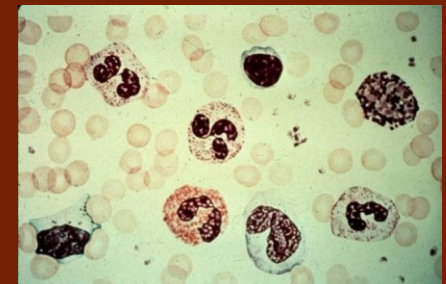


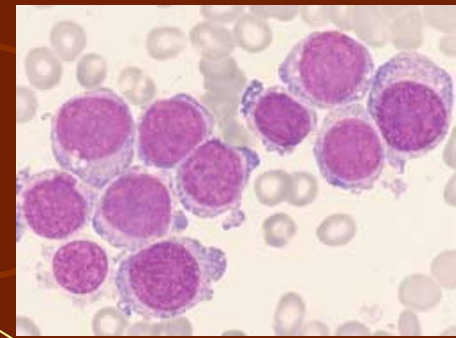
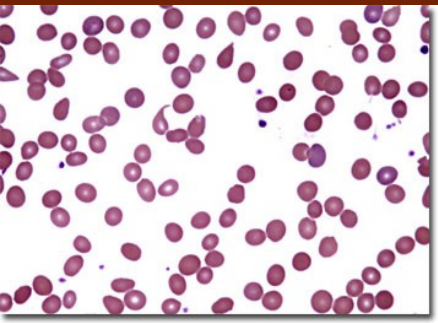


Hematologie: Anémie

MUDr. Stanislav Matoušek



HEMATOLOGIE



Anémie apod.
(nedostatek
elementů)
trombocytopenie

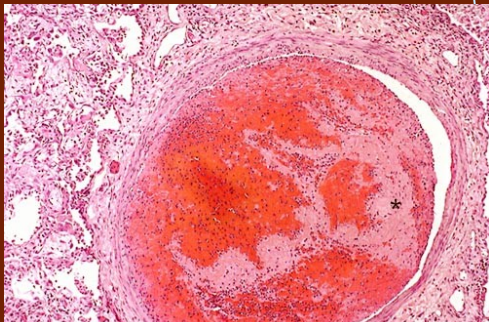
Leukémie apod.
(onkologická – lymfo-
a myeloproliferativní
onemocnění)
Chronická myeloidní
leukémie

Poruchy srážlivosti

Primární hemostáza

Sekundární hemostáza

Krvácivé stavy/ trombo-
embolické stavy



Klinické příznaky hematologického onemocnění

- Anémie
 - → známky hypoxie – únava, slabost, pocit nedostatku dechu
 - → známky nízké hladiny hemoglobinu - bledost
 - → kardiovaskulární symptomy – palpitace
- Polycytémie → hyperviskozita krve → riziko trombózy
- Krvácení, spontánní krvácení, neustávající krvácení
- Trombóza → embolie – symptomy závisí na lokalizaci – DVT - HŽT, plicní embolie
- Časté infekce

Anémie

- Hb

M: < 135 g/L

F: < 120 g/L

- Hct

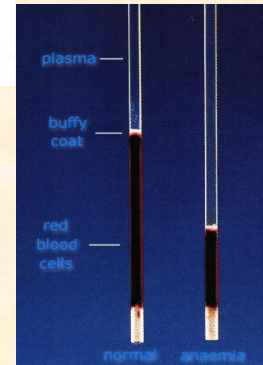
M: < 40 %

F: < 37 %

- Ery

M: < $4,3 \cdot 10^{12}$ /L

F: < $3,9 \cdot 10^{12}$ /L



Zákl. kritérium: Hb < 120 g/L

Patofyziologie anémie

málo hemoglobinu → bledost



špatná dodávka kyslíku do tkání



tkáňová hypoxie



únava, dyspnoe,
palpitace, hyperkinetická cirkulace

Příčiny hypoxie

- Výšková hypoxie – nedostatek O_2 ve vdechovaném vzduchu = nízký pO_2
- Respirační selhání – hypoxická hypoxie
- Nedostatek hemoglobinu – transportní = anemická hypoxie
- Porucha cirkulace – cirkulační hypoxie
- Porucha oxidace v mitochondriích – histotoxická hypoxie

↓ sat_{O_2}

↓ [Hb]

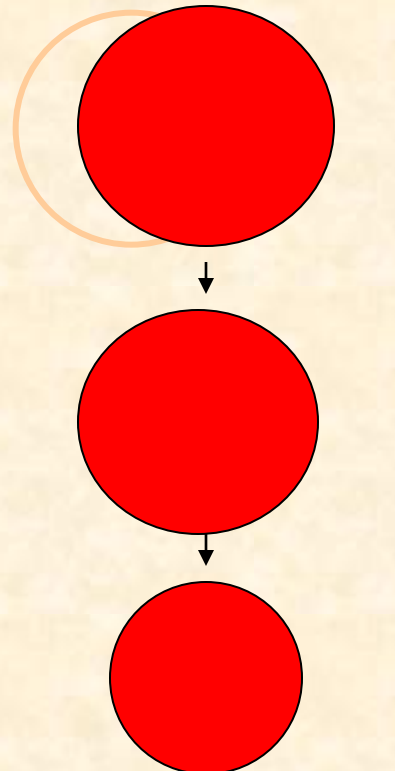
Laboratorní vyšetření

- Základní:
 - Krevní obraz
- Doplnňková:
 - testy na metabolismus železa
 - hladina Erythropoetinu
 - Detekce protilátek proti vlastním krvinkám – Coombsův test
 - Test osmotické rezistence erytrocytů
 - Hamův test (rezistence na kys. prostředí)
 - Mikroskopické zhodnocení krevního nátěru
 - **Sternální punkce- aspirace kostní dřeně**

Rozdělení anémií dle morfologie (KO)

- podle MCV
 - mikrocytární - př. nedostatek železa
 - normocytární - př. krvácení
 - makrocytární (megaloblastové) - perniciózní
- podle MCHC (barvy)
 - hypochromní – nedostatek železa
 - normochromní

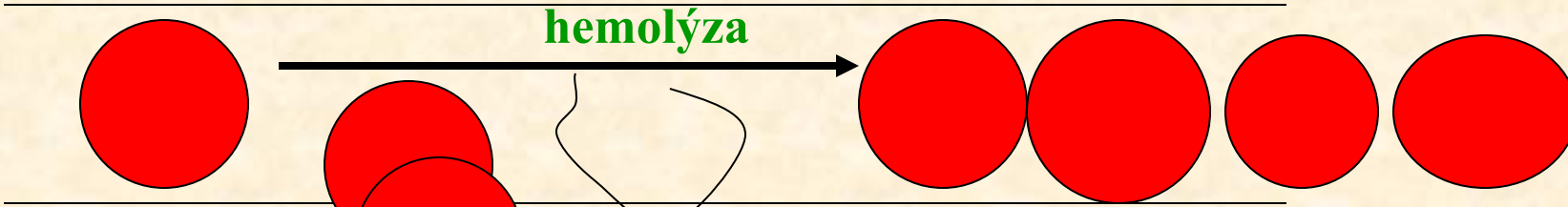
KOSTNÍ DŘEŇ



kmenové buňky, růstové faktory
erythropoetin
dělení buněk, syntéza DNA: vitamín B₁₂, k. listová
syntéza hemoglobinu: globin, porfyrin, Fe

jiné faktory

PRODUKCE



PERIFERNÍ KREV

ZTRÁTY

ERYTROCITY -KO

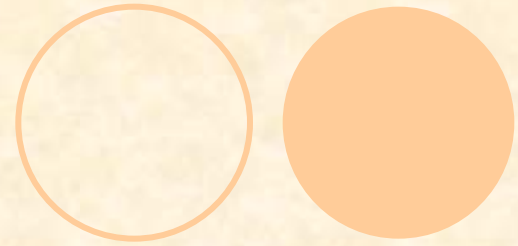
krváčení

hemoglobin, počet B-Ery,
hematokrit
MCV, MCH, MCHC
tvar etc.

Rozdělení anémií podle příčiny

- **snížená produkce**
 - porucha kmenových buněk a diferenciacce
 - porucha syntézy DNA
 - porucha syntézy hemoglobinu
 - nedostatek erythropoetinu
 - "kompletní ztráta erythropoezy má za výsledek pokles počtu erytrocytů 10% / wk
- **zvýšená destrukce - hemolýza**
 - defekt erytrocytů
 - extraerytrocytární příčiny
- **zvýšená ztráta**
- **maldistribuce (hypersplenismus, pooling ve slezině)**

Počet retikulocytů



- Denní náhrada erytrocytů
 - 0.5 – 1.5% celkového počtu
 - Dozrávají během 1 dne v periferní krvi
- Kriterium aktivity kostní dřeně –
- rozlišení anémií dle příčiny
 - Reticulocytóza
 - odpověď na ztrátu krve (hemolytické anémie, vážné krvácení)
 - odpověď na terapii anémie (např. defic. B12 nebo Fe)
 - Reticulocytopenia
 - defekt erythropoezy

Anémie

- 1) ↓ produkce

1.1. Aplastická anémie

1.2. Myelodysplastický sy

1.3. Nedostatek železa

1.4. Anémie u chronických
chorob

1.5. Nedostatek B12/kys.
listové

- 2) ↑ ztráty

2.1. Akutní krvácení

2.2. Chronické krvácení

- 3) ↑ hemolýza

A) Korpuskulární příčiny

3.A1 Sférocytóza

3.A2 Noční paroxysmální
hemoglobinurie

3.A3 Deficit G6Pdehydrogenázy

3.A4 Srpkovitá anémie

3.A5 β - a α -talasemie

B) Extrakorpuskulární příčiny

3.B1 Autoimunní hemolytická a.

3.B2 Rh inkompatibilita

3.B3 Hem. – Uremický sy
(Mikroangiopatie)

Anémie ze ztrát krve

- **Akutní** ztráta krve

- Krátce po masivnější ztrátě krve je Hb normální kvůli vazokonstrikci a faktu, že ledviny ještě nezačaly nahrazovat ztracený objem retencí vody a solutů
- Poté normochromní – normocytární anémie

- **Chronická** ztráta krve

- Vede k nedostatku železa a anémii z nedostatku železa

Zvýšená hemolýza (destrukce erytrocytů)

retikulocytóza, LDH zvýšeno, akumulace nekonjugovaného hemoglobinu

Extraerytrocytární příčiny (normocytární –normochromní erytrocyty)

- Imunologické abnormality (AIHA, PNH, poléková)
- Fyzikální a chemické poškození erytrocytů (trauma, infekce malárie, umělá chlopeň, popáleniny, hadí jedy)

Erytrocytární příčiny

- Alterace membrány
 - kongenitální (sférocytóza, elipso)
 - získané (PNH – paroxysmální noční hemoglobinurie)
- Metabolické enzymatické poruchy (nedostatek G6PD - není glutathion)
- Hemoglobinopatie (Srpkovitá anémie, talasémie)

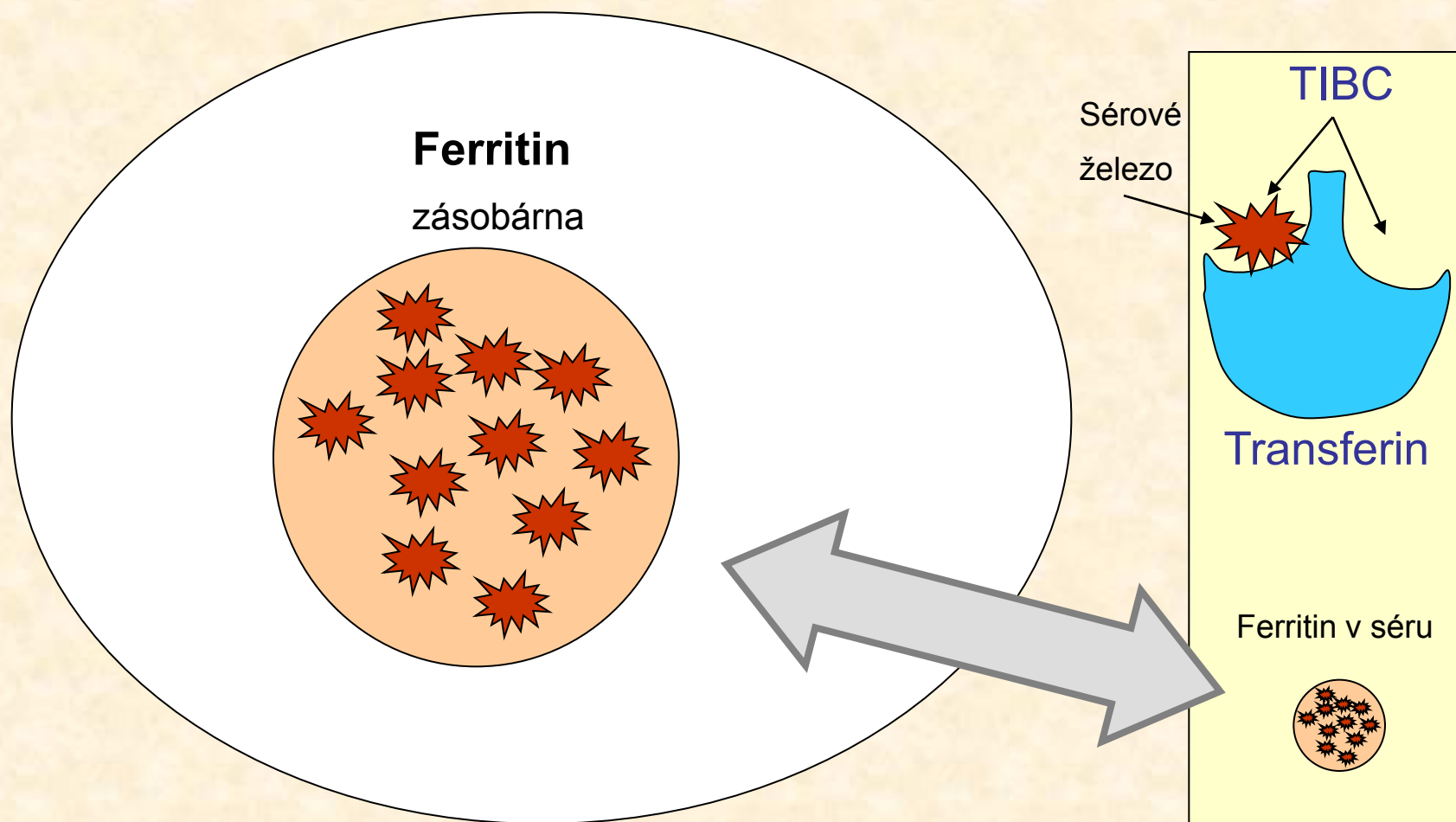
Ukazatele hladiny železa

- **koncentrace železa v séru (age , sex)**
- **TIBC (total iron binding capacity Fe)**
= hladina transferinu
- **saturace transferinu (N 20-55 %)**
- **sérový ferritin**
- **serový (solubilní) transferinový receptor (sTfR)**

Ukazatele železa

Tělo - buňka

Krevní plazma



Manifestní

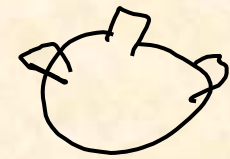
anémie

↓ Hb, Hct
(↓ Ferr, Fe, TfR_c)

Latentní

chybí sérové Fe
pro erythropoezu

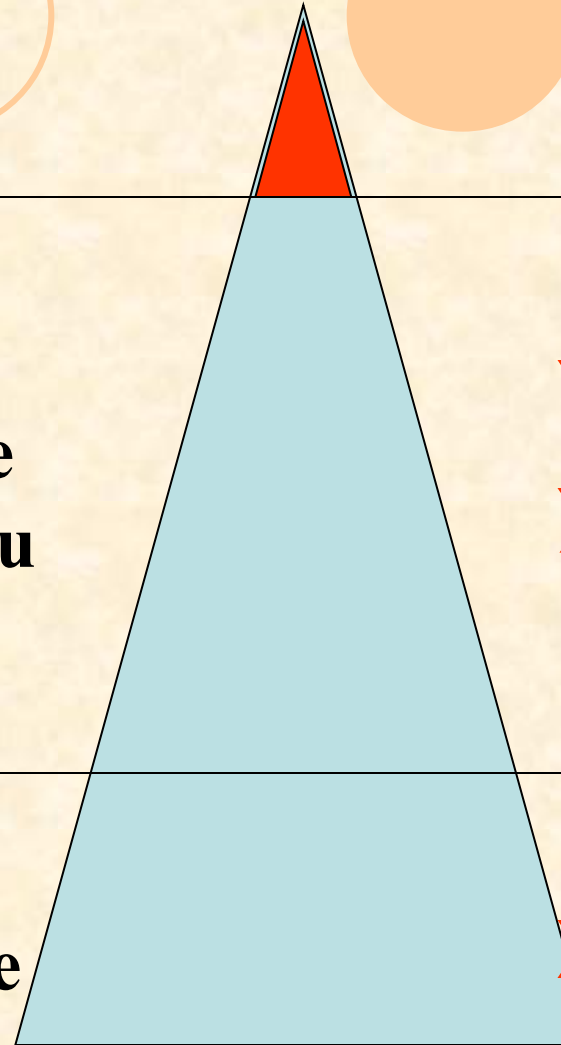
↓ sérové Fe
↓ sat. transferinu
↑ sTfR



Prelatentní

chybí zásobní Fe

↓ sérový ferritin ①
↑ TIBC/transferin ②
↓ Fe (sideroblasty)
v dřeni



Hercidin



↑ Hercidin

Ukazatele metabolismu železa

Sérové železo (SI)

- F: 600-1400 $\mu\text{g/L}$, 11-25 $\mu\text{mol/L}$; M: 750-1500 $\mu\text{g/L}$, 13-27 $\mu\text{mol/L}$
- Sníženo při nedostatku Fe a chronických chorobách
- Zvýšeno při hemolytických anémiích a hemochromatóze

Celková vazebná kapacita železa (TIBC)

- 2500 – 4500 $\mu\text{g/L}$, 45-82 $\mu\text{mol/L}$
- Zvýšena u nedostatku Fe
- Sníženo při chronických chorobách

Sérový ferritin (30-300 ng/mL)

- Velmi blízce reflektuje celkové zásoby Fe v organismu
- snížení <12 ng/mL - nedostatek Fe
- zvýšení při přetížení Fe, poškození jater, tumorech (protein akutní fáze)

Ukazatele metabolismu železa

Sérový transferinový receptor

- Zvyšuje se při zvýšení erythropoezy a v časně fázi nedostatku Fe

Erytrocytární ferritin

- Stav zásob v průběhu posledních 3 měsíců (Fe deficit/přetížení)
- není ovlivněn akutní nemocí nebo funkcí jater

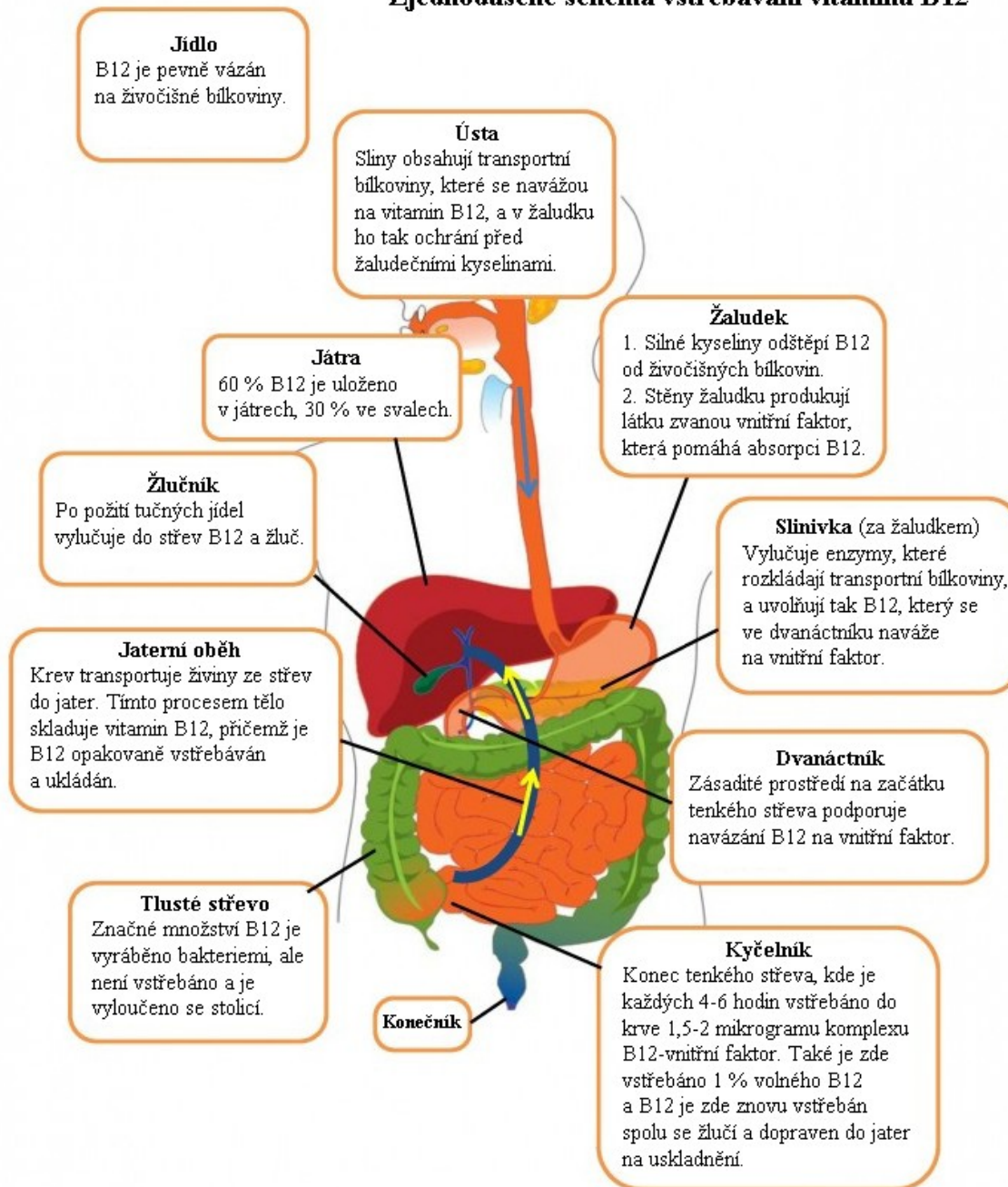
Volný erytrocytární porfirin

- zvýšený při poruchách syntézy hemu

Příčiny anémie

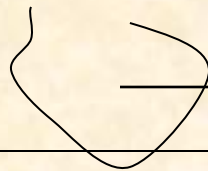
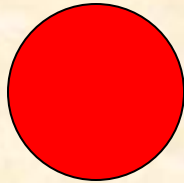
	Anémie chronických chorob	Anémie z nedostatku železa	Myelodysplastický syndrom
Sérové Fe	↓↓↓	↓↓↓	↑↑↑
Transferin/ TIBC	↓	↑↑↑	↓↓↓
Ferritin	↑	↓↓↓	↑↑↑
Kostní dřeň	Fe ⁺⁺ v MΦ	Chybí Fe	Okrouhlé sideroblasty – zásoby Fe ↑
Dg. vodítka	Základní onemocnění	Příznaky ↓ Fe ?krvácení?	Dyshematopoeza

Zjednodušené schéma vstřebávání vitamínu B12



HEMOLÝZA

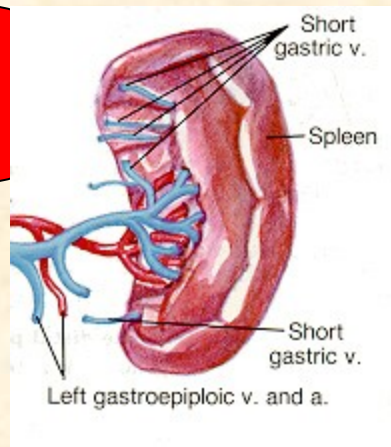
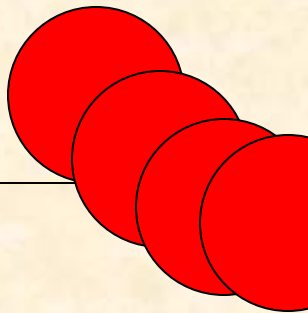
INTRAVASKULÁRNÍ



Hb

haptoglobin
ledviny

EXTRAVASKULÁRNÍ



slezina, játra, kostní dřeň
(makrofágy)

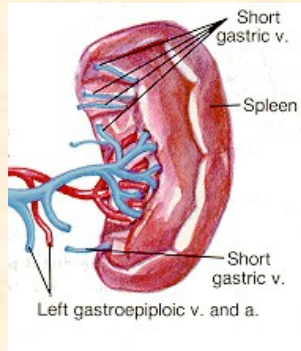
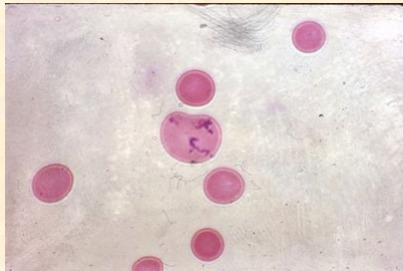
SYMPTOMY HEMOLÝZY

Ztráta erytrocytů

anemia

Aktivace kostní dřeně

retikulocytóza



→ volný Hb

extravaskulární

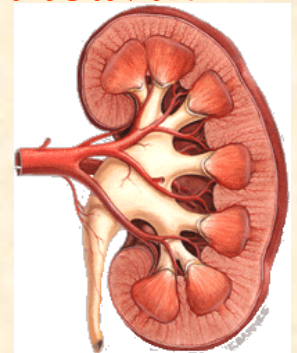
Zvýšená produkce *bilirubinu*
žloutenka (ikterus)

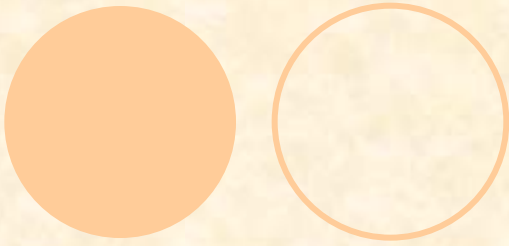
splenomegalie

intravaskulární

hemoglobinémie,
Pokles haptoglobinu
hemoglobinurie
hemosiderinurie

Poškození ledvin

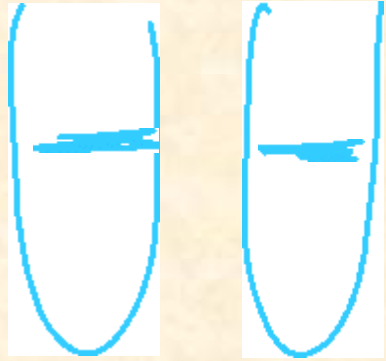




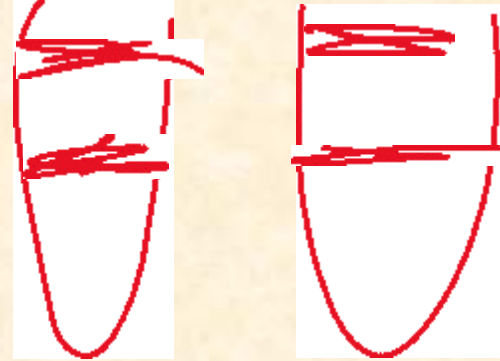
B



2



41. ch



16. ch

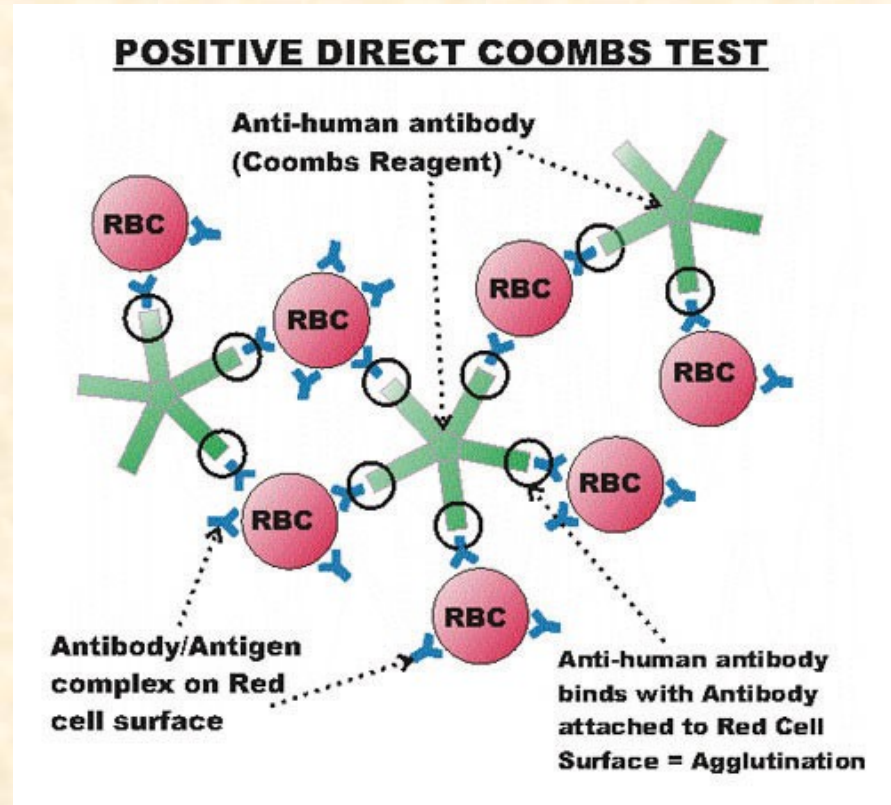
TESTY HEMOLÝZY

Imunitní mechanismy – přímý Coombsův (antiglobulinový) test

*Hledáme protilátky
proti erytrocytům*

*Protilátky třídy IgG (tzv.
nekompletní protilátky)
Nikoliv protilátky AB0*

*Tyto protilátky jsou zodpo-
vědné za hemolýzu*



Přímý antiglobulinový (Coombsův) test



- Detekce protilátek proti povrchovým antigenům erytrocytu
- AIHA
- Antiglobulinové sérum je přidáno k vymytým erytrocytům pacienta ----- aglutinace indikuje přítomnost imunoglobulinů nebo složek komplementu navázaných na erytrocyty

Testy hemolýzy

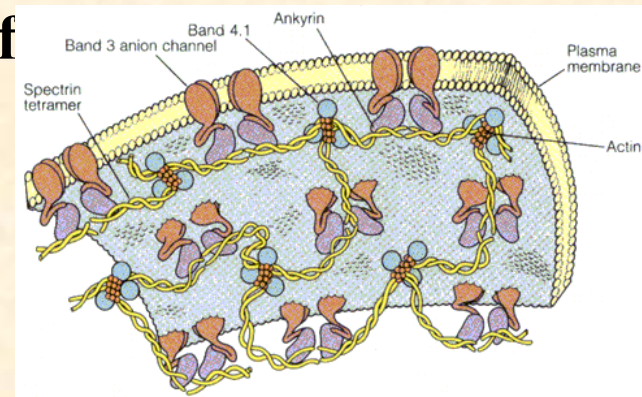
Testy osmotické rezistence

Erythrocyty přežívají pouze v izotonickém prostředí ale mají jistou toleranci ke změnám tonicity.

Erythrocyty u některých hemolytických stavů mají sníženou toleranci ke změnám osmotického tlaku

Speciální testy

membránové vlastnosti (electroforéza)
vlastnosti hemoglobinu
genetické testování

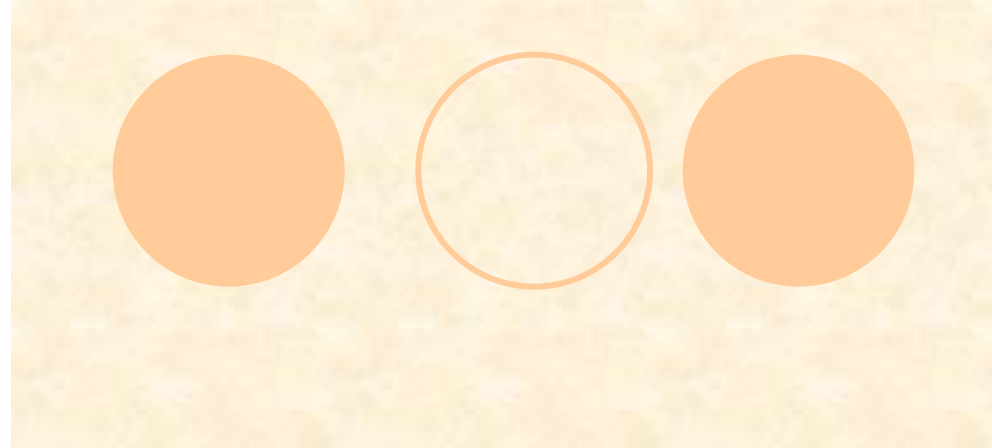


Krevní nátěr

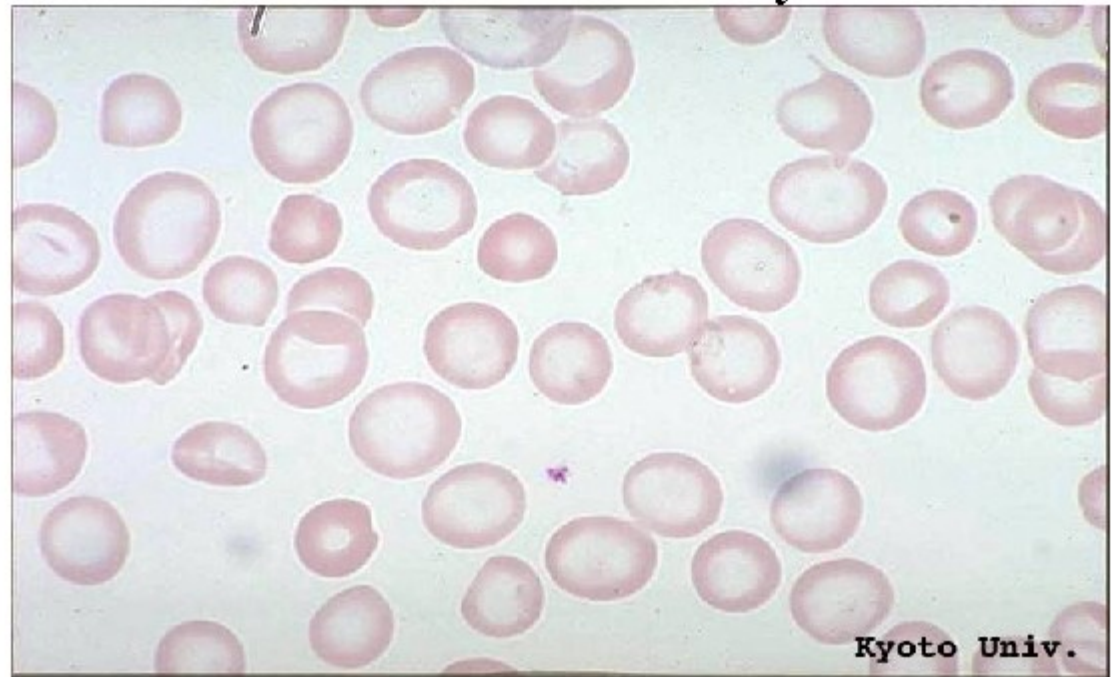


- **Morfologie** krevních elementů
 - Anizocytóza = rozdíly ve velikosti
 - Poikilocytóza = rozdíly ve tvaru (schistocyty = fragmenty erytrocytů; ovalocytes; sférocyty)

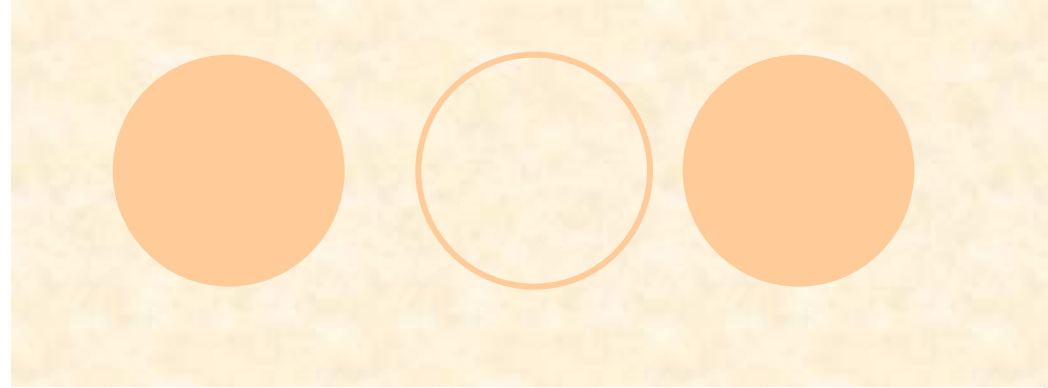
Normal Smear



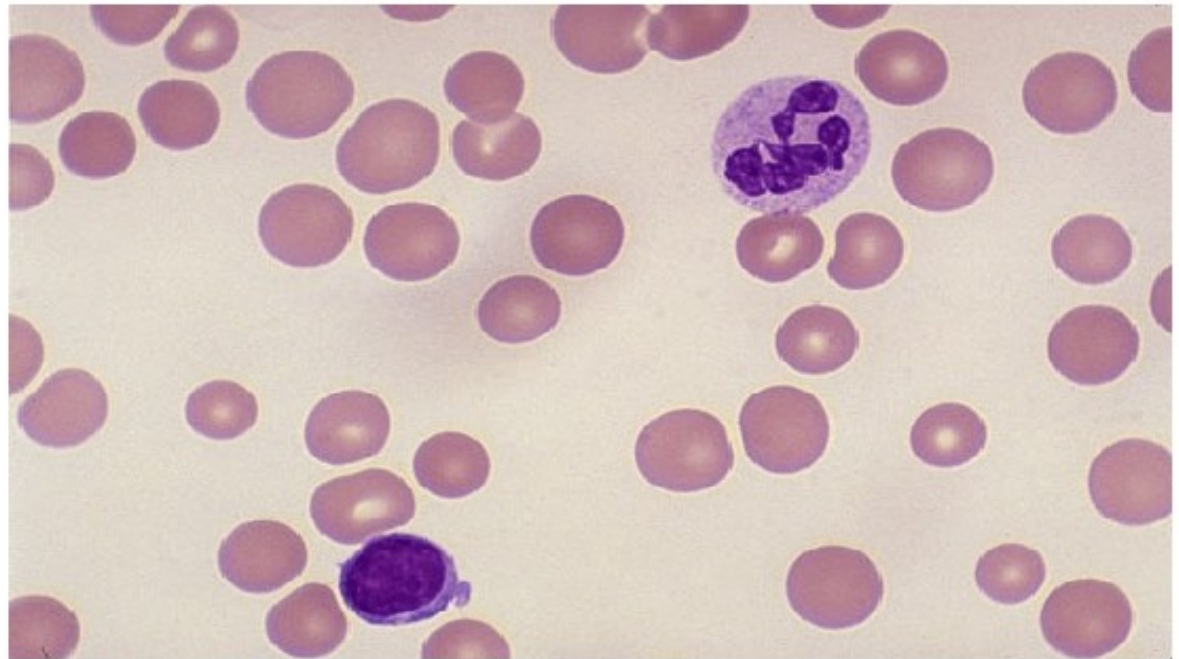
hypochromic/Microcytic Anemia
Iron Deficiency



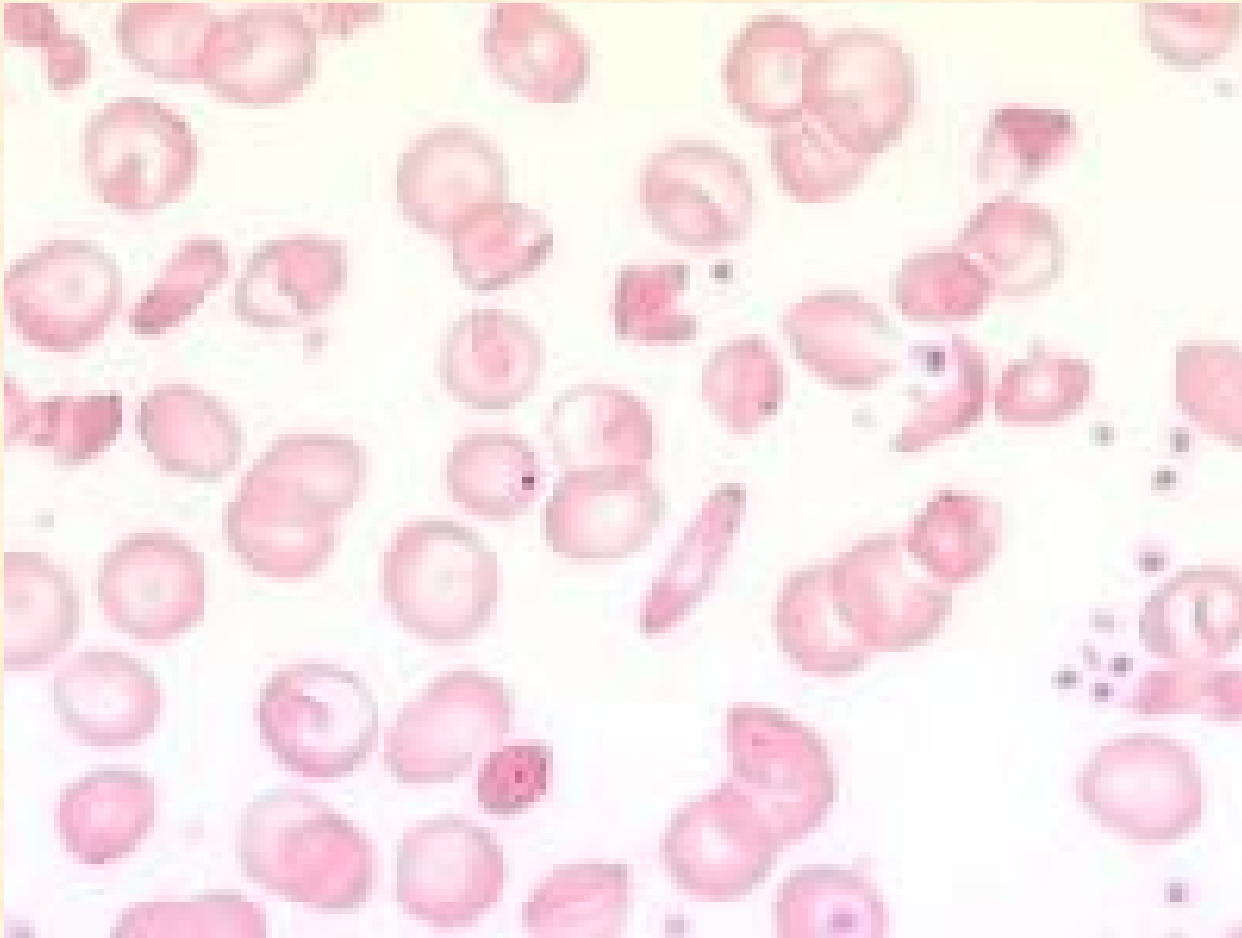
Normal Smear



Megaloblastic Anemia B-12 Deficiency



Srpkovitá anémie



Různé tvary erytrocytů

Sférocyty	Ztráta centrálního projasnění, barví se tmavěji, často mikrocytární. Hereditární sférocytóza a některé získané hemolytické anémie
Terčíkovité buňky	Hypochromní s centrálním "terčíkem" hemoglobinu. Choroby jater, thalasémie, hemoglobin D, postsplenectomii
Eliptocyty	Oválné až doutníkovité. Hereditární eliptocytóza, některé anémie (zvláště nedostatek vitamínu B-12 and folátu).
Schistocyty	Fragmentované přilbovité nebo trojúhelníkovité. Microangiopatické anémie, umělé srdeční chlopně, urémie, maligní hypertenze.
Stomatocyte	Erytrocyty mají štěrbinovitou oblast centrálního projasnění. Choroby jater, akutní alkoholizmus, malignity, hereditární stomatocytóza, and artefakt
Srpky	Podlouhlé buňky se zašpičatělými konci. Hemoglobin S a některé typy hemoglobinu C a I.

Krevní obraz – kdy?

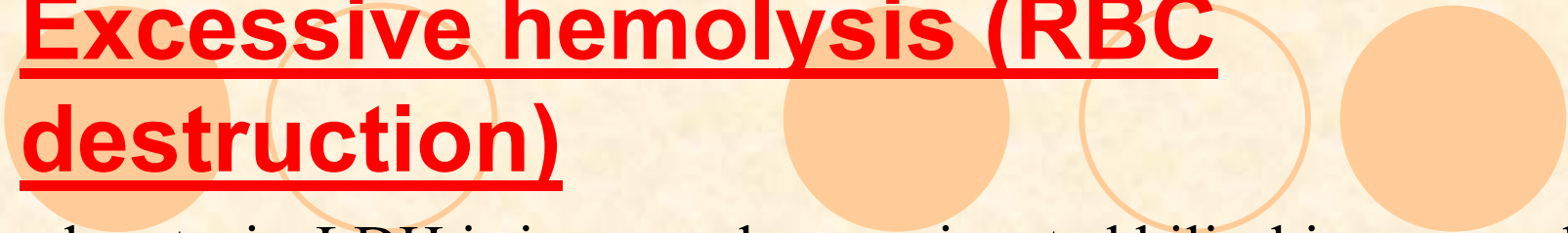
- **suspektní** hematologické, neoplastické, zánětlivé nebo infekční onemocnění
- **screening** kojenců (<1 yr.), těhotných, starších pacientů a pacientů s hematolog. abnormalitami
- routinní evaluace pacienta, příjem do nemocnice

Blood loss anemia



- **Acute** blood loss
 - shortly after massive blood loss Hb normal due to vasoconstriction
 - normochromic - normocytic
- **Chronic** blood loss
 - results in iron deficiency
- Excessive hemolysis (RBC destruction)

Excessive hemolysis (RBC destruction)



reticulocytosis, LDH is increased, unconjugated bilirubin accumulate

Extrinsic RBC defect (normocytic-normochromic RBC)

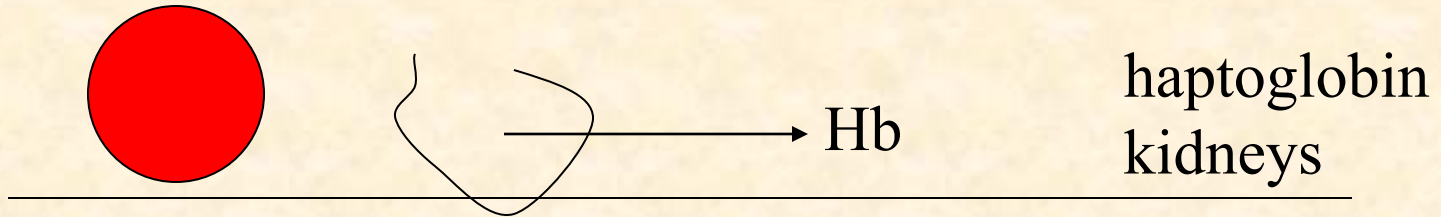
- Immunologic abnormalities (AIHA, PNH)
- Mechanical injury (trauma, infection)

Intrinsic RBC defect

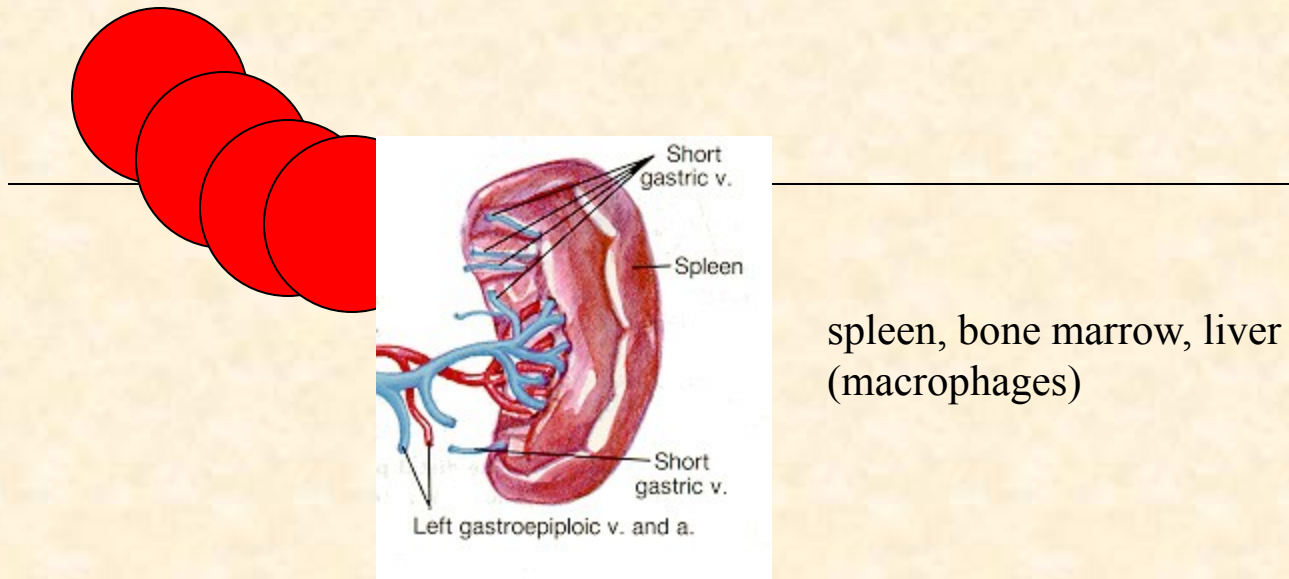
- Membrane alterations
 - congenital (spherocytosis, elliptocytosis)
 - Acquired (hypophosphatemia)
- Metabolic disorders (G6PD deficiency)
- Hemoglobinopathies (Sickle cell disease, Thalassemia)

HEMOLYSIS

INTRAVASCULAR



EXTRAVASCULAR



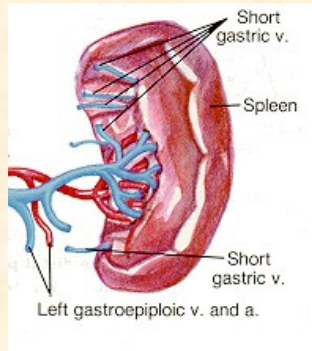
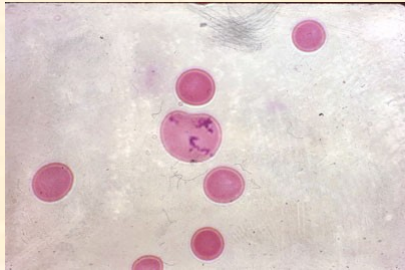
SYMPTOMS OF HEMOLYSIS

loss of red blood cells

anemia

BM activation

reticulocytosis



→ loose Hb

extravascular

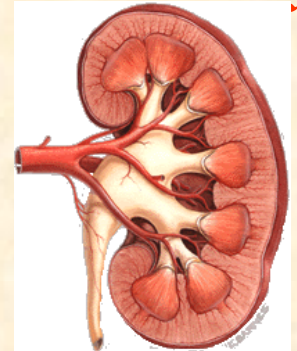
increased production of *bilirubin*
jaundice (icterus)

splenomegaly

intravascular

hemoglobinemia,
hemoglobinuria
hemosiderinuria

damage to the kidneys



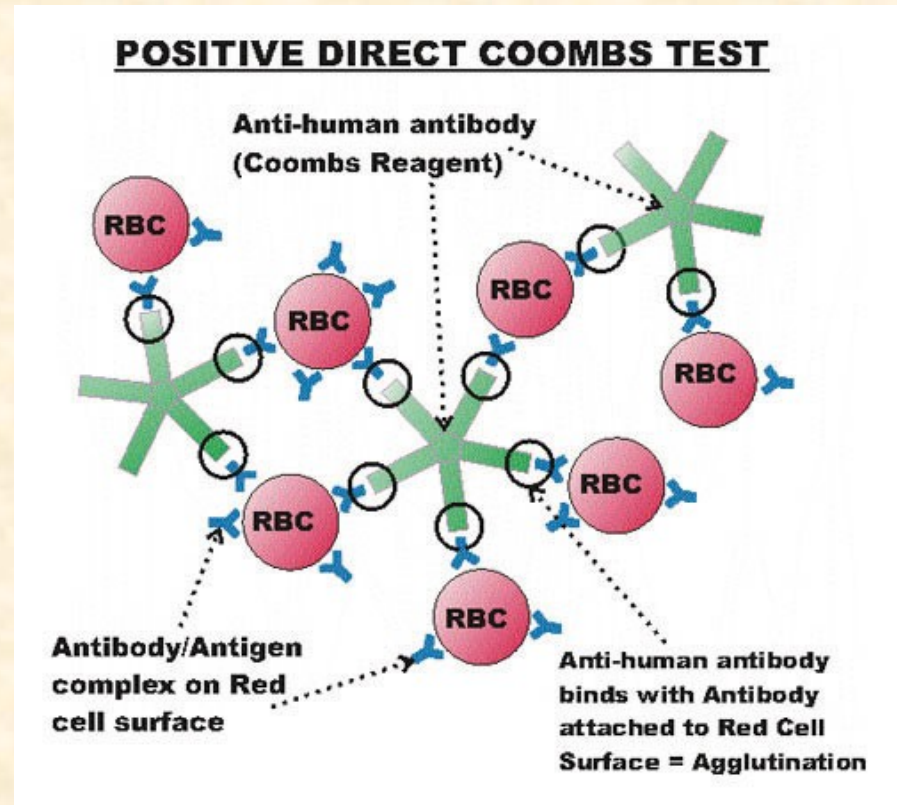
TESTS FOR HEMOLYSIS

immune mechanisms – direct Coombs (antiglobulin) test

*Search for antibodies
against proper RBC*

Antibodies other than AB0

*These Abs are responsible
for hemolysis*



Direct antiglobulin (Coombs') test (DAT)

- Detection of antibodies to erythrocyte surface antigens
- AIHA
- Antiglobulin serum is added to washed RBC from the patient ----- agglutination indicates presence of immunoglobulins or complement components bound to RBC

TESTS FOR HEMOLYSIS

Test of osmotic resistance

RBC survive only in isotonic surrounding but have some toleration to its changes

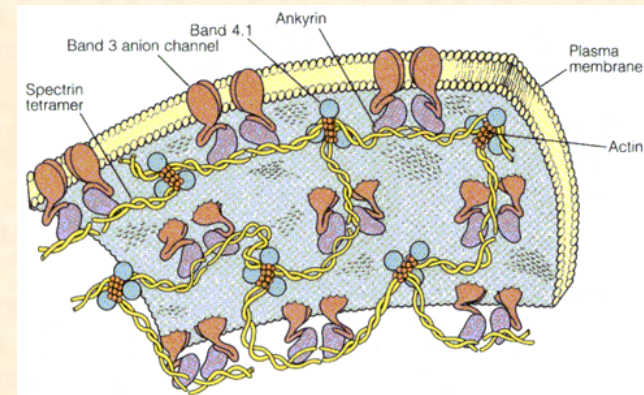
RBC in some hemolytic states have decreased tolerance

Special tests

membrane properties (electrophoresis of proteins)

properties of hemoglobin

genetic tests



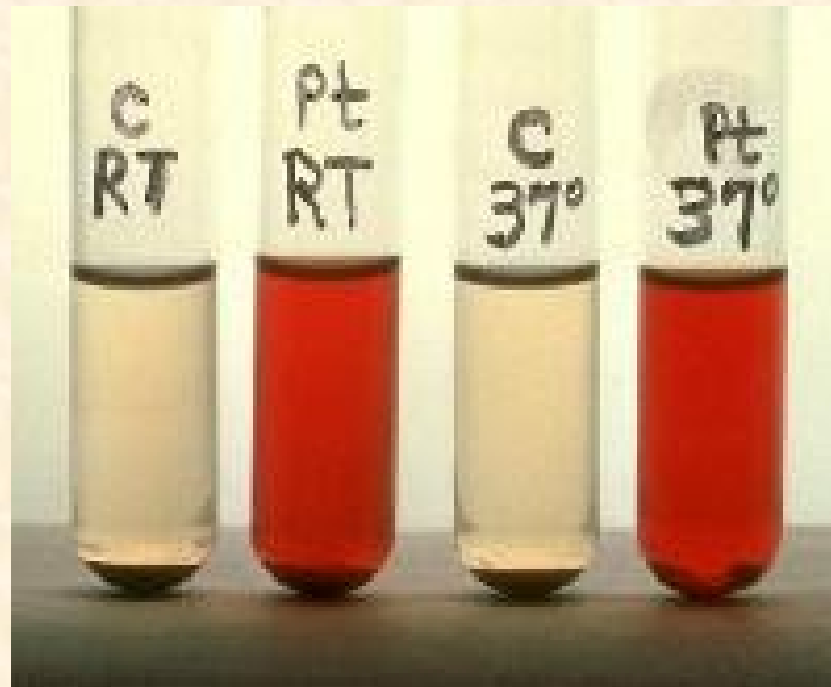
Acid hemolysis (Hams') test

- Diagnostic test for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH)



- HCl acidification of blood = hemolysis when PNH
- Currently Flow cytometry analysis for CD55 and CD59 is more reliable to diagnose PNH
- Glycosyl-phosphatidyl-anchor abnormality caused by the *PIG-A* gene mutation = clinical manifestation result from the lack of GPA dependent proteins on the surface of cells

Acid hemolysis (Hams') test



Deficient erythropoiesis

- **Iron deficiency**
 - microcytic-anisocytosis, ↓ reticulocytes
- **Vitamin B₁₂ or Folate deficiency**
 - macrocytes-anisocytosis
- **BM failure** - chronic diseases, aplastic anemia, myelodysplasia, leukemia
 - normochromatosis-normocytosis
 - BM hypoplasia

Tests for iron

- iron concentration in serum (age , sex)
- TIBC (total iron binding capacity for Fe)
- transferrin saturation (N 20-55 %)
- serum ferritin
- serum (soluble) transferrin receptor (sTfR)

Tests of iron metabolism

Serum iron (SI)

- F: 600-1400 $\mu\text{g/L}$, 11-25 $\mu\text{mol/L}$; M: 750-1500 $\mu\text{g/L}$, 13-27 $\mu\text{mol/L}$
- Low in Fe deficiency and chronic disease
- High in hemolytic syndromes and iron overload

Total iron binding capacity (TIBC)

- 2500 – 4500 $\mu\text{g/L}$, 45-82 $\mu\text{mol/L}$
- High in Fe deficiency
- Low in chronic disease

Serum ferritin (30-300 ng/mL)

- Fe storage glycoprotein
- Closely correlates with total body Fe stores
- <12 ng/mL Fe deficiency
- Elevated in Fe overload, liver injury, tumors (Acute phase protein)

Tests for iron metabolism

Serum transferrin receptor

- Increase in increased erythropoiesis and early Fe deficiency

RBC ferritin

- storage status over the previous 3 month (Fe deficiency/overload)
- unaffected by liver function or acute illness

Free RBC porphyrin

- increased when heme synthesis altered

Manifest

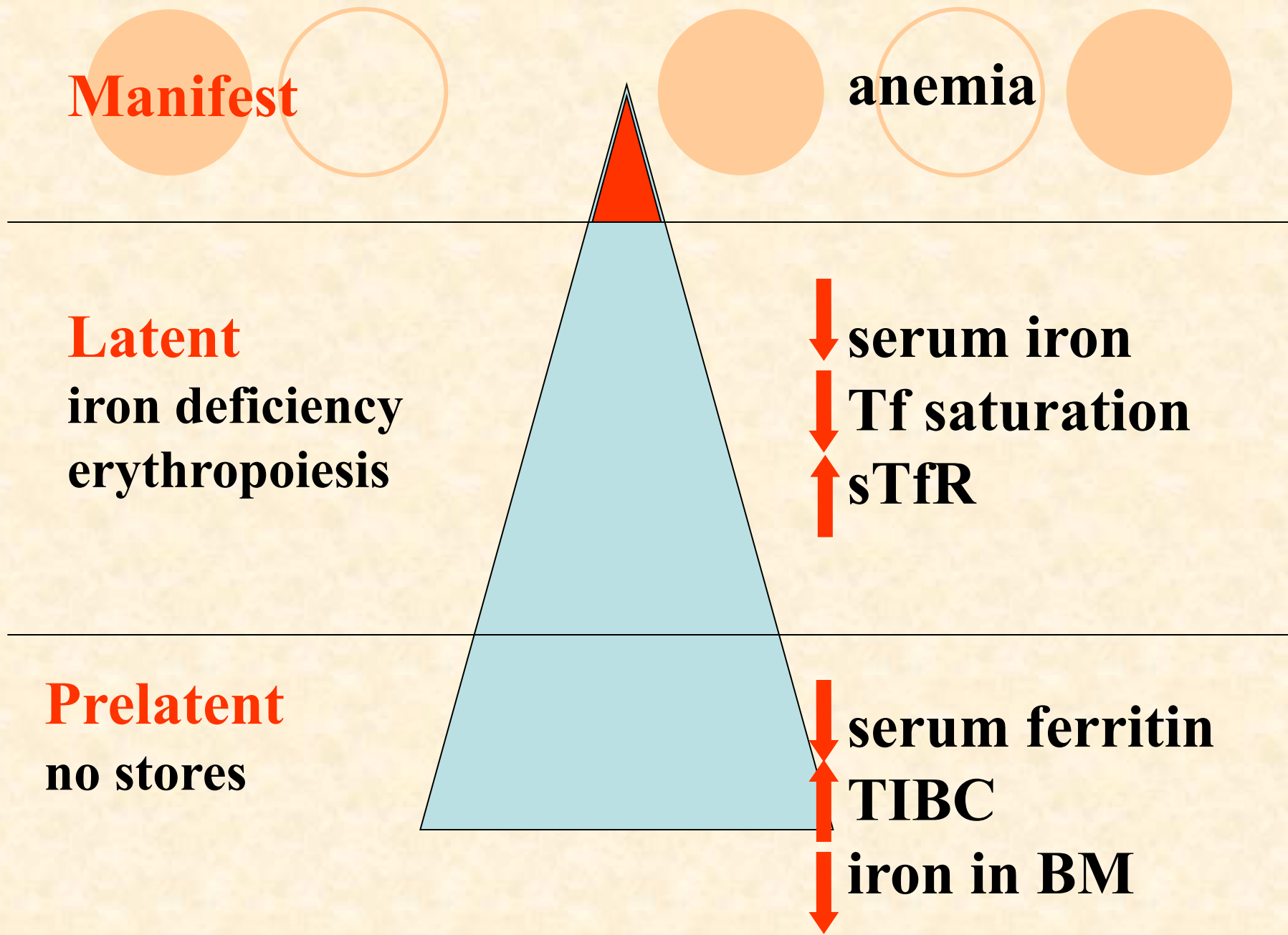
anemia

Latent
iron deficiency
erythropoiesis

↓ serum iron
↓ Tf saturation
↑ sTfR

Prelatent
no stores

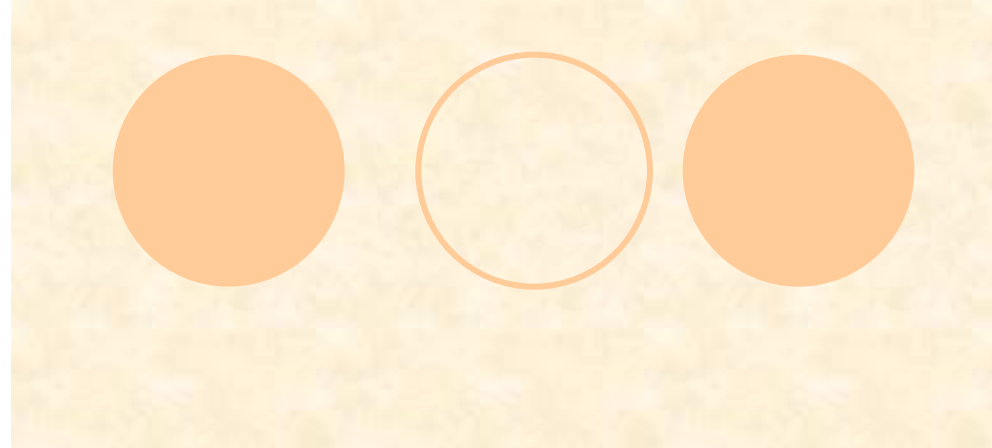
↓ serum ferritin
↑ TIBC
↓ iron in BM



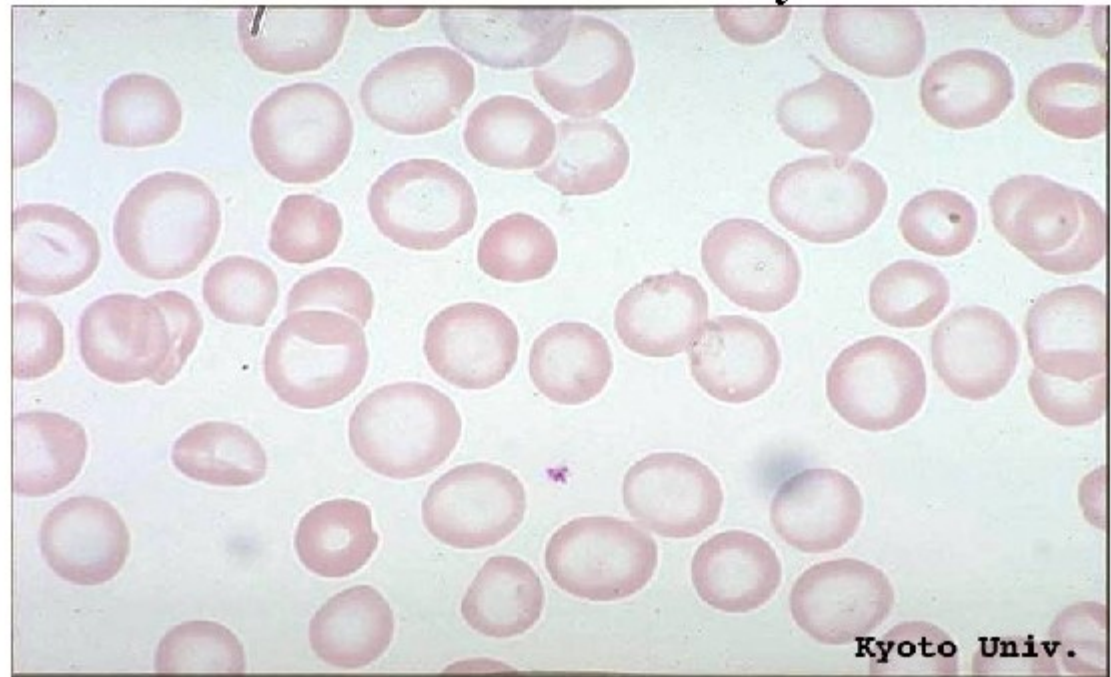
Microcytic Hypochromic Anemia (MCV<83; MCHC<31)

Iron deficiency	Responsive to iron therapy	Lead poisoning	Basophilic stippling of RBCs
Chronic inflammation	Unresponsive to iron therapy	Sideroblastic	Ring sideroblasts in marrow
Thalassemia major	Reticulocytosis and indirect bilirubinemia	Hemoglobinopathies	Hemoglobin electrophoresis
Thalassemia minor	Elevation of fetal hemoglobin, target cells, and poikilocytosis		

Normal Smear



Microcytic/Microcytic Anemia
Iron Deficiency



Microcytic Hypochromic Anemia (MCV<83; MCHC<31)

	Serum Iron	Total Iron-Binding Capacity (TIBC)	Bone Marrow Iron	Comment
Lead poisoning	N	N	++	Basophilic stippling of RBCs
Sideroblastic	↑	N	+++++	Ring sideroblasts in marrow
Hemoglobinopathies	N	N	++	Hemoglobin electrophoresis

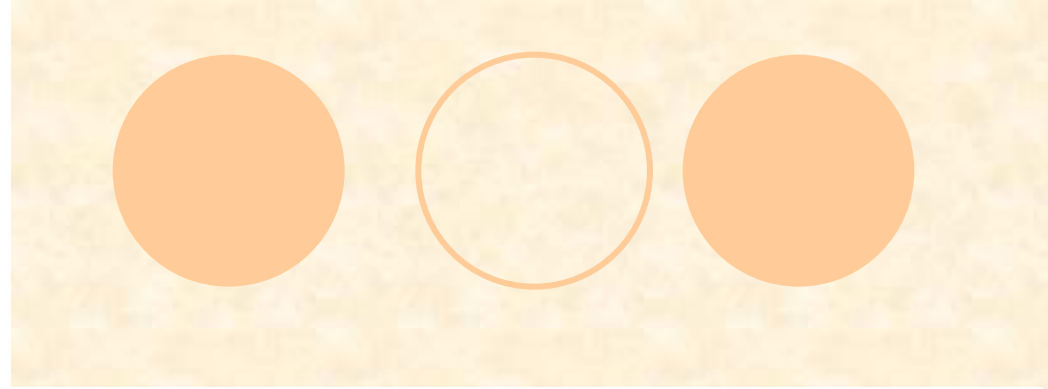
Microcytic Hypochromic Anemia (MCV<83; MCHC<31)

	Serum Iron	Total Iron-Binding Capacity (TIBC)	Bone Marrow Iron	Comment
Iron deficiency	↓	↑	0	Responsive to iron therapy
Chronic inflammation	↓	↓	++	Unresponsive to iron therapy
Thalassemia major	↑	N	+++++	Reticulocytosis and indirect bilirubinemia
Thalassemia minor	N	N	++	Elevation of A of fetal hemoglobin, target cells, and poikilocytosis

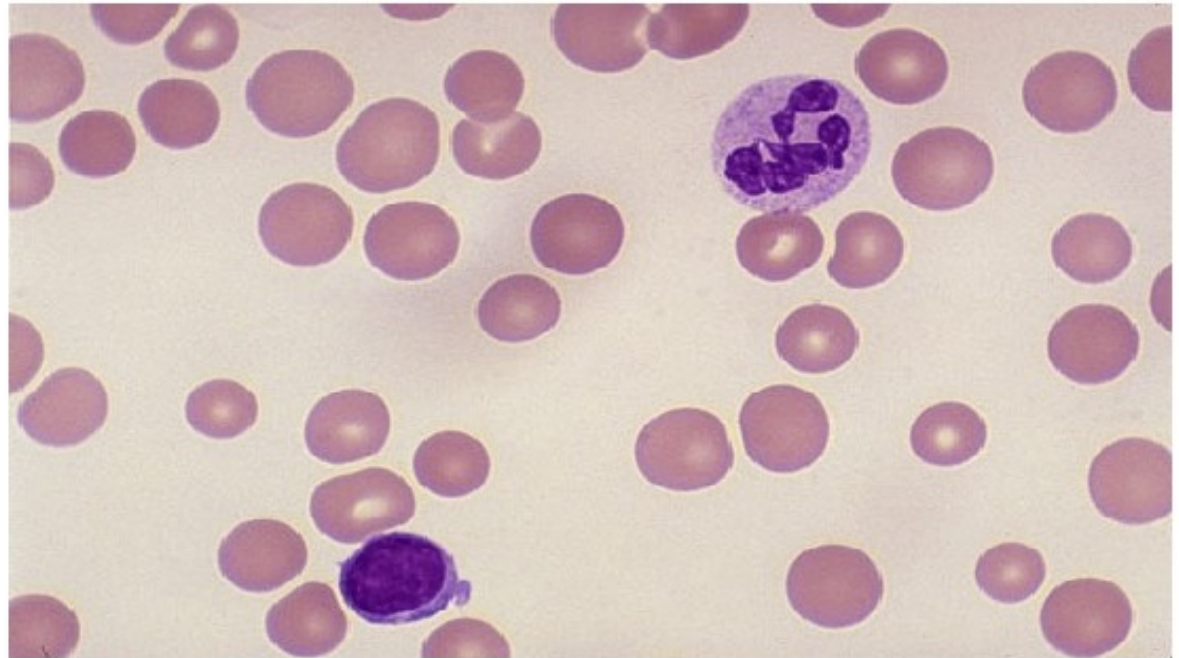
Macrocytic Anemia (MCV, >95)

Megaloblastic bone marrow	Deficiency of vitamin B-12
	Deficiency of folic acid
	Drugs affecting DNA synthesis
	Inherited disorders of DNA synthesis
Nonmegaloblastic bone marrow	Liver disease
	Hypothyroidism and hypopituitarism
	Accelerated erythropoiesis (reticulocytes)
	Hypoplastic and aplastic anemia
	Infiltrated bone marrow

Normal Smear



Megaloblastic Anemia
B-12 Deficiency



Blood smear



- **Morphology** of blood elements
 - Anisocytosis = variation in size
 - Poikilocytosis = variation in shape
(schistocytes=RBC fragments; ovalocytes;
spherocytes)

Various Forms of RBCs

Spherocyte	Loss of central pallor, stains more densely, often microcytic. Hereditary spherocytosis and certain acquired hemolytic anemias.
Target cell	Hypochromic with central "target" of hemoglobin. Liver disease, thalassemia, hemoglobin D, postsplenectomy.
Elliptocyte	Oval to cigar shaped. Hereditary elliptocytosis, certain anemias (particularly vitamin B-12 and folate deficiency).
Schistocyte	Fragmented helmet- or triangular-shaped RBCs. Microangiopathic anemia, artificial heart valves, uremia, malignant hypertension.
Stomatocyte	Slitlike area of central pallor in erythrocyte. Liver disease, acute alcoholism, malignancies, hereditary stomatocytosis, and artifact.
Sickle cell	Elongated cell with pointed ends. Hemoglobin S and certain types of hemoglobin C and I.

Sickle Cell Disease



When to do CBC?

- **suspected** hematologic, inflammatory, neoplastic, or infectious disease
- **screening** of infants (<1 yr.), pregnant women, elderly patients, and patients with nutritional abnormalities
- routine patient evaluation, admission to hospital

Red blood cell (RBC) count

- F: $3.9 - 5.0 \times 10^{12}$ erythrocytes / L
- M: $4.5 - 5.7 \times 10^{12}$ erythrocytes / L

Number of RBC and quantity

- decrease - **anemia**
- increase - **polycythemia = polyglobulia**

- Properties of RBC

- * membrane
- * hemoglobin
- * metabolism

ANEMIA



- WHO criteria: Hb < 125 g/L in adults
- US criteria:
 - M: Hb < 135 g/L
 - F: Hb < 125 g/L

Dělení anémií podle příčiny

- Z XX krvetvorby
- Ze ↑ odbourávání Ery
- Ze ↑ ↑

