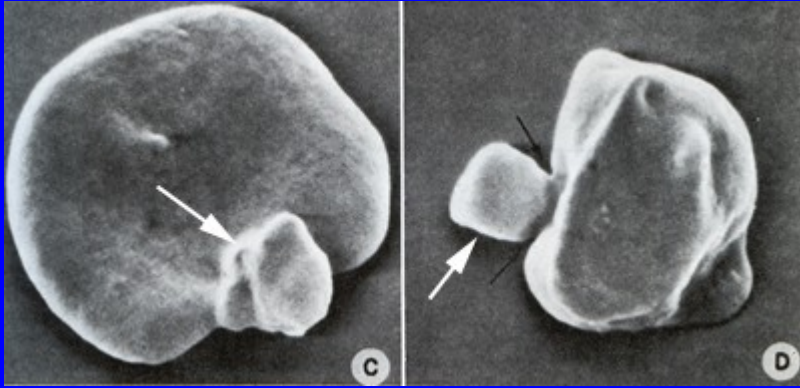
- Klinický význam

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

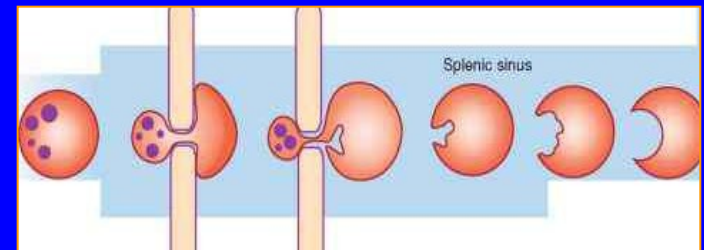
# Heinzova tělíska



# Heinzova tělíska



bite cells



# 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.