

# Hematologie 2

- **Základní a speciální vyšetřovací metody v hematologii**



# Co to je hematologie?

Úloha hematologie je dána samotnou povahou krve, která jako jediný orgán v těle přichází do bezprostředního kontaktu se všemi tkáněmi těla a tedy odráží jejich změny.

Hematologie se skládá ze dvou vyvážených částí:

**klinické a**

**laboratorní hematologie**

## Obsahové zaměření přednášek:

1. Obsah oboru klinické hematologie
2. **Základní a speciální vyšetřovací metody v hematologii**
3. Krevní transfúze, indikace pro podání transfúze. Dárcovství krve. Problematika dárcovství krve
4. Posttransfúzní reakce a komplikace - hemolytická transfúzní reakce, pyretická reakce, alergická reakce, infekční agens, viry, bakterie, další možná rizika
5. Autologní transfúze (autotransfúze) - indikace k autotransfúzi, druhy autotransfúzi, kontraindikace autotransfúzi

# **Základní a speciální vyšetřovací metody v hematologii**

**Abychom věděli co vyšetřovat, musíme znát:**

**a/ fyziologické procesy v krvetvorbě:**

Vznik a vývoj krvinek v kostí dřeni

vznik a stadia vývoje (vyzrávání) **erytrocytu**

vznik a vyzrávání (stadia) bílých krvinek

– **leukocytů**

**lymfocytů**

vznik a vyzrávání krevních destiček – **trombocytů**

# Základní a speciální vyšetřovací metody v hematologii

Abychom věděli co vyšetřovat, musíme znát:

**b/ patologické procesy v krvetvorbě:**

nedostatečná tvorba /předčasný zánik erytrocytu- **anémie**

Nadměrná tvorba erytrocytů - **polycytémie**

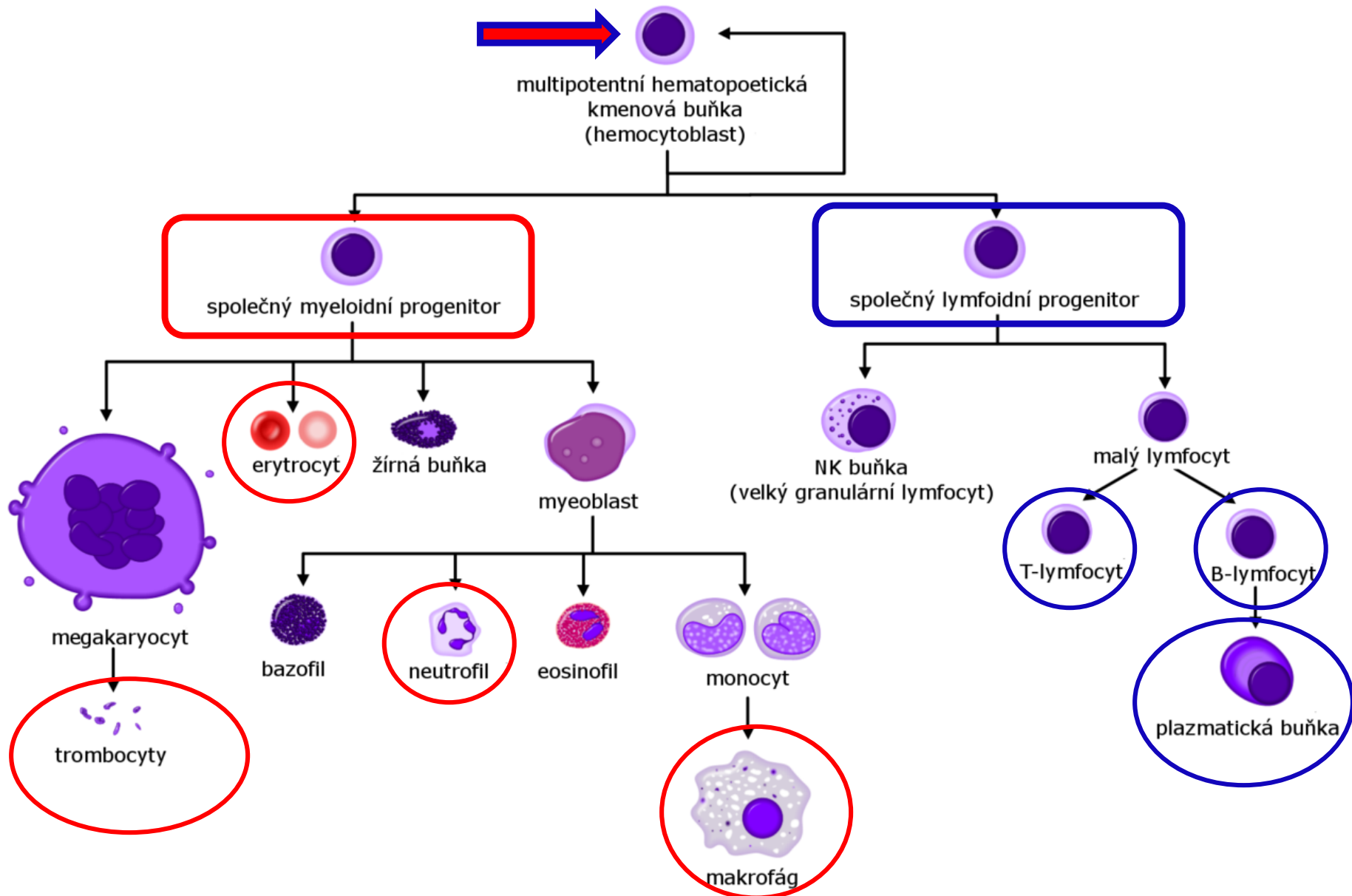
patologická zvýšená tvorba leukocytů - **leukémie**

Nedostatečný počet leukocytů - **leukopenie**

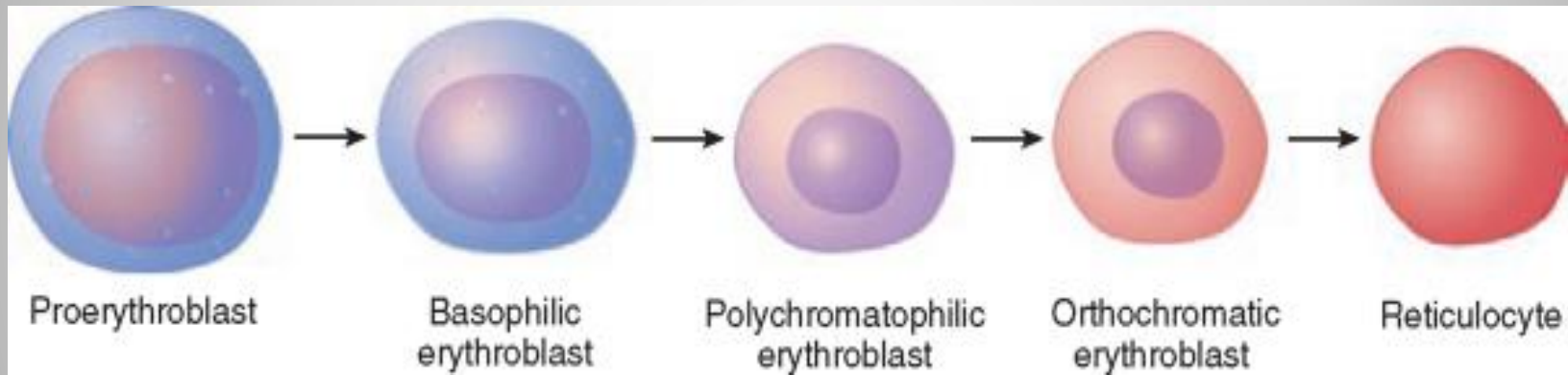
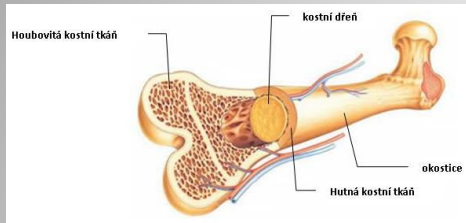
nedostatečná tvorba / předčasný zánik trombocytů - **trombocytopenie**

Nadměrná tvorby trombocytů – **trombocytémie**

# Vznik a vývoj krvinek v kostí dření



# Vývoj a zrání erythrocytu - erythropoéza



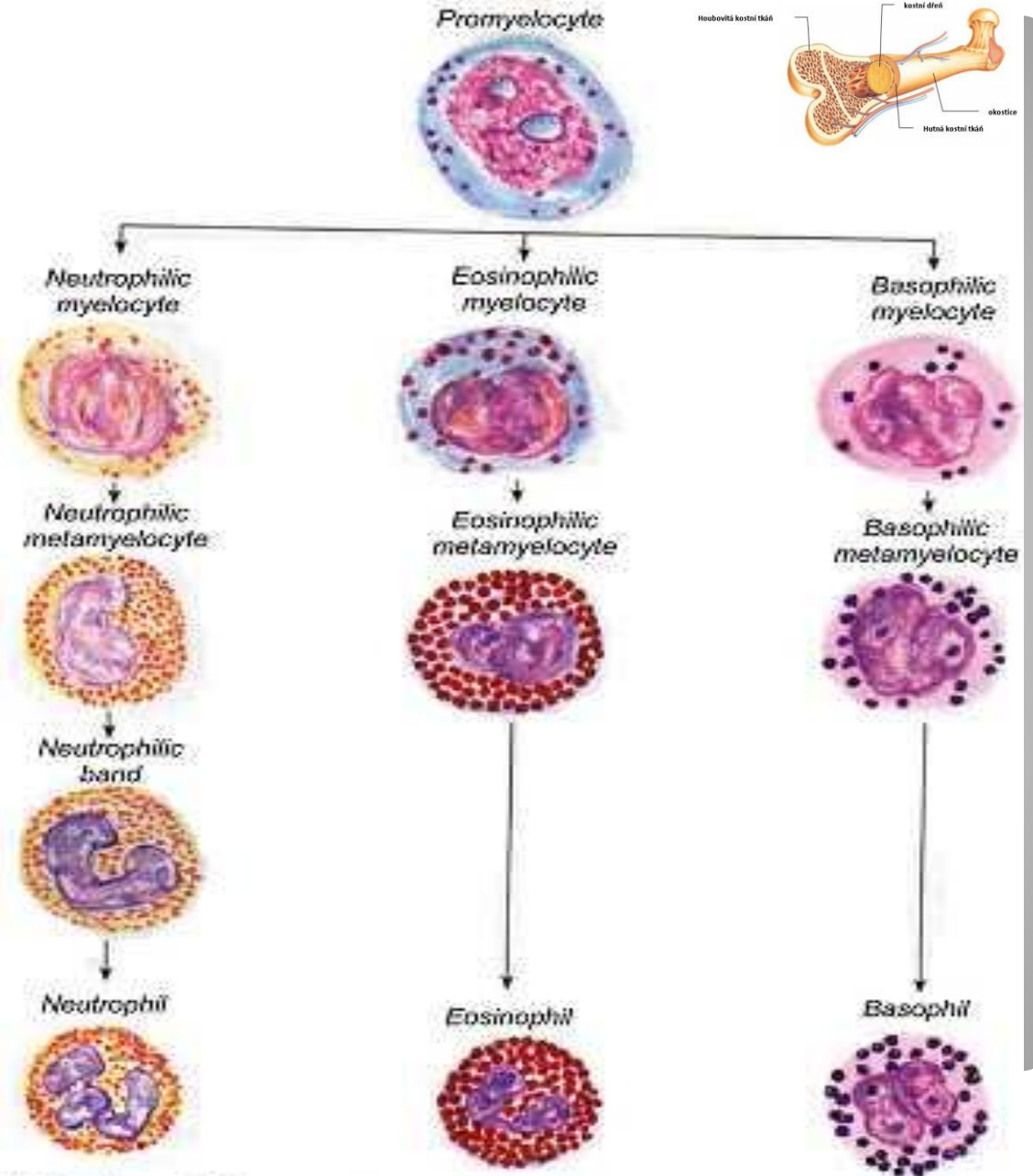
Proerythroblast	Bazofilní erythroblast	Polychromatofilní erythroblast	Ortochromní erythroblast	Retikulocyt
-----------------	------------------------	--------------------------------	--------------------------	-------------



Erythrocyt

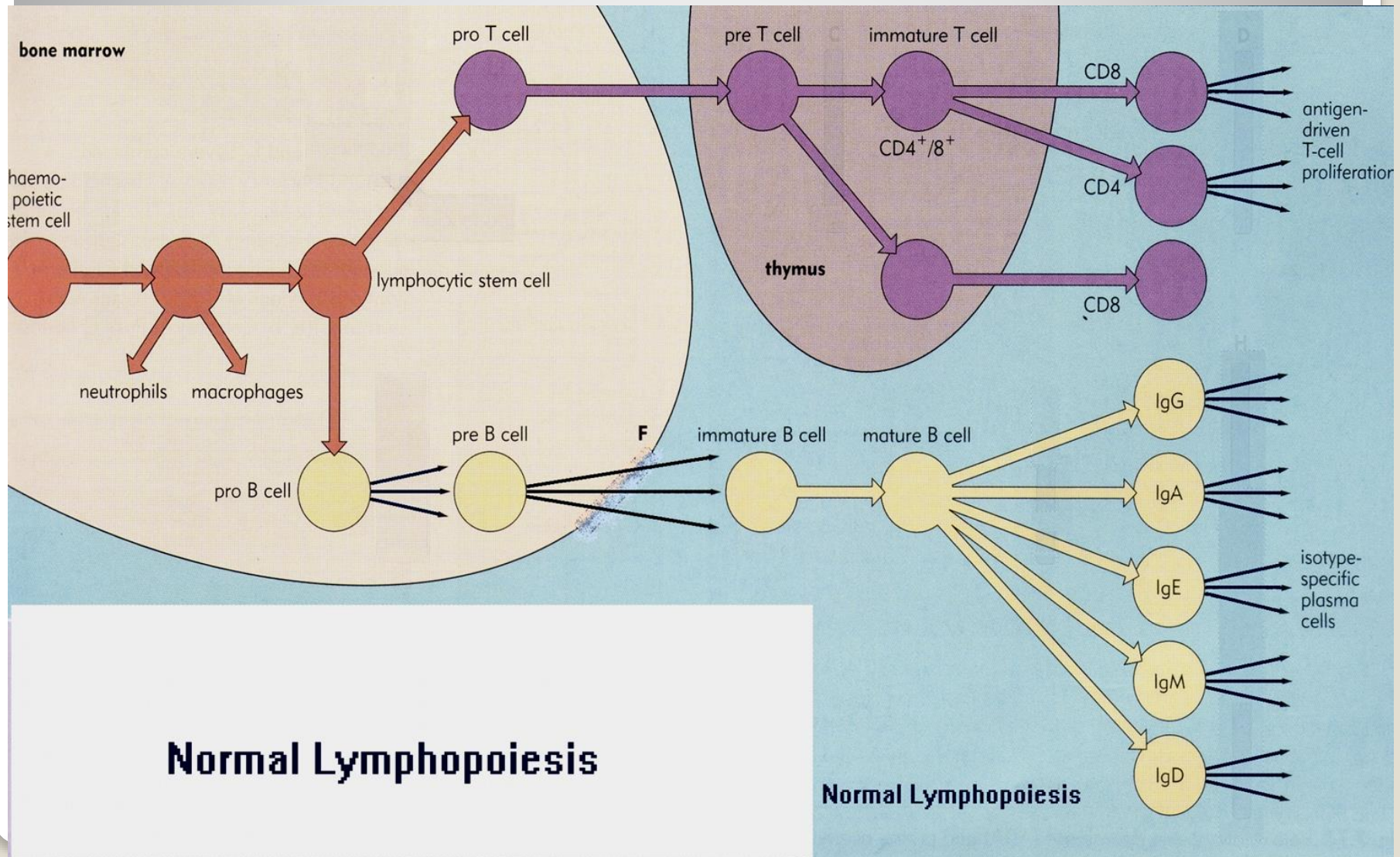


# Vývoj a zrání granulocytu - granulopoéza



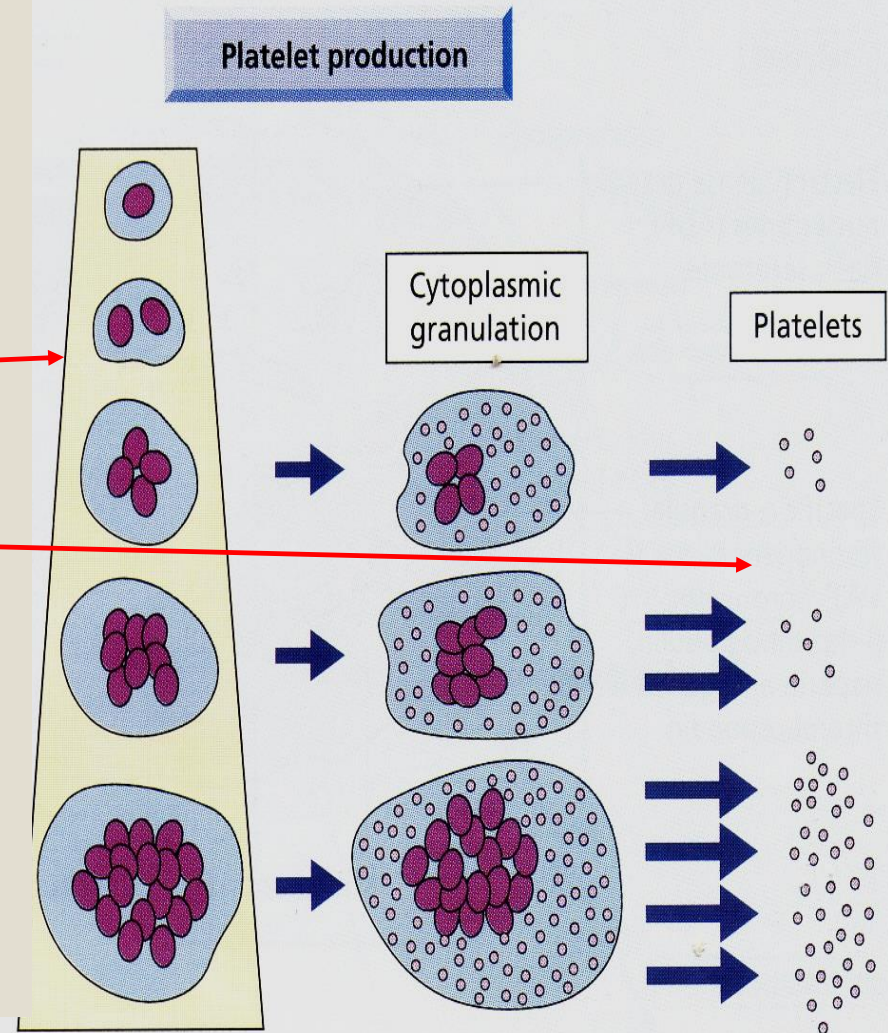


# Vývoj a zrání lymfocytu - lymfopoéza



# Trombopoéza - vývoj krevních destiček

- hlavní role v primární hemostáze (srážení krve)
- délka života 7-10 dní
- megakaryocyty procházejí endomitotickým dělením
- Následuje odštěpování destiček
- 1/3 je ve slezině

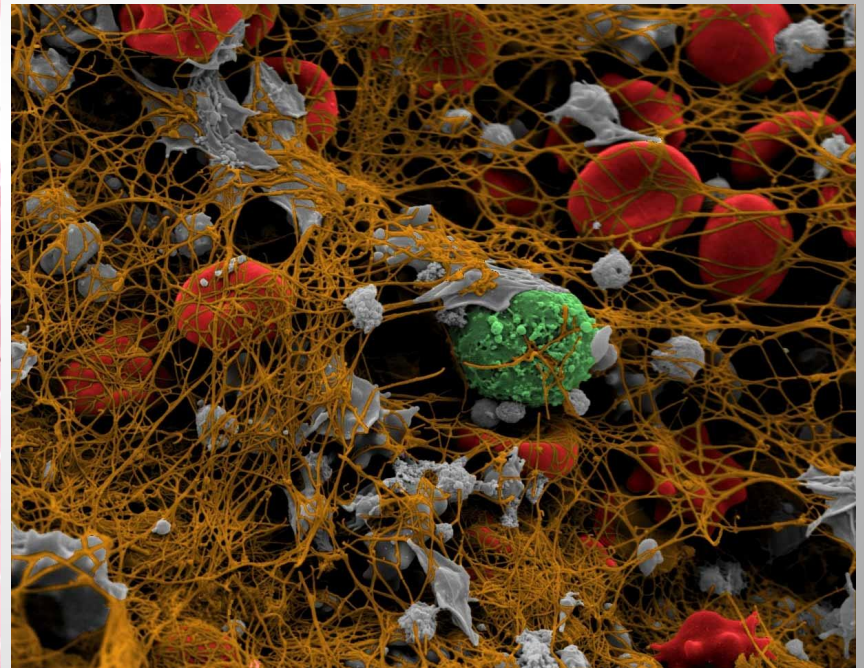
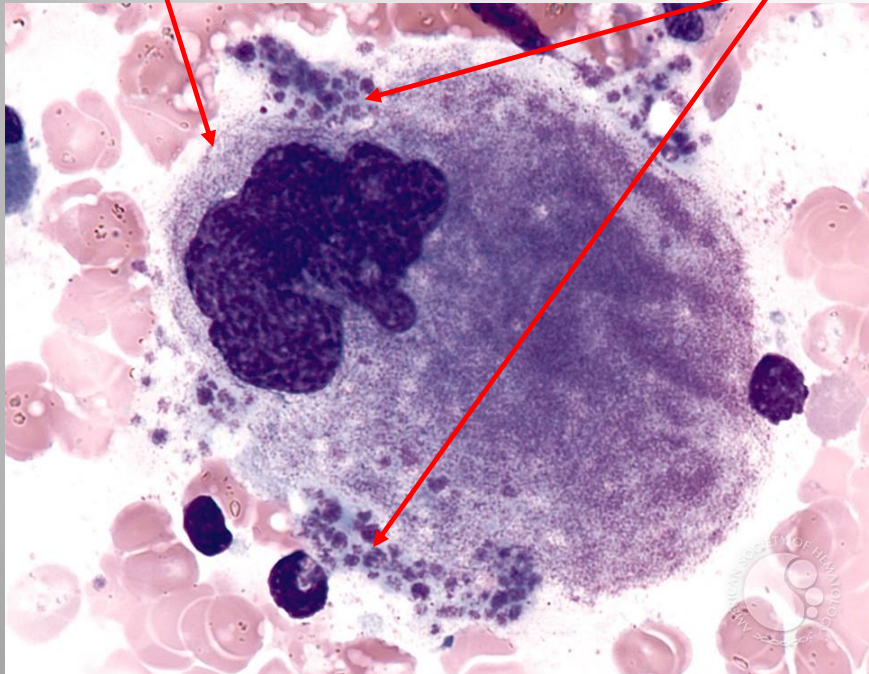




# Trombopoéza - vývoj krevních destiček

megakaryoblast -

- megakaryocyt (mgc) mnohojaderná gigantická buňka
- trombocyty (odštěpují se z mgc)



# Imunokompetentní buňky

**Imunokompetentní buňky** = krevní buňky, které zprostředkovávají **imunitní odpověď**

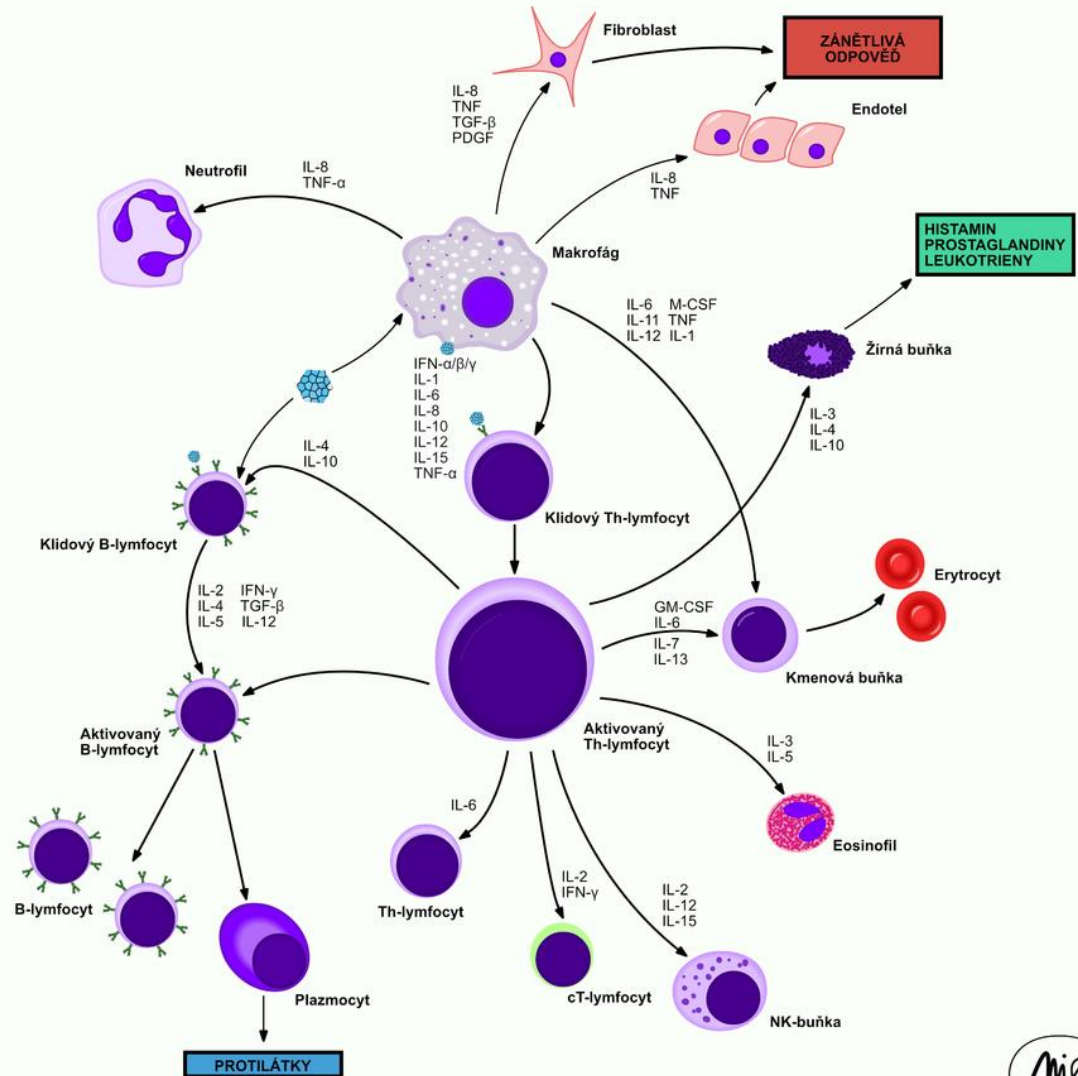
**Rozlišujeme dvě skupiny:**

buňky **nespecifické imunity** – **granulocyty a makrofágy**

buňky **specifické imunity** – **T- a B-lymfocyty**

Vznikají z **pluripotentní kmenové buňky** kostní dřeně

# Cytokinové interakce mezi buňkami imunitního systému





# **Základní a speciální vyšetřovací metody v hematologii**

Po vyšetření krevního obrazu z periferní krve je  
zásadním úkolem zhodnotit, zda jde o prvotní krevní  
chorobu, nebo reaktivní změny v krevním obraze při  
jiném základním onemocnění

K tomu využíváme dalších speciální vyšetření



# Vyšetřovací metody v hematologii /<sub>1</sub>

## **1/ Rutinní vyšetření krevního obrazu**

- na automatických analyzátorech - průtokovou cytometrií
- mikroskopicky

## **2/ Vyšetření kostní dřeně – metody odběru vzorku**

**a/ trepanobiopsie - histologické vyšetření kostní dřeně**

**b/ aspirační punkce kostní dřeně - cytologické vyšetření**

## **3/ Speciální vyšetření**

- cytogenetické vyšetření buněk kostní dřeně
- molekulárně biologické vyšetření buněk kostní dřeně a nádorové tkáně
- imunofenotypizace na průtokovém cytometru (FACS)
- cytochemické vyšetření krevních buněk
- kultivace hematopoetických buněk *in vitro*

## **4/ Koagulační vyšetření – základní, speciální**

## Rutinní vyšetření krevního obrazu

- **odběr periferní žilní krve**, tzv. plné krve do zkumavky s **EDTA** (kyselina ethylendiamintetraoctová, vyvázáním vápníku pomocí této kyseliny se krev stává nesrážlivou) ... ***citrát - pseudotrombocytopenie***
- k vyhodnocení krevního obrazu běžně používáno tzv. **strojového krevního obrazu**, t.j. vyhodnocení automatickým analyzátozem

# Rutiní vyšetření krevního obrazu (na automatických analyzátoch) /1

- Počty a relativní zastoupení jednotlivých buněčných řad jsou **na automatických analyzátoch** analyzovány za pomocí **průtokové cytometrie**

# Princip průtokové cytometrie

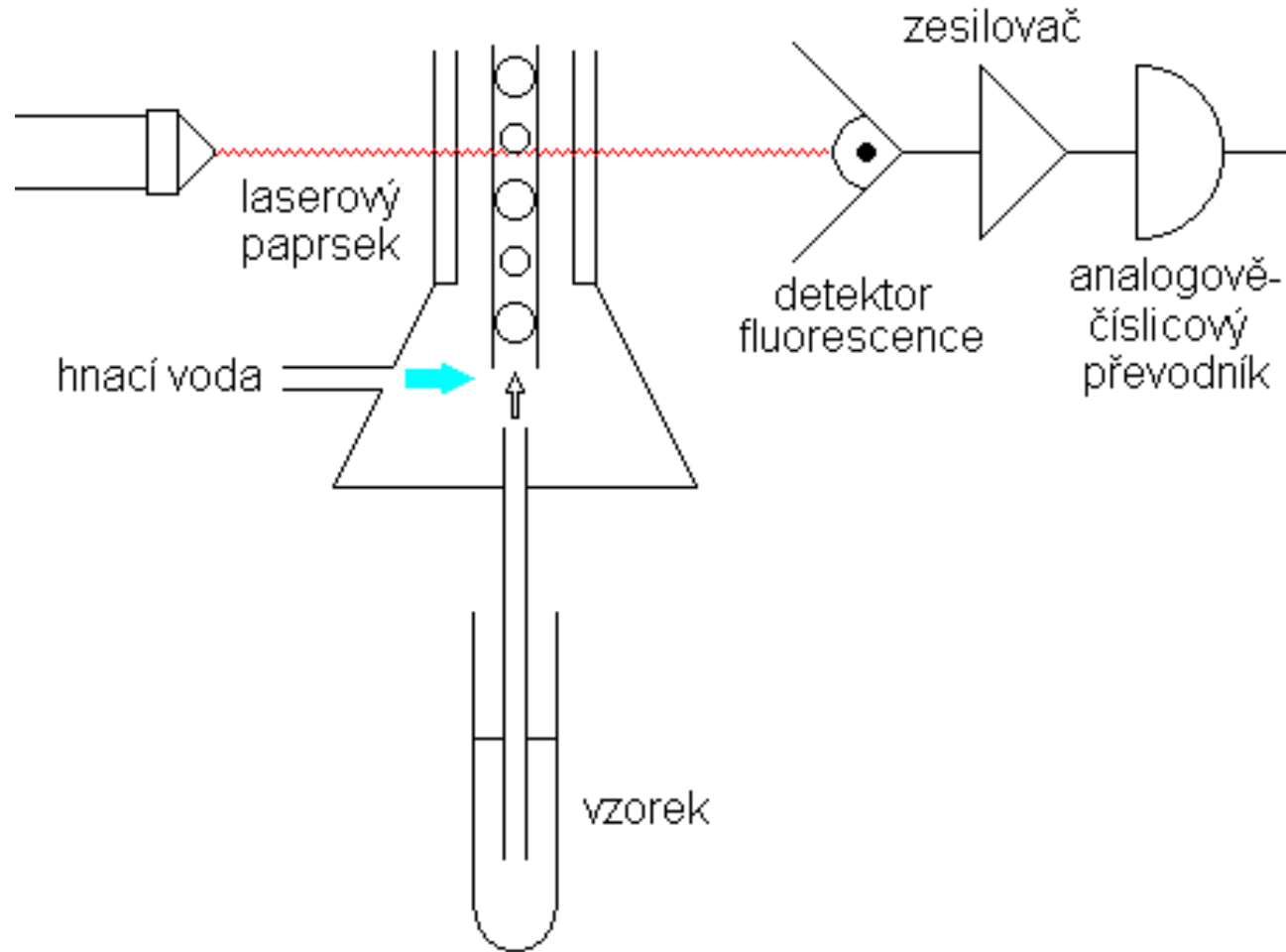
**Průtoková cytometrie** je technika pro rychlé měření jednotlivých buněk, které procházejí snímacím místem – laserovým paprskem.

Argonový laser umožňuje analýzu mnoha **buněčných parametrů** na základě odklonu laserového paprsku

Úroveň tohoto odklonu odpovídá velikosti a granularitě (denzitě) procházejících buněk, a tak je **od sebe odliší**

Např. lymfocyty jsou malé a denzní buňky, naopak granulocyty jsou buňky větší s vyšší denzitou

# Princip průtokové cytometrie



## Imunofenotypizace na průtokovém cytometru

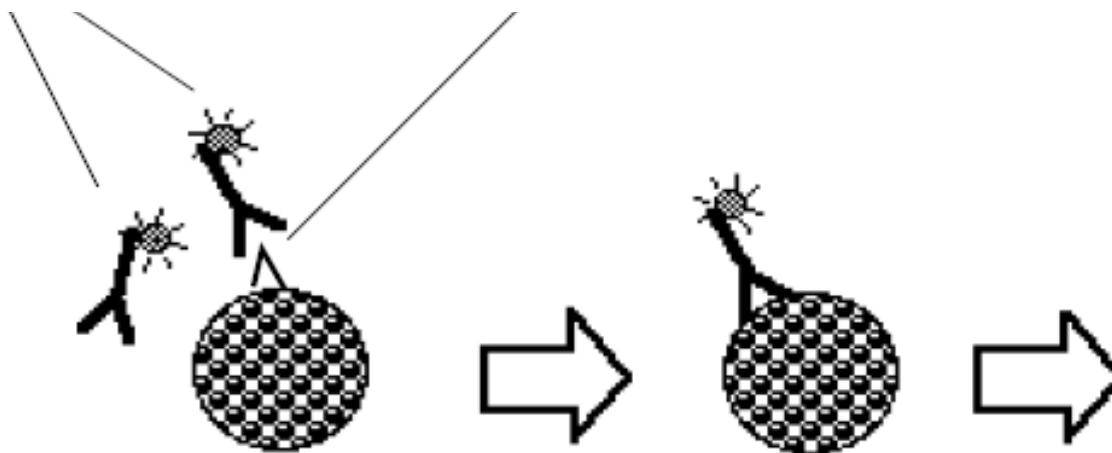
vybrané krevní buňky, které chceme vyšetřit a odlišit od ostatních (leukocyty, lymfocyty, monocyty...) jsou nejprve označeny **fluorescenční látkou**, navázanou na typický **diferenciační znak** na povrchu té buňky. Diferenciační znak (CD) je pro každou z krevních buněk typický, podobně **jako otisk prstu**, a tak lze krevní buňky identifikovat a **odlišit od jiného typu krevní buňky** (např. lymfocyty od granulocytů). Zároveň zjistíme množství jednotlivých buněčných podtypů

# Fluorescence

- **Protilátky značené fluorochromy**

Fluorochromem  
značené protilátky

Povrchový antigen =  
diferenciační znak ( CD)



Inkubace

Analýza



## Imunofenotypizace na průtokovém cytometru

Při průtoku jednotlivých krevních buněk úzkou kapilárou přístroje je každá z označených buněk fluorescenční látkou zaznamenána v počítači a **součet nám dá přehled o celkovém množství určitých buněk a umožní upřesnit diagnózu** (např. u lymfatické leukemie je převaha (90 %) lymfocytů, u myeloidní leukemie je převaha granulocytů, resp. jejich nezralých forem.

# Automatický analyzátor krvinek Sysmex 2000



# Hematologický analyzátor Sysmex XN



# Průtokový cytometr



# ad 1/ Krevní obraz + diff – analyzátor

## „strojový“ krevní obraz

Menu QC File Rule Explorer Browser Data Browser 00-18 (Build 4) Logon Name: xn 30/09/2016 (Fri) 15:35

Modify Validate Output Upper Lower Last 20 File Delete Close

**Positive** (Diff, Morph, Count) Validated Rule Result Query To Host 1609303009 30/09/2016 14:56:44

Main Graph Cumulative Q-Flag Service User Lab. Only Manual (Open) XN-3000-1-R

**CBC**

Item	Data	Unit
WBC	5.64	10 <sup>9</sup> /L
RBC	3.11	10 <sup>12</sup> /L
HGB	80	g/L
HCT	0.230	- Ratio
MCV	74.0	- fL
MCH	25.7	- pg
MCHC	348	g/L
PLT	241	10 <sup>9</sup> /L
RDW-SD	41.9	fL
RDW-CV	15.5	%
PDW	9.1	fL
MPV	9.0	fL
P-LCR	15.9	%
PCT	0.22	%
NRBC#	0.00	10 <sup>9</sup> /L
NRBC%	0.0	%

**DIFF**

Item	Data	Unit
NEUT#	1.56	* 10 <sup>9</sup> /L
LYMPH#	3.13	10 <sup>9</sup> /L
MONO#	0.65	10 <sup>9</sup> /L
EO#	0.28	* 10 <sup>9</sup> /L
BASO#	0.02	10 <sup>9</sup> /L
NEUT%	27.6	%
LYMPH%	55.5	+ %
MONO%	11.5	%
EO%	5.0	%
BASO%	0.4	%
IG#	0.01	* 10 <sup>9</sup> /L
IG%	0.2	%

**WBC Flag(s)**  
WBC Abn Scattergram  
Lymphocytosis  
Left Shift?

**RBC Flag(s)**  
Anemia

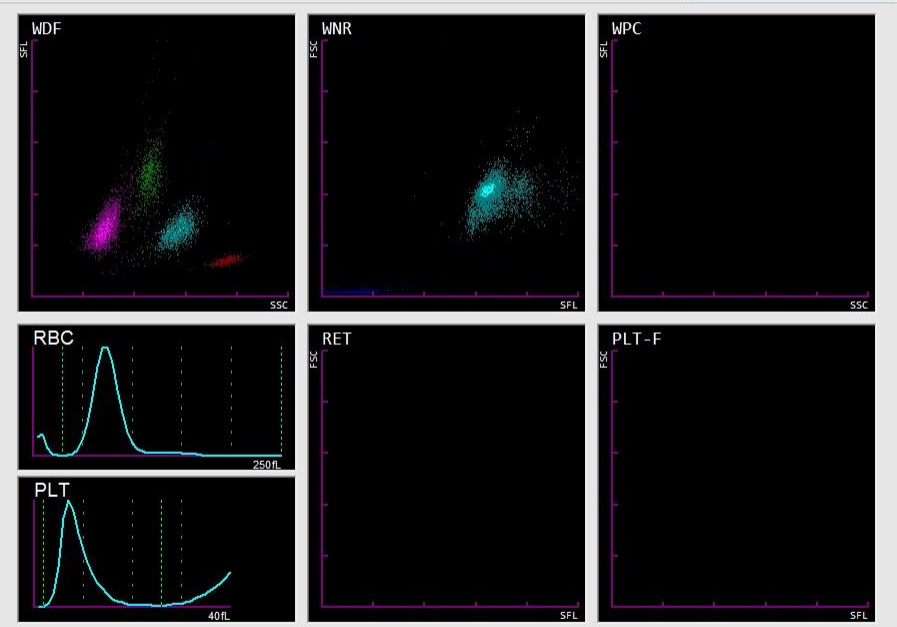
**RET**

Item	Data	Unit
RET%		%
RET#		10 <sup>12</sup> /L
IRF		%
LFR		%
MFR		%
HFR		%
RET-He		pg

**PLT-F**

Item	Data	Unit
IPF		%

**PLT Flag(s)**



XN-3000-1-L XN-3000-1-R

WB CBC DIFF RET PLT-F WPC WB CBC DIFF

Printer GP/LP 0 HOST HOST1

# Imunofenotypizace

- Identifikace buněk pomocí panelu různých protilátek značených fluorochromy
- CD – „cluster of differentiation“
- Vyšetřované vzorky
  - PK, KD, lymfatické uzliny, likvor, punktáty...
- Diagnostika
- Prognostické faktory
- Sledování po léčbě

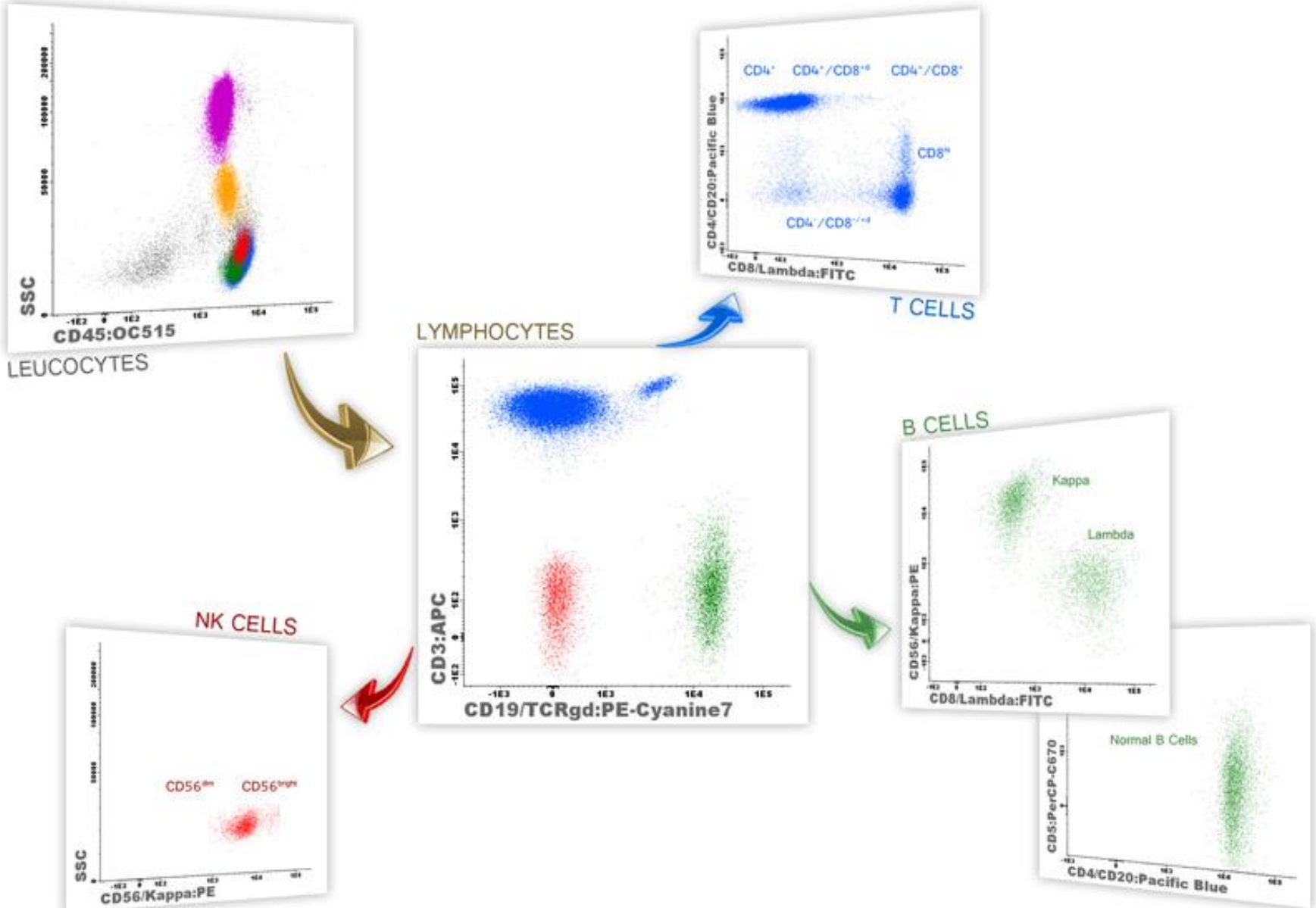
## Screening lymfoproliferace

- CD20+CD4
- CD45
- CD8+IgL
- CD56+IgK
- CD5
- CD19
- CD3
- CD38

- B-lymfo
  - klonalita
  - vývoj (CD20 vs. CD38)
  - CD5+
- T-lymfo
  - CD4, CD8
  - CD5, CD38
- NK buňky

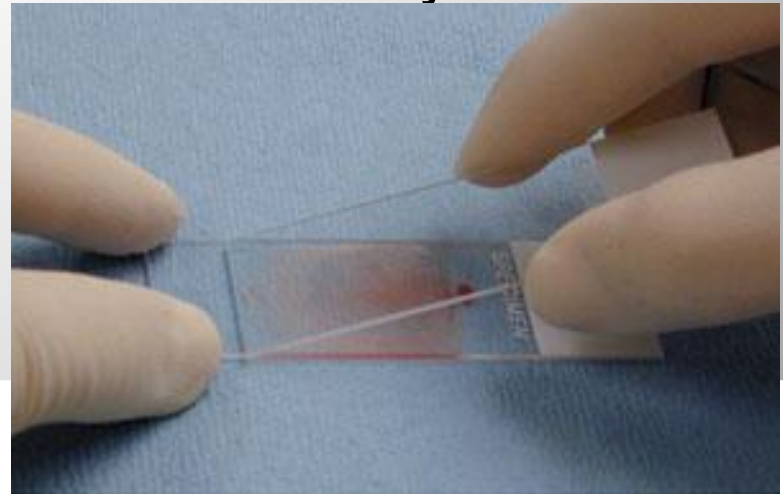


# Screening lymphoproliferace



ad 1/ **Rutinní vyšetření krevního obrazu**  
**(mikroskopicky)**

- V případě **podezření na přítomnost abnormálních buněčných typů** je však nutné vyhodnocení krevního nátěru **pod mikroskopem**, tzv. **ruční diferenciál**.
- **Krevní nátěr** je mikroskopický preparát získaný rozetřením kapky krve na sklíčku s následným obarvením



## Diferenciální počet leukocytů (KO + diff)

- Diferenciální rozpočet leukocytů = stanovení procentového zastoupení jednotlivých podtypů bílých krvinek
- Krevní analyzátor
- **Mikroskopický diferenciál leukocytů**
- **(= nátěr)**
  - Manuální
  - Automatický (digitální morfologie)

## ad 1/ **Mikroskopické vyšetření krevního obrazu**

- k vyloučení tzv. falešné trombocytopenie neboli **pseudotrombocytopenie**, kdy dojde ke shlukování (agregaci) trombocytů v odebrané krvi v EDTA a nález je analyzátozem vyhodnocen jako trombocytopenie.
- pomůžte - mikroskopické vyšetření krevního nátěru
  - nový odběr periferní krve s **obsahem citrátu** (v citrátu nedochází ke shlukování trombocytů)
- **morfologické změny** červených krvinek

# **Kdy se vyšetřuje krevní obraz?**

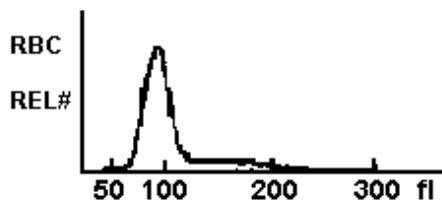
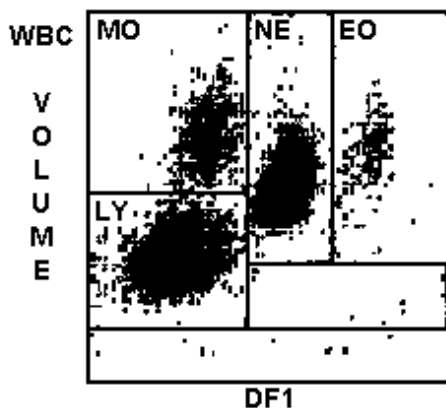
**součástí celkového vyšetření, které se provádí:**

- **v rámci preventivní prohlídky**
- **v případě onemocnění**
- **ke sledování jeho průběhu a reakce na léčbu**
- **jako součást předoperační přípravy**
- **při příznacích chudokrevnosti** (snížená výkonnost, slabost, bledost, dušnost, zrychlená srdeční frekvence),

## **Kdy se vyšetřuje krevní obraz?**

- rozhodování o nutnosti podání krevní transfúze a sledování jejího efektu
- při podezření na infekci
- při krvácivých stavech
- ke zjištění rizika trombotických stavů (tvorba krevních sraženin v cévách)
- při podezření na nádorová onemocnění, sledování krevních nemocí a jejich reakci na léčbu
- při užívání některých léků

# Jak hodnotit krevní obraz ? - čtyři parametry: leukocyty, hemoglobin, trombocyty, diferenciál



WBC	6.8	
	%	#
NE	52.6	3.6
LY	36.7	2.5
MO	7.8	0.5
EO	2.5	0.2
BA	0.4	0.0
RBC	5.29	
HGB	16.2	
HCT	47.0	
MCV	88.8	
MCH	30.7	
MCHC	34.5	
RDW	12.5	
PLT	179	
MPV	8.4	

## Jeden parametr abnormalní:

-většinou benigní onemocnění  
(agranulocytóza, leukemoidní  
reakce, různé anémie, ITP)

## > 1 parametr abnormální:

Vysoká pravděpodobnost  
závažného onemocnění

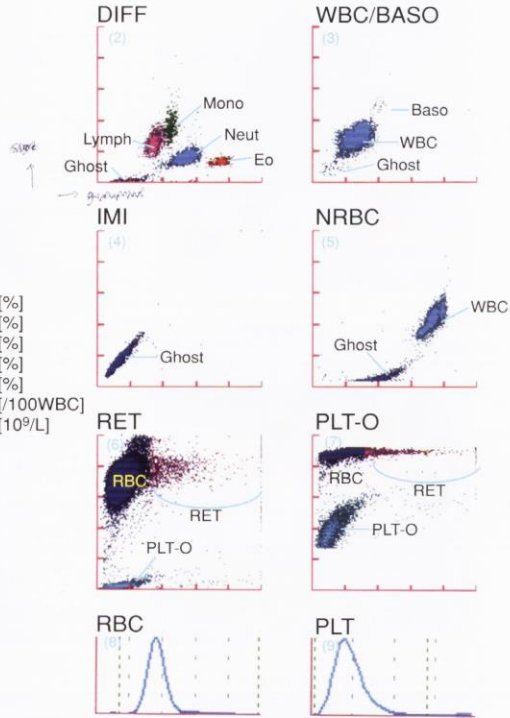
**!! Každý pacient s infekcí, která nereaguje na antibiotika  
první linie, by měl mít vyšetřen minimálně krevní obraz  
a sedimentaci !!**



## Stavy, které mohou falešně ovlivnit počet krevních elementů při automatickém zpracování krevního obrazu:

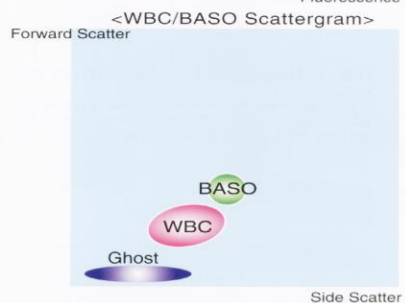
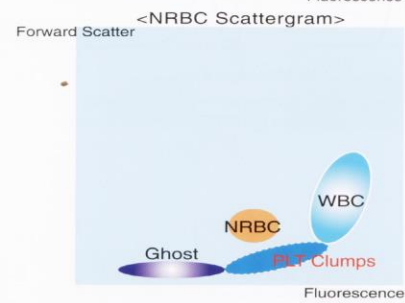
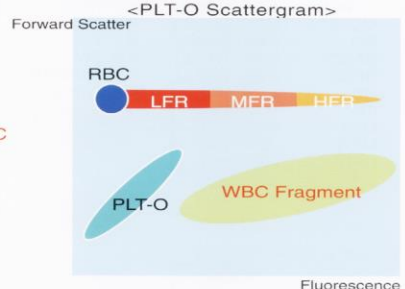
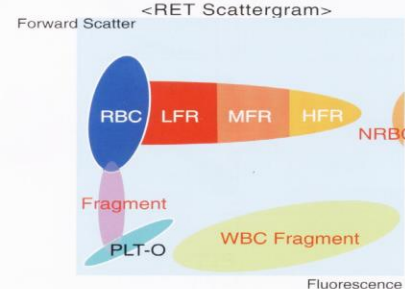
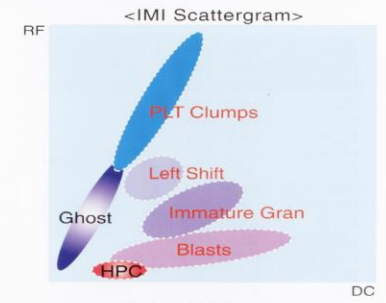
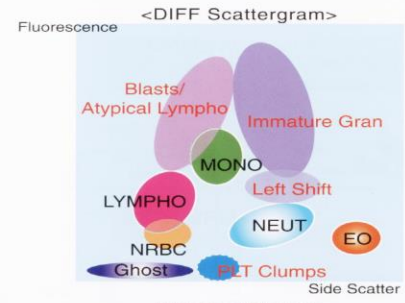
Buňky	Patologický stav, nemoc	<u>Falešné ovlivnění výsledku počtu krvinek</u>	Příčina, mechanismus
Erytrocyty	mikrocytóza nebo schistocyty	nižší počet erytrocytů	Mikrocyty a schistocyty nedosahují objemu dolní hranice detekce ery
	polycytemie	nižší počet erytrocytů	sčítání agregovaných erytrocytů
	Howell-Jolly tělíška	vyšší počet trombocytů	H-J tělíška jsou podobné velikosti jako trombocyty
Leukocyty	<b>leukocytóza</b> ; nad $50 \times 10^9/l$	nižší počet leukocytů; vyšší MCV erytrocytů	sčítání agregovaných leukocytů; některé leuko „přečteny“ jako ery
	ALL, CLL * virové infekce	nižší počet leukocytů	zvýšená fragilita leukocytů, včetně jejich nezralých forem
	chemoterapie akutní leukémie	vyšší počet trombocytů	fragmenty leukemických bb. jsou sčítány jako trombocyty
Trombo	destičkové aglutininy	nižší počet trombo, někdy i falešně vyšší počet leuko	<b>agregáty destiček</b> , mohou být sčítány jako leukocyty
Plasma	chladové aglutininy	nižší počet erytrocytů s makrocytózou	dublety, triplety erytrocytů sčítány jako makrocyty
	kryoglobuliny, kryofibrinogen	variace počtu destiček	bílkovinné precipitáty mohou být sčítány jako trombocyty

(1)	WBC	6.90	[10 <sup>9</sup> /L]	
	RBC	4.64	[10 <sup>12</sup> /L]	
	HGB	154	[g/L]	
	HCT	44.0	[%]	
	MCV	94.8	[fL]	
	MCH	33.1	[pg]	
	MCHC	350	[g/L]	
	PLT	353	[10 <sup>9</sup> /L]	
	RDW-SD	46.0	[fL]	
	RDW-CV	13.4	[%]	
	PDW	11.6	[fL]	
	MPV	10.6	[fL]	
	P-LCR	30.0	[%]	
	PCT	0.37	[%]	
	NEUT	4.19	[10 <sup>9</sup> /L]	60.7 [%]
	LYMPH	1.54	[10 <sup>9</sup> /L]	22.3 [%]
	MONO	0.51	[10 <sup>9</sup> /L]	7.4 [%]
	EO	0.60	[10 <sup>9</sup> /L]	8.7 [%]
	BASO	0.06	[10 <sup>9</sup> /L]	0.9 [%]
	NRBC	0.00	[10 <sup>9</sup> /L]	0.0 [/100WBC]
	RET	1.70	[%]	78.9 [10 <sup>9</sup> /L]
	IRF	6.7	[%]	
	LFR	93.3	[%]	
	MFR	6.1	[%]	
	HFR	0.6	[%]	



(10) WBC IP Message(s)      (11) RBC/RET IP Message(s)      (12) PLT IP Message(s)

(1) Analysis data (2) DIFF scattergram (3) WBC/BASO scattergram (4) IMI scattergram (5) NRBC scattergram (6) RET scattergram (7) PLT-O scattergram (8) RBC histogram (9) PLT histogram (10) WBC system IP message (11) RBC/RET system IP message (12) PLT system IP message



# Vyšetřovací metody v hematologii /2

## 1) Krevní obraz (KO)

- základní vyšetření v hematologii
- určuje počet krevních bb. a jejich parametrů
  - na analyzátorech krevních elementů
  - v indikovaných případech mikroskopicky

**Krevní obraz - počet:**

- erytrocytů ( + Hb , Htk...)**
- leukocytů**
- destiček**

# Vyšetřovací metody v hematologii / 3

## Červený krevní obraz (čko)

**Počet erytrocytů (ERY)** - v jednom litru krve  
fyziologické hodnoty      **muži: 4,3 - 5,7. 10<sup>12</sup>/l**  
   **ženy: 3,8 - 4,9. 10<sup>12</sup>/l**



fyziologické zvýšení počtu

novorozenci,

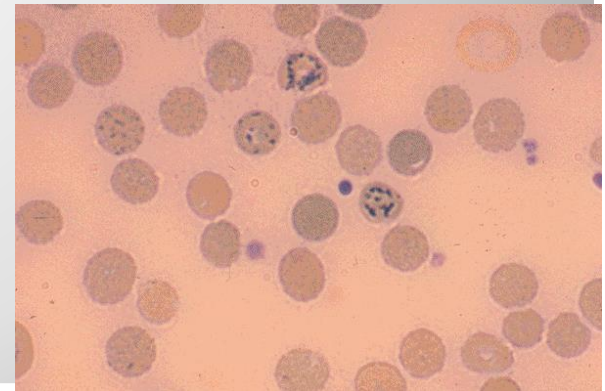
lidé žijící delší dobu ve vyšších nadmořských výškách

patologické zvýšení (polyglobulie)

srdeční vady, plicní onemocnění, polycytemia vera

### **retikulocyty**

- nejmladší ery v periferní krvi
- vypuzení jádra.. zbytky organel - ribozomy, ER
- relativní zastoupení: 0, 005 - 0, 015



# Vyšetřovací metody v hematologii / 4

## Červený krevní obraz (čko)

### Hemoglobin (Hb)

- červené krevní barvivo, - vyplňuje zralý erytrocyt
- umožňuje mu plnit funkci přenosu kyslíku.

**Muži: 136 – 176 g/l**

**Ženy: 120 - 168 g /l**

### Hematokrit (Htk) - poměr mezi objemem erytrocytů a plazmy:

- muži 40 : 60 %; ženy 35 : 65 %

Příklad: Htk 0,40 znamená, že v 1 litru krve je 400 ml erytrocytů

**Muži: 0,39- 0,49 l/l**

**Ženy: 0,35- 0,46 l/l**

Snížení Hb, Htk – anémie

Zvýšení Hb, Htk – polyglobulie, zahuštění krve - dehydratace

# ANÉMIE - definice, rozdělení

**DEFINICE:** Snížení množství Hb (zpravidla i Htk a počtu ery) v 1 litru krve pod dolní hodnotu zdravých jedinců.

muži < Hb 135 g/ l (< 0,40 Htk)

ženy < Hb 115 g/ l (< 0,36 Htk)

**ROZDĚLENÍ:** klasifikace - patofyziologická  
- morfologická

## ANÉMIE

- A. z nedostatečné krve tvorby (hypoproliferativní)
- B. ze zvýšených ztrát

# Vyšetřovací metody v hematologii / 5

## Odvozené hodnoty čko

**střední objem červené krvinky - 80 - 95 fl**

**(MCV - Mean Cell Volume)**

informace o velikosti krvinky (mikrocyt, normocyt, makrocyt)

**průměrná hmotnost Hb v ery 27- 32 pg**

**(MCH - Mean Corpuscular Hemoglobin)**

informace, zda je krvinka normochromní či hypochromní = zda má dostatek červeného krevního barviva, hemoglobinu

**barevná koncentrace Hb v ery mase 0,32 - 0,37**

**(MCHC - Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration)**

informace, zda je erymasa normochromní či hypochromní



# Vyšetřovací metody v hematologii / 6

## Červený krevní obraz (čko)

### MCV – střední objem červené krvinky (sočk)

anémie	- mikrocytová -	MCV < 80 fl
	- normocytová -	MCV = 80 - 95 fl
	- makrocytová -	MCV > 95 fl

### MCHC - střední koncentrace Hb v erytrocytu (bk)

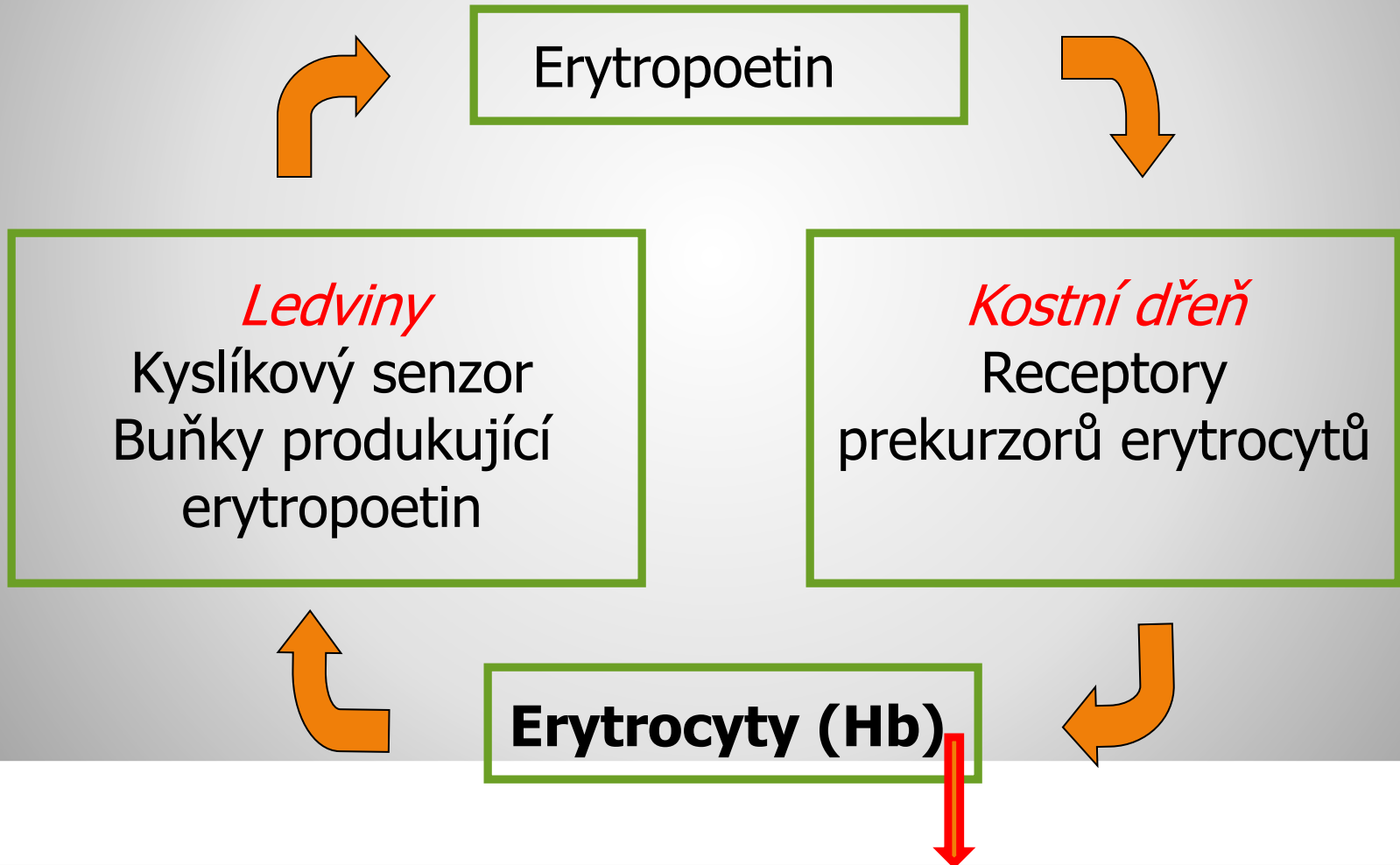
anémie	- normochromní	0,32-0,37
	- hypochromní	< 0,32

### RDW – **šíře rozptylu ery** 11,5 - 14,5 %

(Red Cell Distribution Width - vyjadřuje variabilitu průměru (velikosti) červených krvinek = **anizocytózu**)



# Regulace tvorby červených krvinek - erythropoézy



# Co je to erythropetin? „EPO“

## Vyšetřujeme hladinu endogenního erythropoetinu

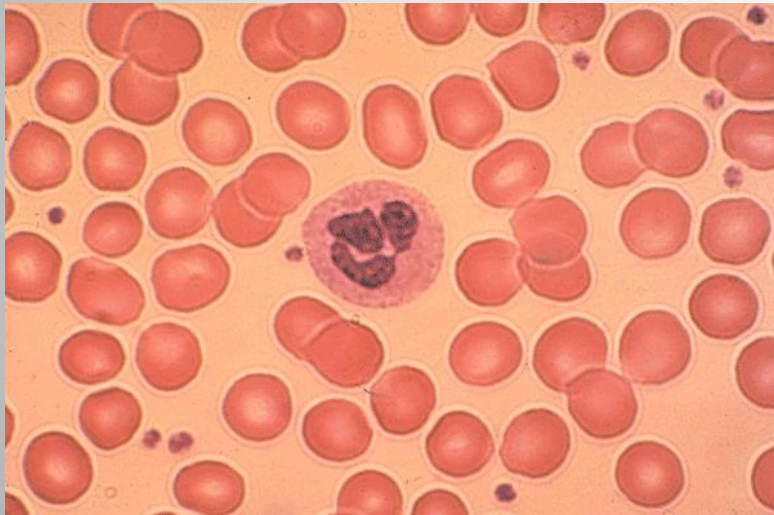
- erythropoetin(EPO) je hormon tvořený především v ledvinách
- stimuluje tvorbu a vyzrávání erytrocytů v kostní dřeni
- tvorba erythropoetinu stoupá při některých typech anémií
- snížená produkce je u onemocnění ledvin
- anémie vyvolané nedostatkem EPO provází zánětlivá a nádorová onemocnění
- „vyrobený“ (= rekombinantní) EPO v přísných indikacích má výborný účinek na odstranění anémie
- Vyrobený EPO se dá zneužít...

**MORFOLOGICKÉ – mikroskopické  
HODNOCENÍ KREVNÍHO OBRAZU**

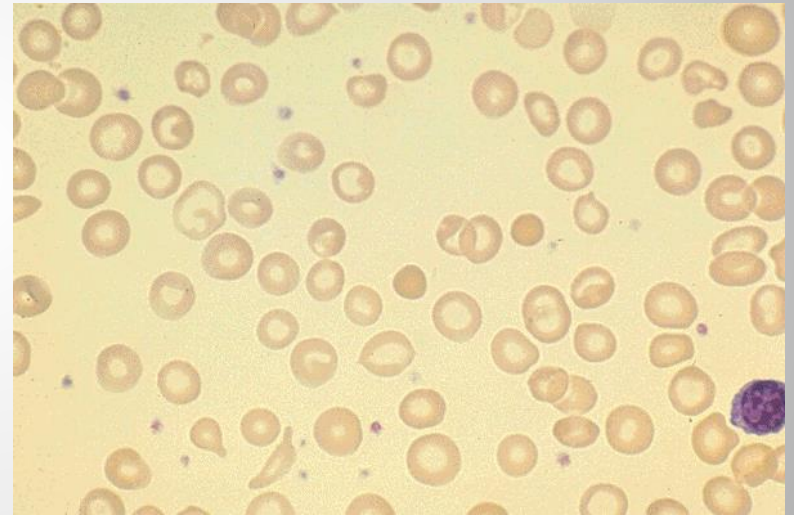
# Vyšetřovací metody v hematologii / 7

## Morfologické anomálie červených krvinek

hodnotí se na základě krevních nátěrů - viz obrázek



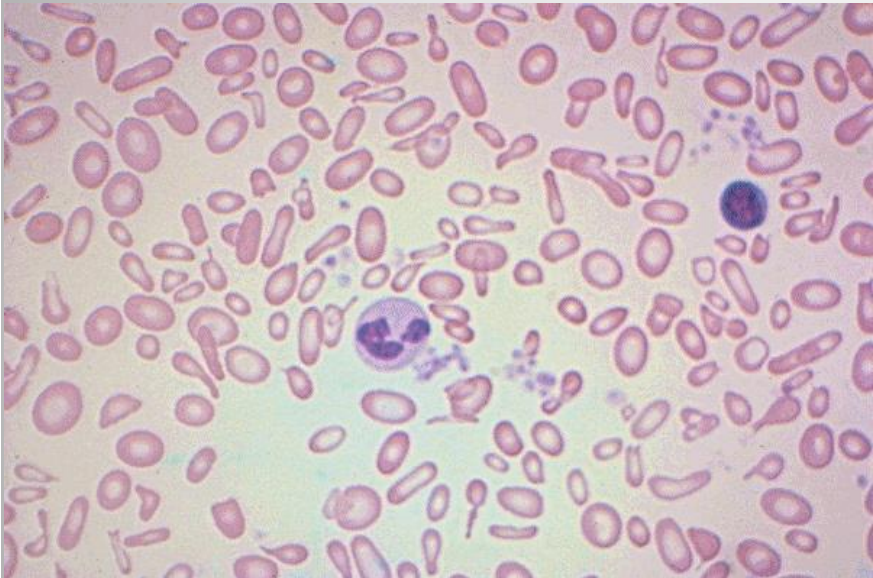
**normální krevní obraz**



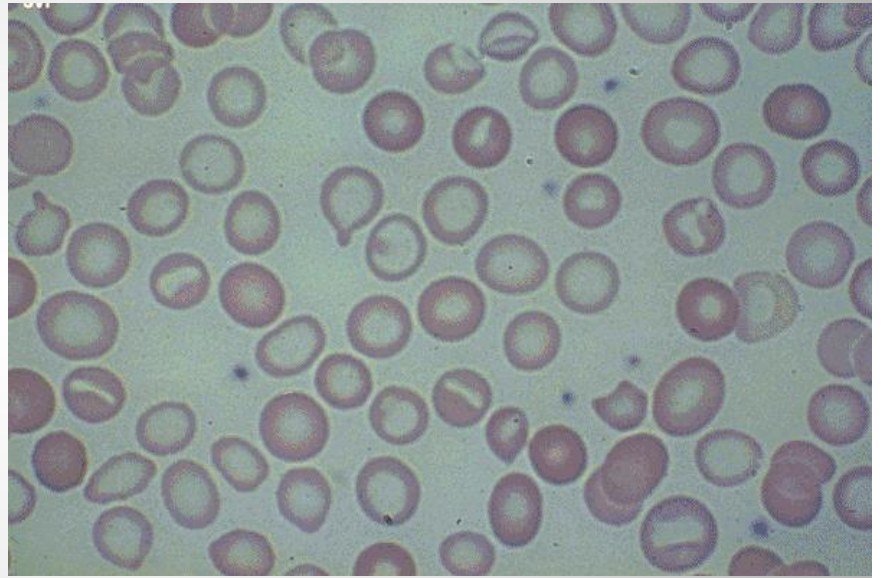
**anémie z nedostatku železa (sideropenická )**

## **Vyšetřovací metody v hematologii / 6 ERY**

### **Morfologické anomálie červených krvinek**

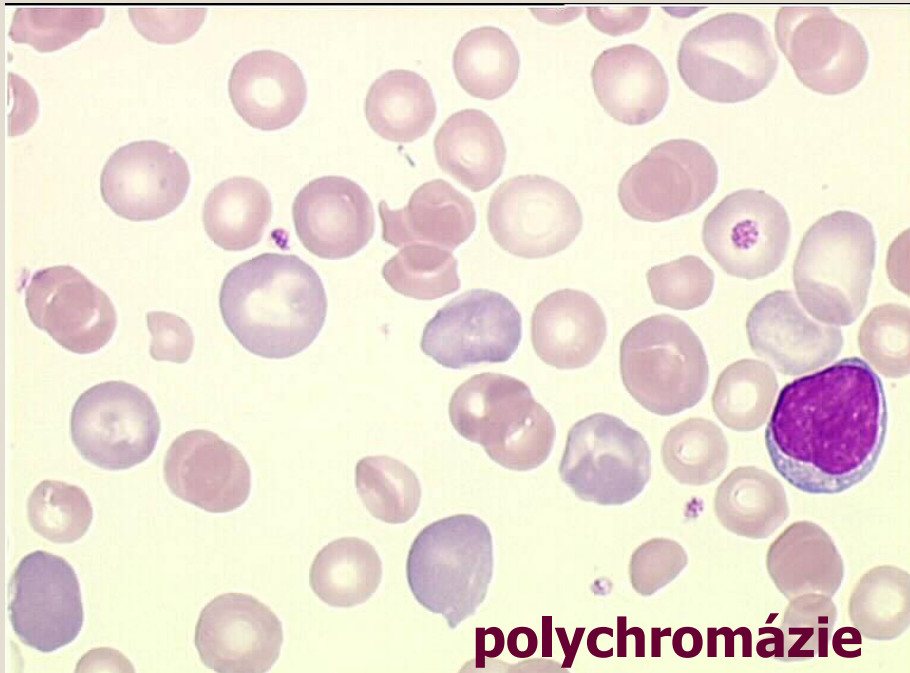


**mikrocytóza, anizocytóza,  
poikolocytoza, hypochromie**

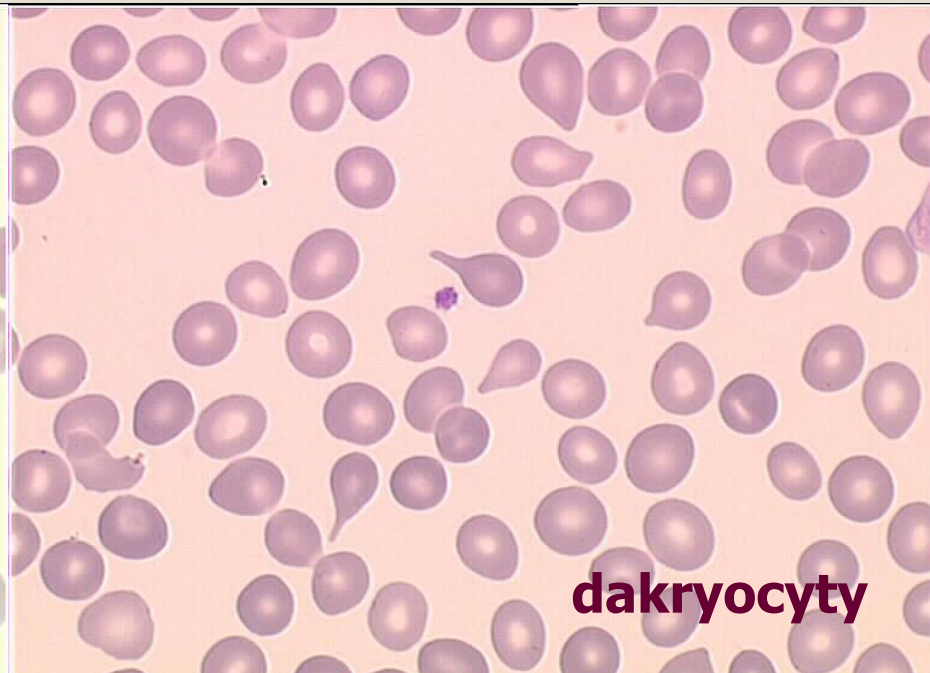


**sideropenická anemie  
po transfuzi**

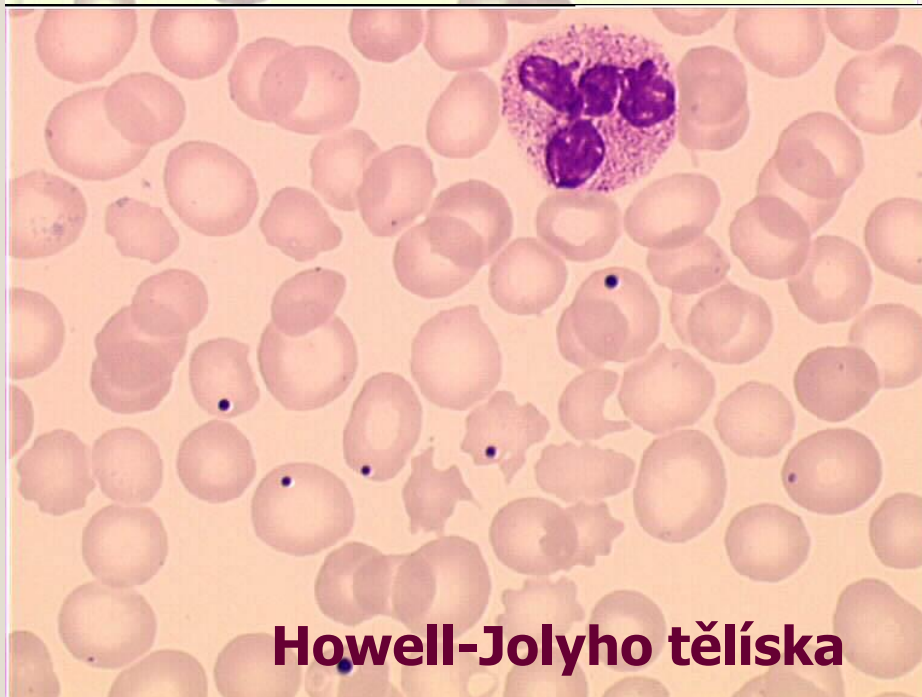




**polychromázie**



**dakryocyty**

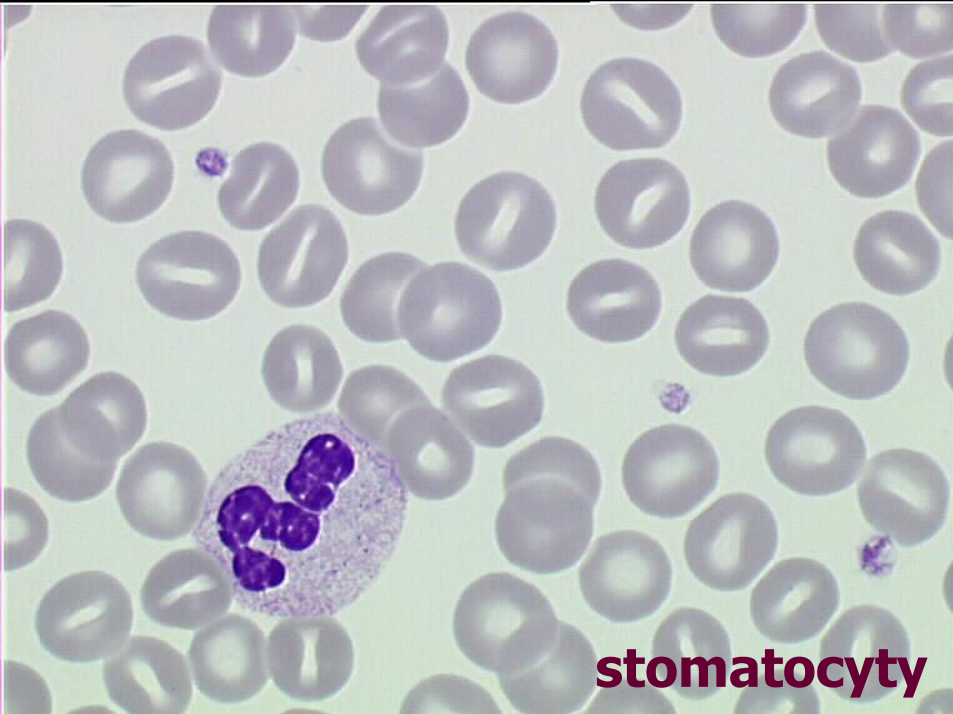


**Howell-Jolyho tělíška**

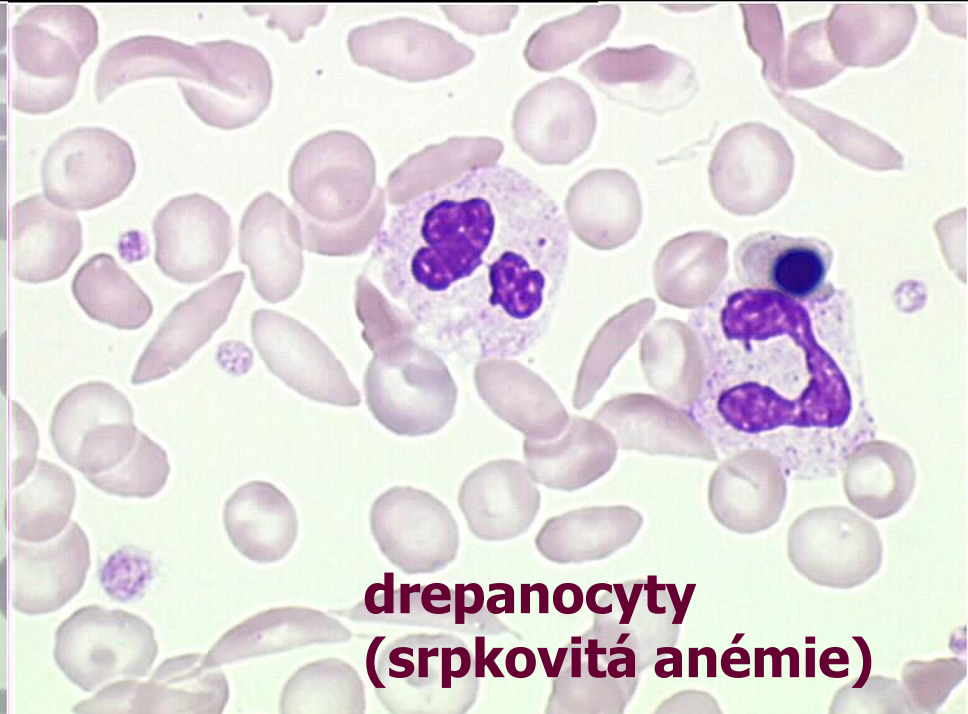


**bazofilní  
tečkování**

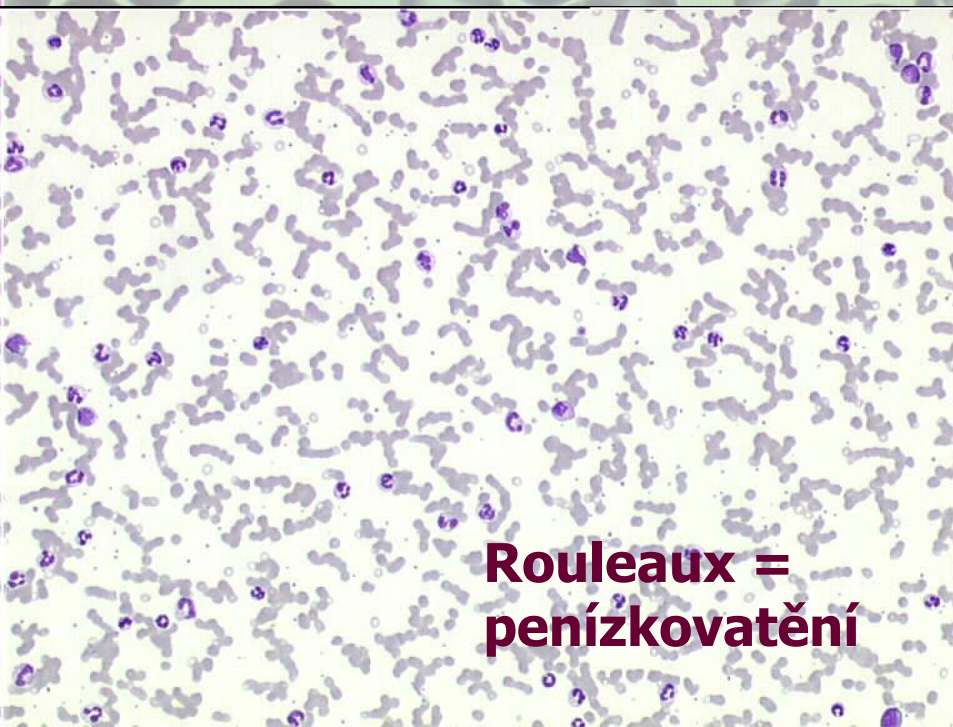




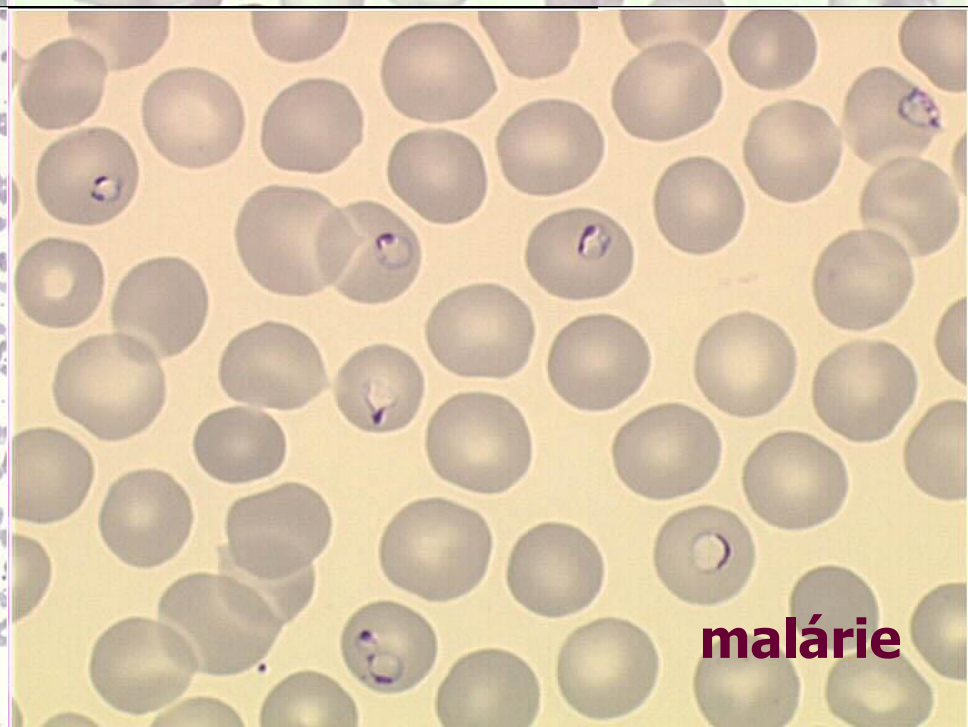
**stomatocyty**



**drepanocyty  
(srpkovitá anémie)**

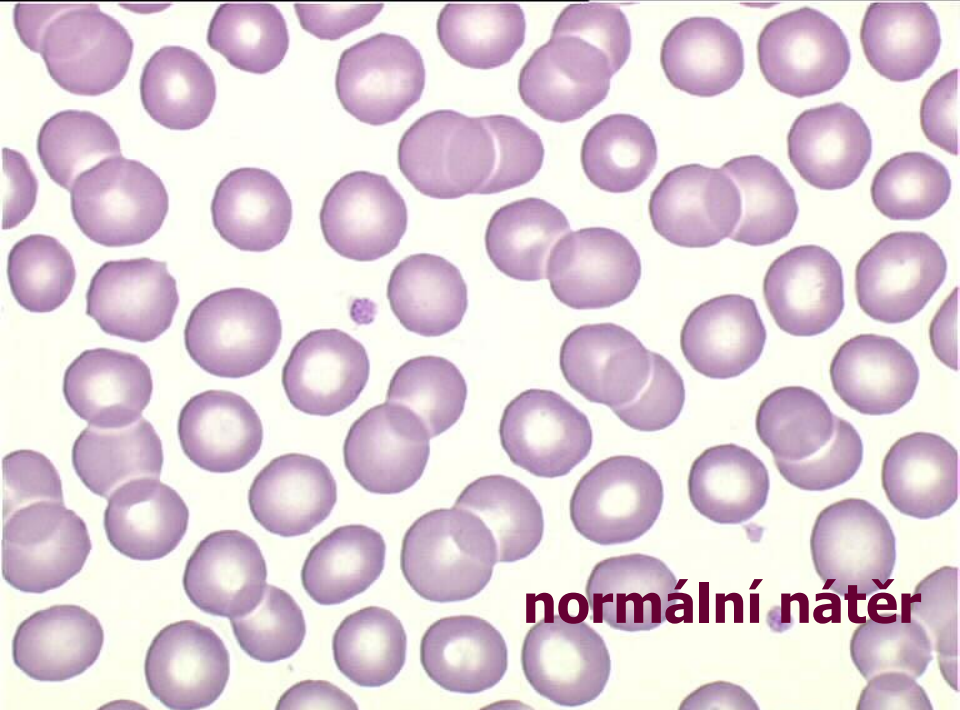


**Rouleaux =  
penízkovatění**

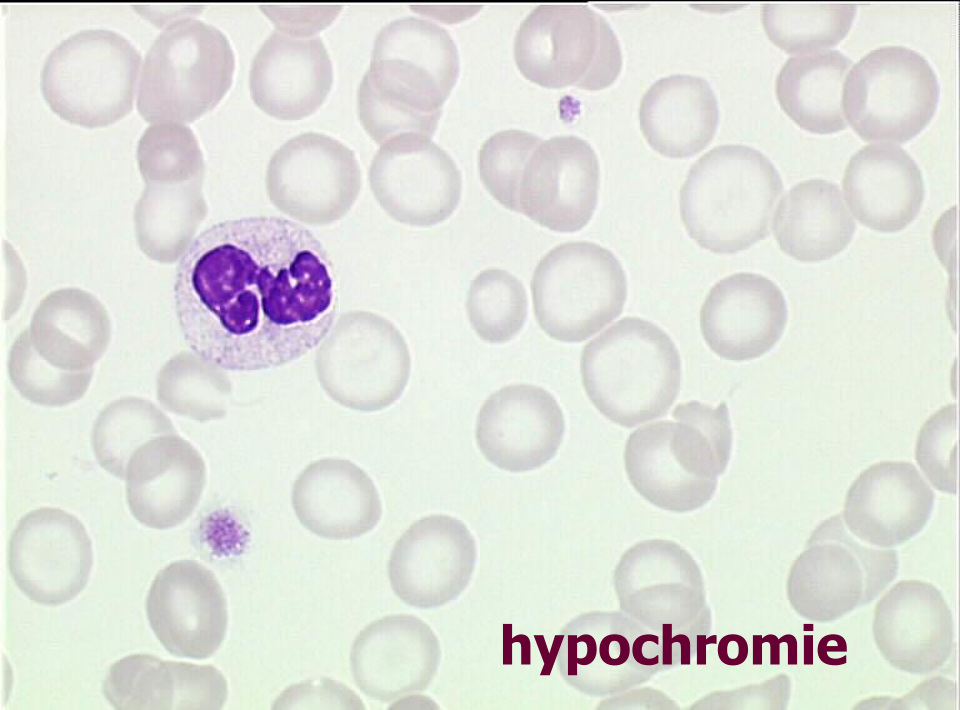


**malárie**

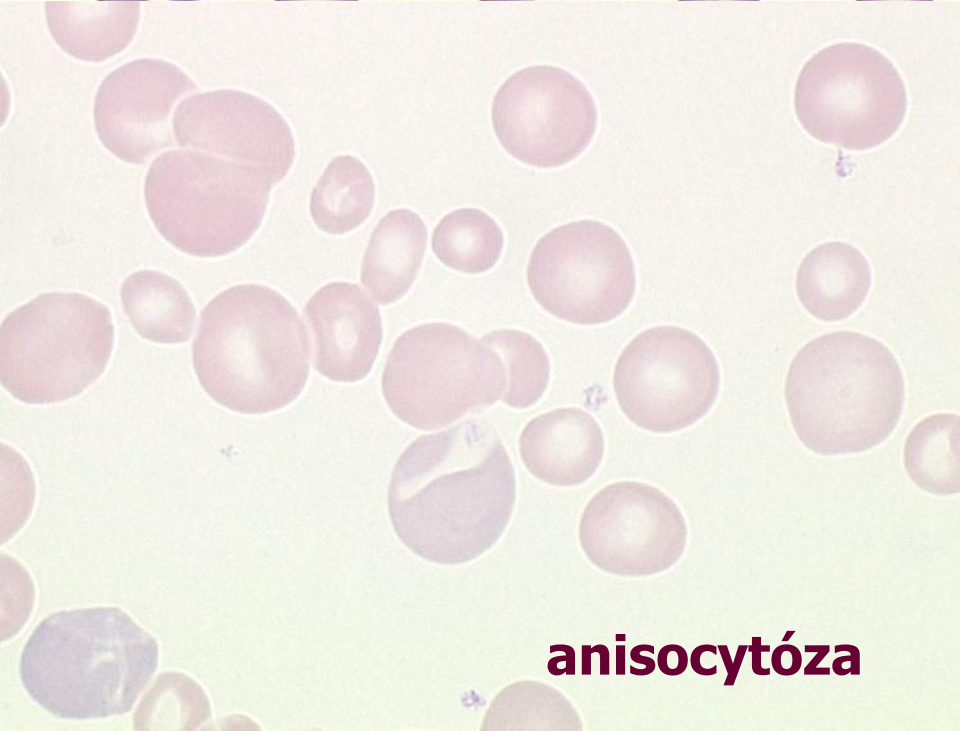




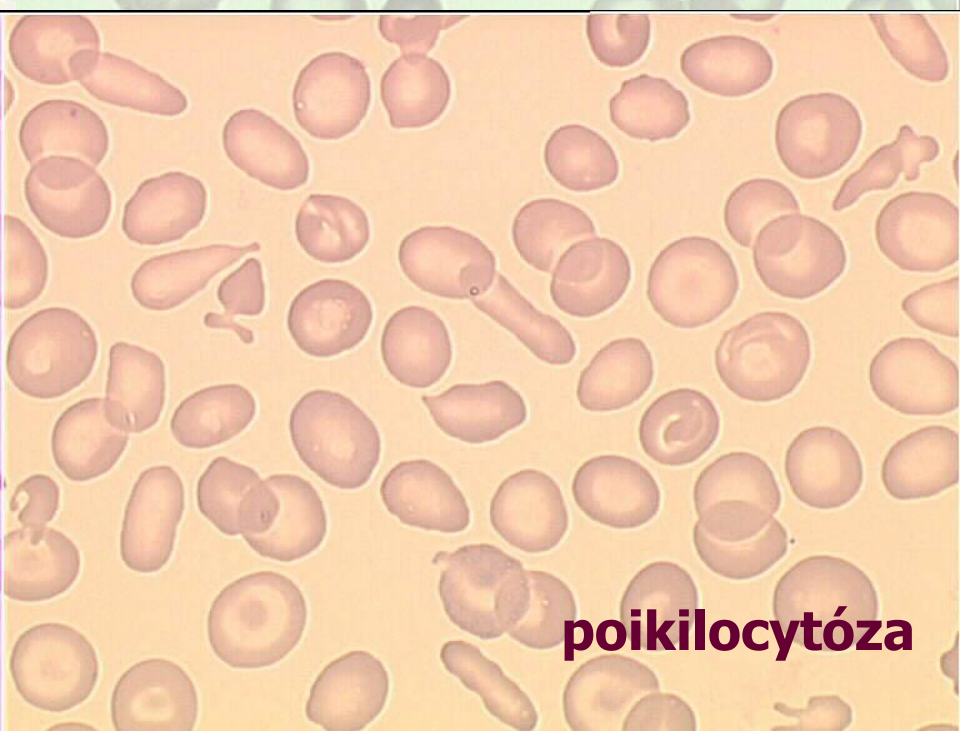
**normální nátěr**



**hypochromie**



**anisocytóza**



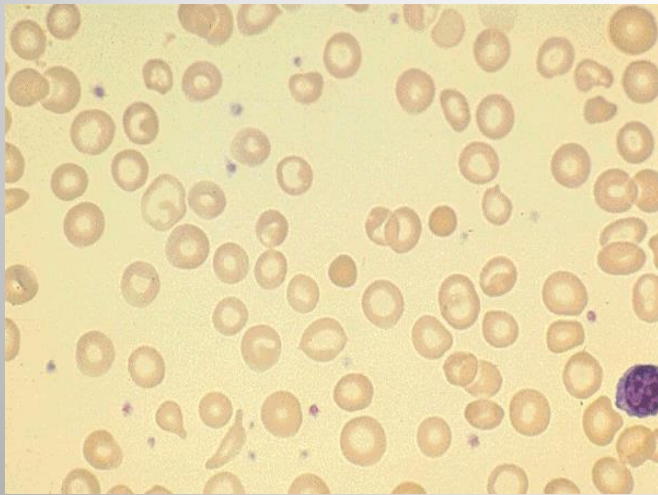
**poikilocytóza**



# Vyšetřovací metody v hematologii

## - příklady použití

**sideropenická anémie**



**normální čko**



## Příklad: Mikrocytární hypochromní sideropenická anémie (z nedostatku železa)

snížené hodnoty Hb, HtK a většinou i erytrocytů

- **SOČK snížený** - mikrocyty
- BK snížená - hypochromie
- BČK snížená - hypochromie

snížená hodnota sérového železa a feritinu

**příčiny vzniku:**

- dlouhodobé chronické krvácení (**gynekologické**, GIT...)
- nedostatečný přívod železa do organismu (**stravovací návyky**, nedostatečné vstřebávání z GIT, poresekční stavy)
- zvýšené nároky na železo (**těhotenství**, laktace, období růstu, dárci krve)
- \* **SOČK= střední objem červené krvinky**

# Kinetika železa v organismu

GIT	SLIZNICE	FUNKČNĚ VÁZANÉ	ZÁSOBY
		Tkáně:	
Příjem potrava 10-15/mg/den		myoglobin, enzymy 500 mg	
⇒	Absorpce 1-1,5 mg/den	↑ Krev :	
	⇒	transferin ⇒	⇔
Ztráty Fe 1 mg/den		5 mg	↓
↓		↓	Feritin
bb. střevního epitelu, krev		20 mg ⇒	1000 mg
(+ malé ztráty kůží a močí )		↑ ↗	↓
		Erytrocyty	20 mg
		2500 mg ↘	⇔
			⇔
Celkem cca:		3000 mg	1000 mg

# Příjem a resorpce železa

Denní příjem : 10 -15 mg

Denní potřeba: muži 1,3 mg/ den

ženy 1,8 mg/den (**menzes = ztráta 0,8 mg/den**)

Obrana organismu proti sideropenii - 2x zvýší resorpci z GIT

Resorpce z GIT = 10%

HCl v žaludku- redukce Fe<sup>2+</sup> (není nezbytné)

maximum resorpce v duodenu, distálněji klesá

V bb. střevního epitelu :

- aktivní transport do plazmy - vazba na intracelulární protein
- nebo inkorporace Fe do feritinu ve střevních buňkách
- transferin plazmy

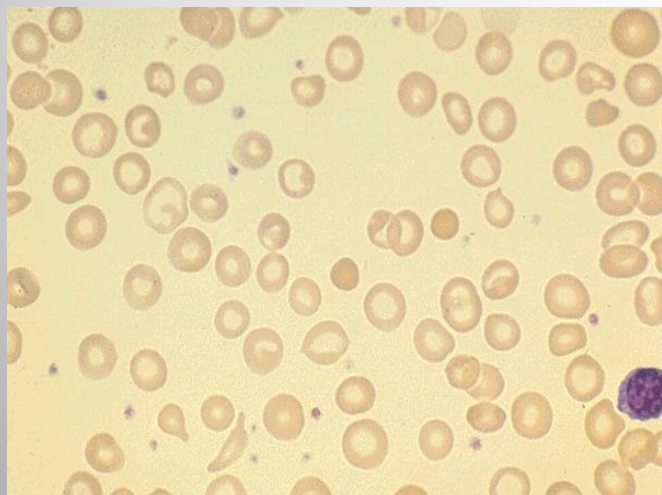
# Erytropoéza – doplňková vyšetření - železo

	<u>Muži</u>	<u>Ženy</u>	<u>Oba</u>
<b>Fe</b> [ mmol/l ]	10,6 - 28,3	6,7 - 26,0	
<b>transferin</b> g/l			<b>2,0 - 3,7</b>
TIBC [mmol/l ]			44,8 - 71,6
cirkulující transferin. receptory (cTfR)			1,0-3,7 mg/l
<b>Saturace transferinu</b>			<b>20 - 60 %</b>
<b>Feritin v séru [mg/l ]</b>	<b>30-300</b>	<b>12-125</b>	
Sideroblasty- dřeň			20 - 65 %
Resorpce <sup>59</sup> Fe z GIT			> 25 %
Volný protoporf. v ery (FEP)			350-500mg/l
kys. listová			2 - 6 mg/l
Vitamin B <sub>12</sub>			200-900 ng /l
Sérový erythropoetin (Epo)			4 -26 mU /ml

# Sideropenická anémie

## kazuistika

sideropenická anémie



normální čko



# Sideropenická anémie

**žena 1964**

opakovaně dyspeptické obtíže, pyróza, plynatost, jí málo masa

Gastroskopie 26.5.04

Zá: Bulbitida, mírná antrální gastritida. omeprazol

H. pylori - negativní

stolice na OK - negativní

8/2008: Léčena pro revmatoidní artritidu, anemická, revmatolog chce kontrolu KO

**= hematol vyšetření =**

Léčba: Sorbifer durules 2x1, zapít džusem



# Sideropenická anémie

## Periferní krevní obraz:

Leu: 6,73, Ery: 4,27, **HB: 99**, HTC: 0,311, **MCV: 72,8**, **MCH: 23,1**,  
**MCHC: 318**, **RDW: 17,8**, Plt: 421, MPV: 7,3, PCT: 0,306

Dif.stroj. relat: Ne: 61,3, Ly: 21,4, Mo: 14,8, Eo: 1,6, Ba: 0,9

Dif.stroj. absol: Ne: 4,1, Ly: 1,4, Mo: 1,0, Eo: 0,1, Ba: 0,1

Ostatní hematologie: Rtc promile: 9, Rtc abs.: 0,036

**Fe: 4,2** transferin **3,6** Vaz.kap.Fe (**TIBC**):69,0, **Saturace Fe: 6**,  
**Ferritin: 2,6**

Vitamín B12: 389, Kys.listová: 12,

Závěr: **mikrocytární, hypochromní, sideropenická anémie**



## Sideropenická anémie - vývoj nálezů

	<b>08/08</b>	<b>11/08</b>	<b>01/09</b>	<b>05/09</b>	
Leu	6,73	7,3	5,1	4,6	10 <sup>9</sup> /l
Ery	4,27	4,60	4,4	4,3	10 <sup>12</sup> /l
Hb	<b>99</b>	<b>123</b>	<b>125</b>	<b>124</b>	g/l (116-163)
Htk	<b>0,311</b>	<b>0,370</b>	<b>0,377</b>	<b>0,375</b>	0,33-0,47
MCV	<b>72,8</b>	<b>80,4</b>	<b>84,8</b>	<b>88,0</b>	fl (82,3-100,6)
MCH	<b>23,1</b>	<b>26,8</b>	<b>28,2</b>	<b>29,2</b>	pg (28,2-35,6)
MCHC	<b>318</b>	<b>333</b>	<b>332</b>	<b>332</b>	g/l (330-363)
RDW	<b>17,8</b>	<b>20,5</b>	17,4	16,0	% (11,9-16,3)
TR	421	310	293	324	10 <sup>9</sup> /l

## Sideropenická anémie - vývoj nálezů

	<b>08/08</b>	<b>11/08</b>	<b>01/09</b>	05/09	
<b>Fe</b>	4,2	6,3	5,2	16,5	umol/l (6,6)
<b>TIBC</b>	69,0	52,5	50,6	50,7	umol/l (44,8)
Fe satur	6	12	0,1	0,33	%
<b>transfer</b>	<b>3,61</b>	2,8	2,55	2,53	umol/l (2-3,6)
<b>trf satur</b>	5,1	9,9	9,0	28,7	% (19- 49) (výpočet)
R- Trf		5,4			mg/ml (1,9-4,4)
<b>feritin</b>	2,6	21,8	20,6	24,7	ug/l (10-291)

# Makrocytová anémie z nedostatku vit. B12

snížené hodnoty Hb, Htk a erytrocytů

- **SOČK zvýšený - makrocyty**
- BK normální
- BČK normální nebo zvýšená

**snížená sérová hladina vitamínu B12**

megaloblastová přestavba kostní dřeně  
atrofická gastritida, achlorhydrie

léčba:

- aplikace vitamínu B12 i.m. → retikulocytová krize, udržovací léčba do konce života
- každý rok kontrolní gastrokopie (atrofická gastritida je prekanceróza)

## Makrocytová anémie z nedostatku vit. B12

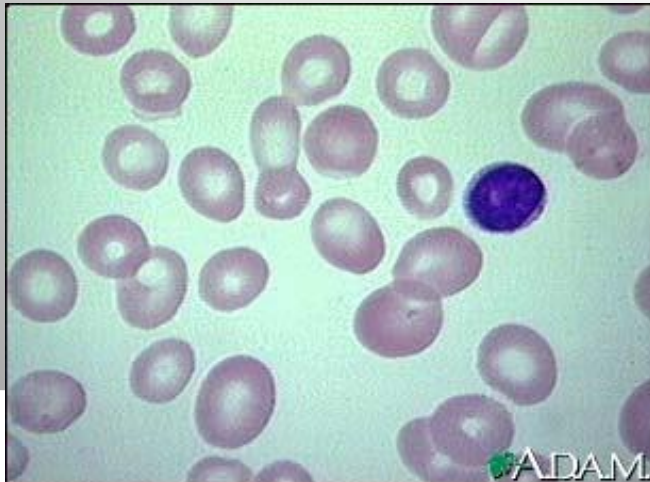
Hemoglobin (g/l)	<b>81,0</b>
Erytrocyty ( $10^{12}/l$ )	<b>1,7</b>
Hematokrit	<b>0,229</b>
Barevná koncentrace	<b>0,352</b>
Objem erytrocytu (fl)	<b>133,6</b> <b>(N: do 96 fl)</b>
Retikulocyty	<b>0,004</b>
Trombocyty ( $10^9/l$ )	<b>167,0</b>

Leukocyty ( $10^9/l$ )	<b>4,6</b>
Neutrofilní segment	<b>0,57</b>
Neutrofilní tyč	<b>0,02</b>
Eosinofilní segment	<b>0,03</b>
Basofilní segment	
Monocyt	<b>0,06</b>
Lymfocyt	<b>0,32</b>

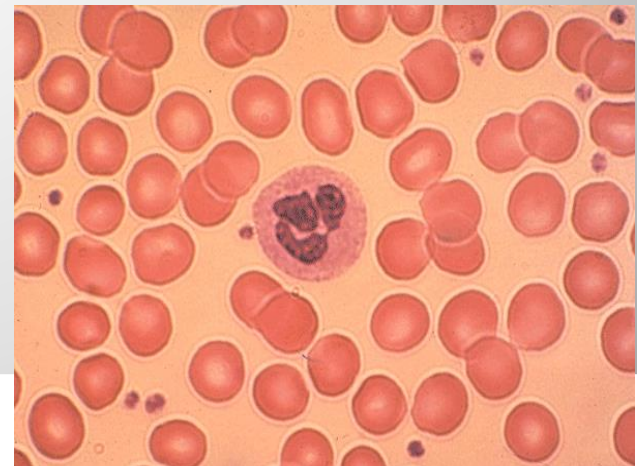
**pozn.: č.o. značná anisomakro-normo-ovalocytóza**  
**b.o. hypersegmentace jader neutrofilních segmentů**

# Makrocytová anémie perniciózní (zhoubná) - ? při avitaminóze B 12 kazuistika

makrocytová anémie



normální čko



# **Patologické stavy spojené s makrocytózou**

**Deficit kyseliny listové**

**Deficit vitamínu B 12**

**Nemoci jater**

**Chronický alkoholismus**

**Sideroblastická anémie**

**Selhání kostní dřeně**

**Hypothyreóza**

**Nádory**

**Hemolytická anémie**

**Léky (azathioprin, cyklofosfamid, zidovudin, hydroxyurea)**

**Myelodysplázie ( 5q syndrom)**

- **muž 67 let - přijat 6.1.2009 pro těžkou únavu, slabost, tachykardii s palpitacemi**
- **při přijetí velmi bledý + ikterický**
- **nechutenství, za 2 měsíce zhubnul 10 kg**
- **bez nočních potů, pruritu, febrilií**
- **obstipace (Guttalax), stolice světle hnědá, kašovitá, bez patol. příměsí (není melena ani krev)**
- **laboratorně: pancytopenie, výrazně makrocytová, hluboká anémie, vysoké LD**



## Krevní obraz:

**Leu: 1,9**, **Ery: 1,21**, **HB: 56**, **HTC: 0,161**, **MCV: 132,8**; MCH: 45,5; MCHC: 343; **RDW: 19,2**; **Plt: 43**  
rtc: 35 (5-25)

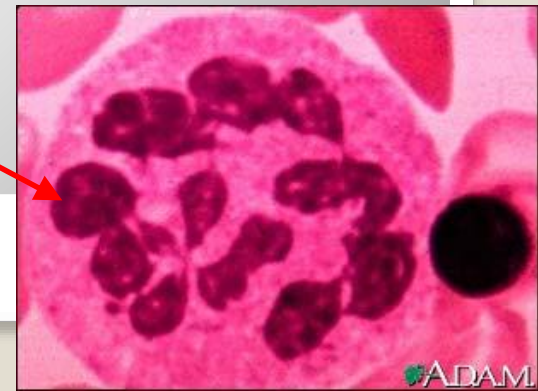
Dif.stroj. relativní: Ne:64,0; Ly:19,4, Mo:5,2, Eo:0,3, Ba: 0,1

Dif.stroj. absolutní Ne: 1,4, Ly: 0,4, Mo: 0,1, Eo: 0,0, Ba: 0;

Diferenciál manuální: SEG: 80, Ly: 16, Mo: 4, : poly,

**hemolýza, anisocytóza, makrocytóza, schistocyty,**

**hypersegmentace jader neutrofilů**



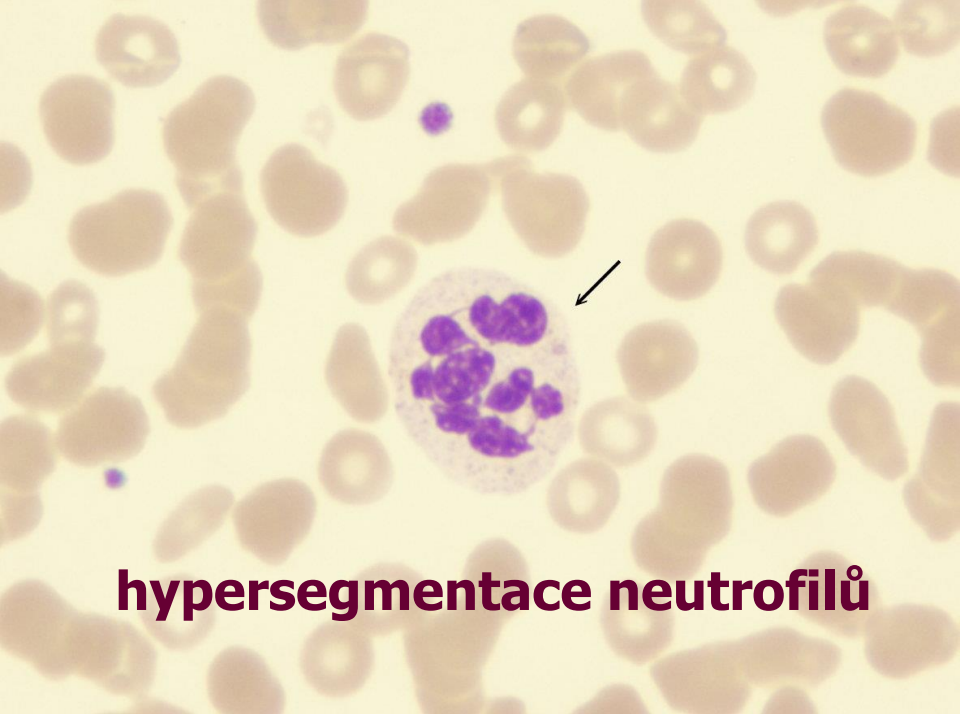
Jaterní testy: **Bili: 50,9, Bili př.: 7,4**, ALT: 0,61, AST: 1,13,  
GGT: 0,15, ALP: 0,82, Cholinesteráza: 64  
Enzymy:, LD: 49,30

**Transferrin: 1,58** ↘ **Ferritin: 520,4** ↗

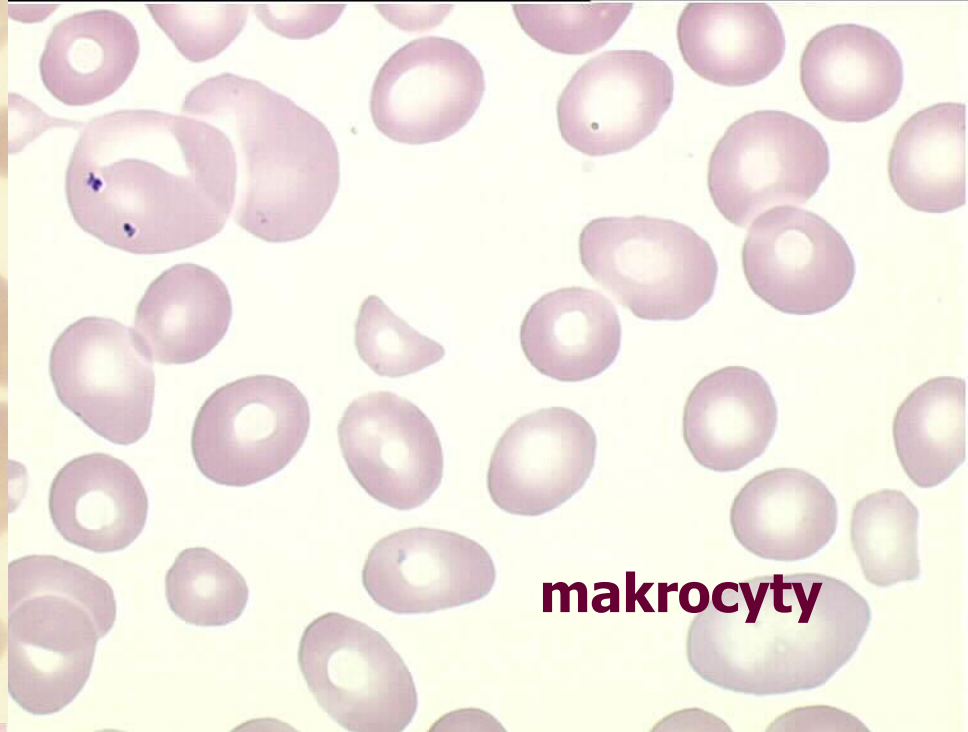
Sérum spec.vyšetření: **Vitamín B12: 54** ↘  
Aktivní B12 (Holo TC): 2

... doporučeno gastroscopické vyšetření k  
vyloučení tu žaludku, které ale pacient odmítá i  
přes podrobné poučení...

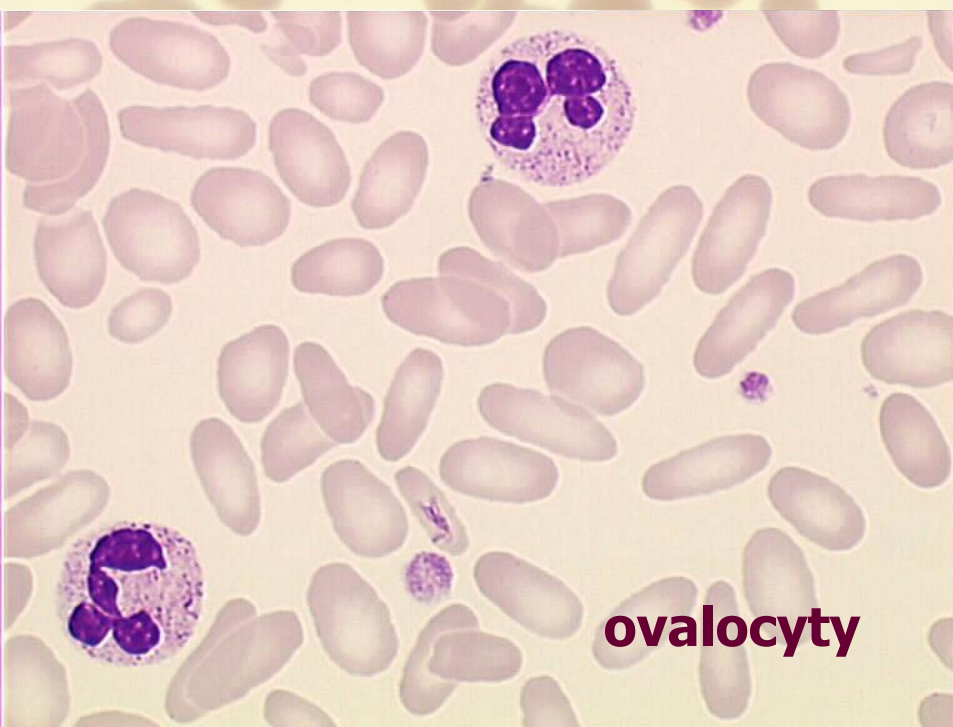
**atrofická gastritida = prekanceróza**



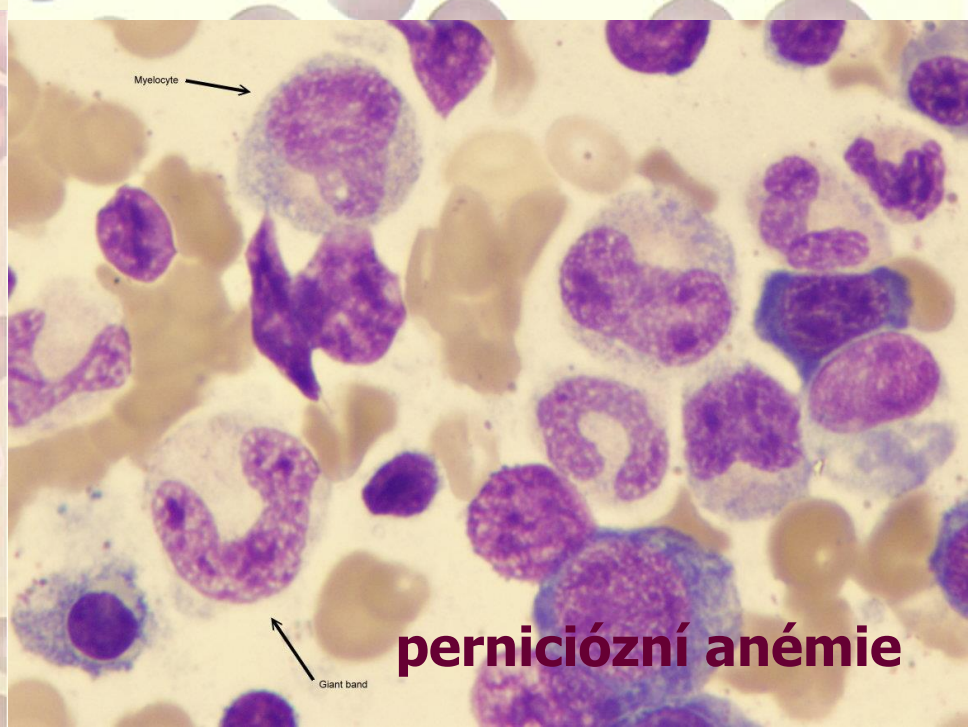
**hypersegmentace neutrofilů**



**makrocyty**



**ovalocyty**



**perniciózní anémie**

## **Vyšetřovací metody v hematologii / 6 ERY**

### **Hemolytické anémie = rozpad erytrocytů**

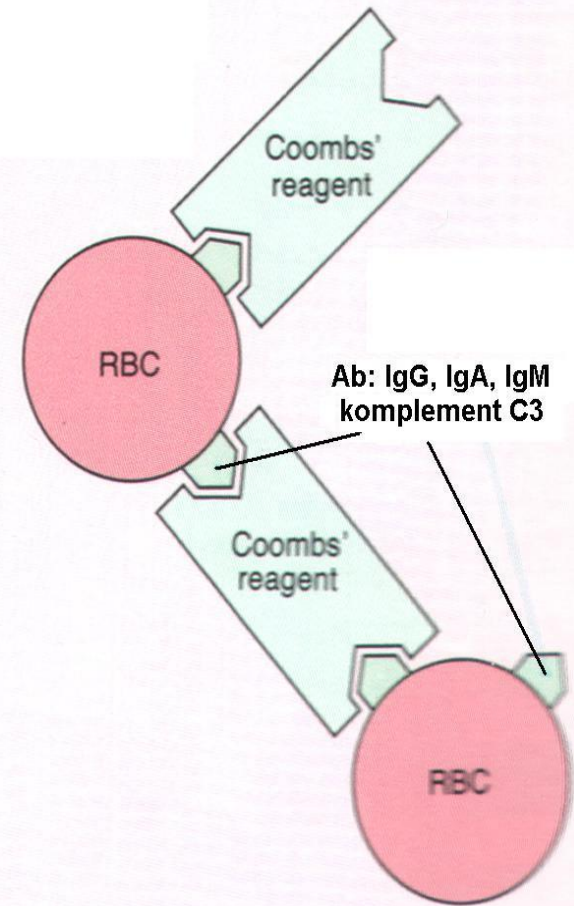
#### **Vyšetření protilátek proti ery:**

- **Přímý antiglobulinový test (PAT)  
(přímý Coombsův test)**
- **Nepřímý antiglobulinový test (NAT)  
(nepřímý Coombsův test)**
- **Další test: stanovení haptoglobinu**



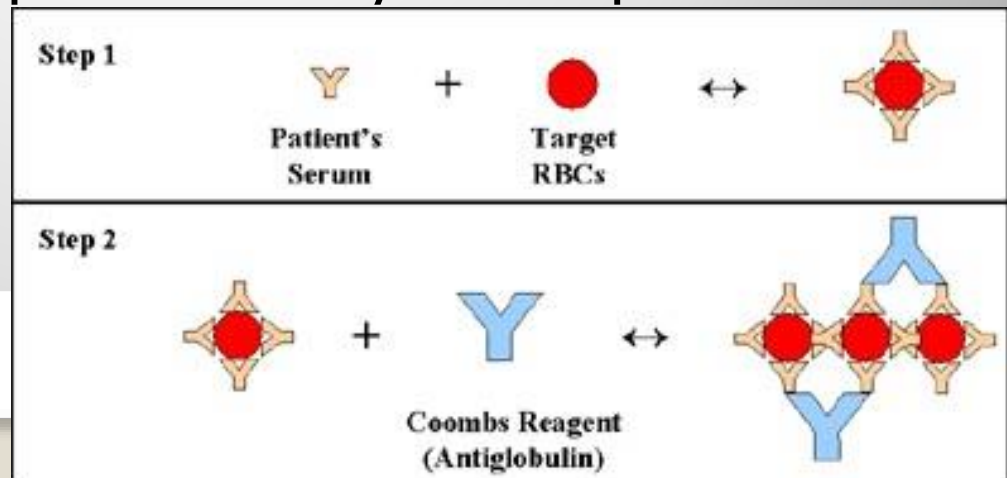
# Přímý antiglobulinový test - PAT

- PAT, přímý Coombsův test)
- 
- k průkazu autoantilát (IgG) navázaných na povrch erytrocytu.
- Sérum proti lidskému globulinu (SAG) nebo anti-C3 přidané do suspenze testovaných krvinek způsobí aglutinaci erytrocytů senzibilizovaných autoantikátkou navázanou na svém povrchu



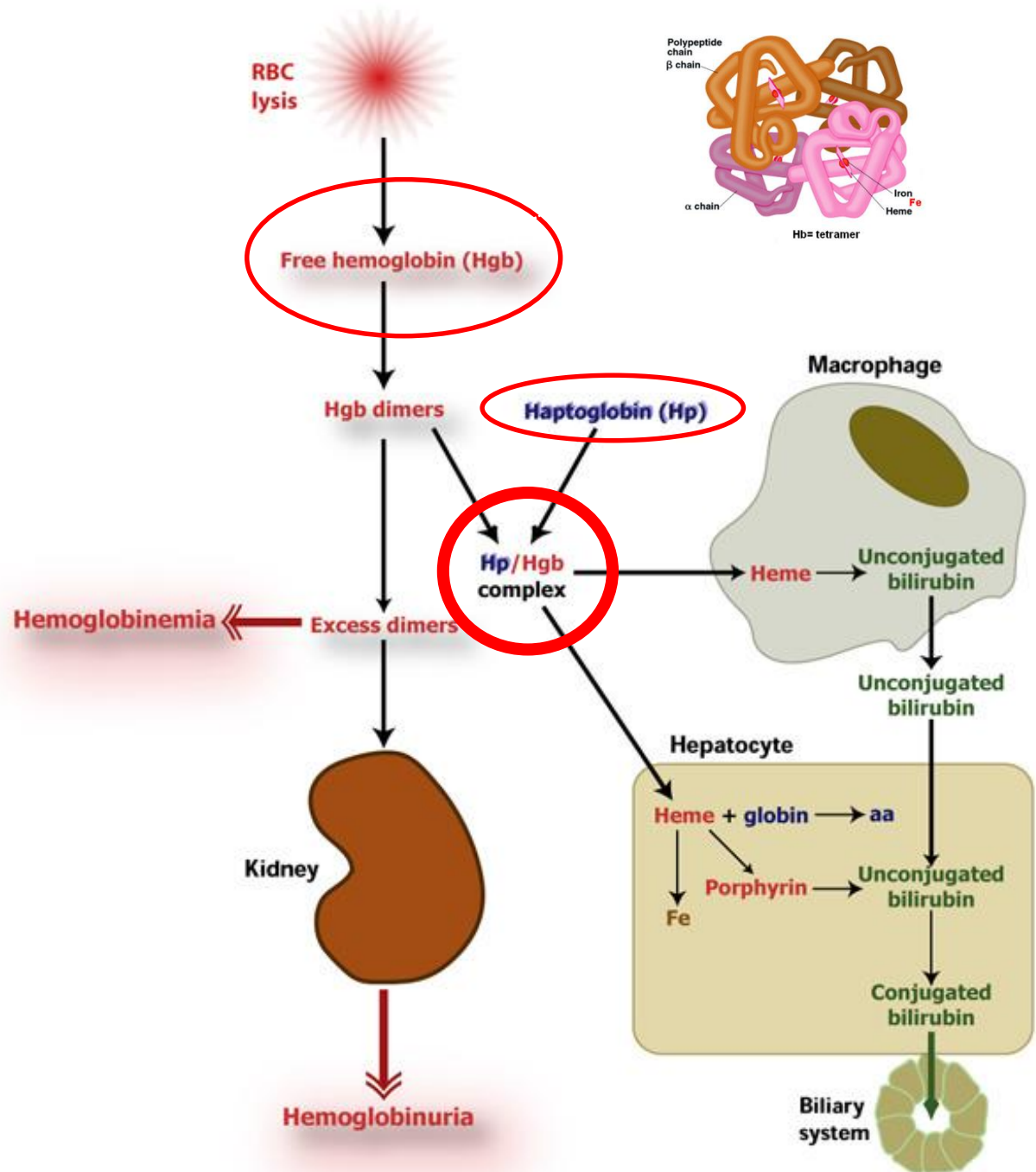
# Nepřímý antiglobulinový test - NAT

- **NAT, nepřímý Coombsův test**
- slouží k **průkazu volně cirkulujících** (na krvinky nenavázaných) autoprotilátek (IgG) v séru nemocného.
- **Kompatibilní krvinky zdravého jedince jsou inkubovány se sérem nemocného**, a volné protilátky se tak navážou na povrch těchto erytrocytů.
- Po vyprání volného séra a po přidání antihumánního globulinového séra (SAG) nebo anti-C3 do vzorku dojde k aglutinaci – k průkazu volných autoprotilátek.



# Hemolytická anémie – spotřeba haptoglobinu

haptoglobin v plasmě





# POLYCYTÉMIE = zvýšený počet ery

Hemoglobin (g/l)	<b>190,0</b>
Erytrocyty ( $10^{12}/l$ )	<b>6,01</b>
Hematokrit	<b>0,58</b>
Barevná koncentrace	<b>0,32</b>
Objem erytrocytu (fl)	<b>95,3</b>
Retikulocyty	<b>0,005</b>
Trombocyty ( $10^9/l$ )	<b>628,0</b>

Leukocyty ( $10^9/l$ )	<b>11,5</b>
Neutrofilní segment	<b>0,62</b>
Neutrofilní tyč	<b>0,03</b>
Eosinofilní segment	
Basofilní segment	
Monocyt	<b>0,06</b>
Lymfocyt	<b>0,29</b>

pozn.: FW 0 za 1 hod

# Vyšetřovací metody v hematologii /7

## bílý krevní obraz - Leu

- **Leukocyty**
  - Granulocyty
    - neutrofilní
    - esinofilní
    - basofilní
  - Agranulocyty
    - lymfocyty
    - Monocyty

# Vyšetřovací metody v hematologii / 7

## Bílý krevní obraz - Leu

### Počet leukocytů (White Blood Cells – WBC)

- v jednom litru krve

**fyzilogické hodnoty dospělí: 4,4 – 10,0 . 10<sup>9</sup>/l**

### Diferenciální rozpočet bílých krvinek „diferenciál“

- zastoupení jednotlivých typů bílých krvinek v periferní krvi

**diferenciál:**

<b>granulocyty</b> –	neutrofilní
	basofilní
	eosinofilní
<b>monocyty</b>	
<b>lymfocyty</b>	

- mikroskopické hodnocení obarveného nátěru periferní krve:  
morfologie leukocytů, erytrocytů i trombocytů.

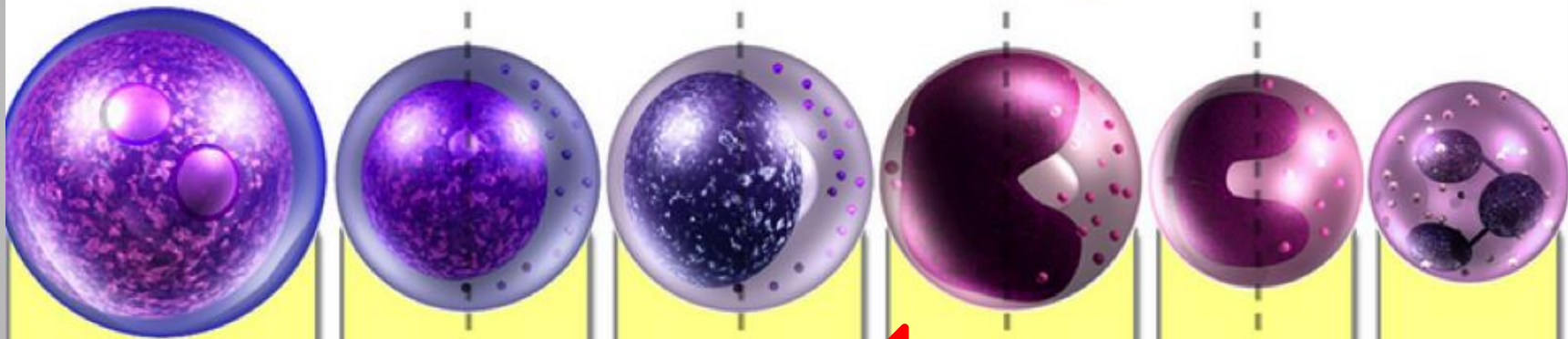
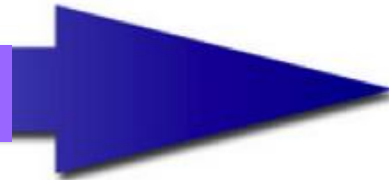
# **NÁLEZY V BÍLÉM KREVNÍM OBRAZE**

# NORMÁLNÍ HODNOTY DIFERENCIÁLNÍHO KREVNÍHO OBRAZU

Leukocyty ( $10^9/l$ )	<b>3,6 – 9,6</b>
Neutrofilní segment	<b>0,50 – 0,75</b>
Neutrofilní tyč	<b>0,01 – 0,05</b>
Eosinofilní segment	<b>0,0 – 0,04</b>
Basofilní segment	<b>0,0 – 0,01</b>
Monocyt	<b>0,03 – 0,10</b>
Lymfocyt	<b>0,20 – 0,40</b>

# REAKTIVNÍ ZMĚNY V DIFERENCIÁLNÍM KREVNÍM OBRAZE

Vyzrívání granulocytů



Myeloblast

Promyelocyt

Myelocyt

Metamyelocyt

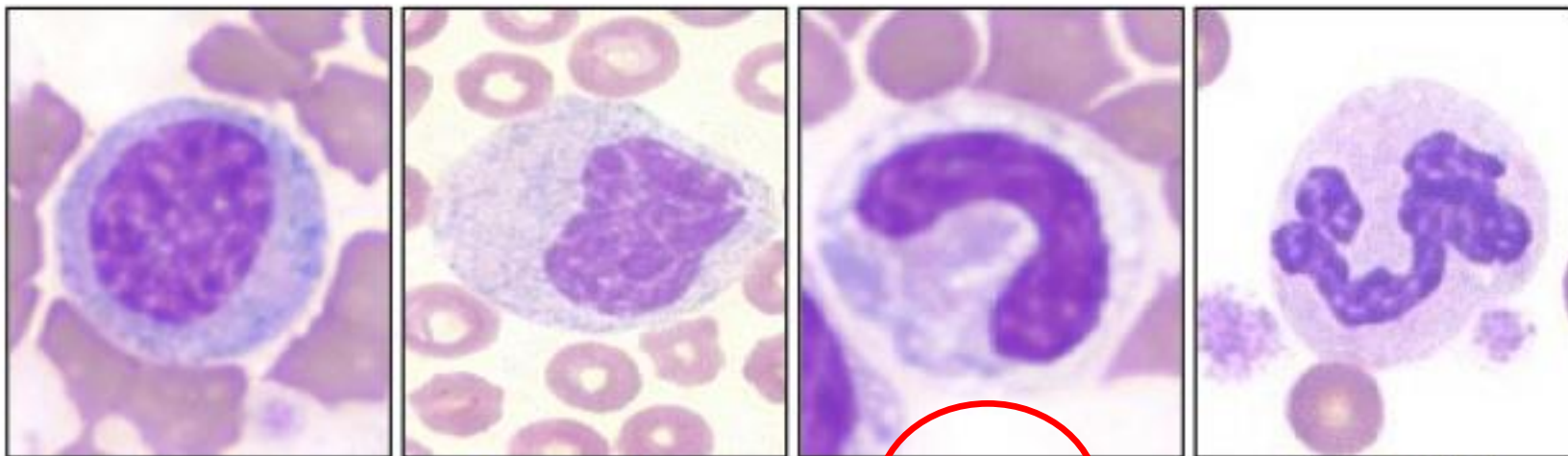
Neutrofilní  
tyčka

Neutrofilní  
segment

Posun doleva



# REAKTIVNÍ ZMĚNY V DIFERENCIÁLNÍM KREVNÍM OBRAZE



Myelocyte

Metamyelocyte

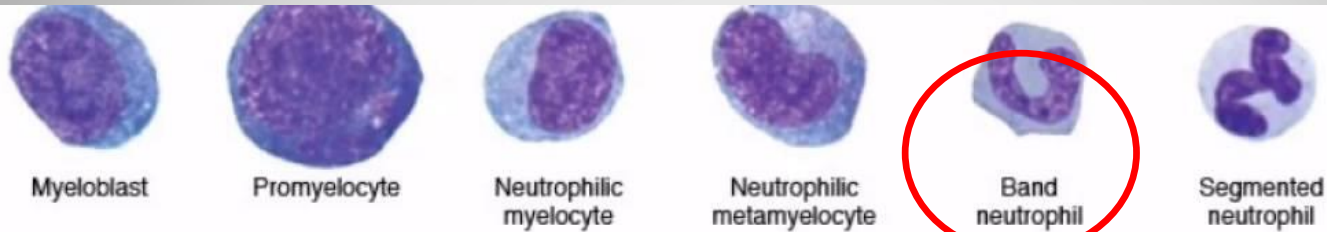
tyčka

Segmented  
neutrophil

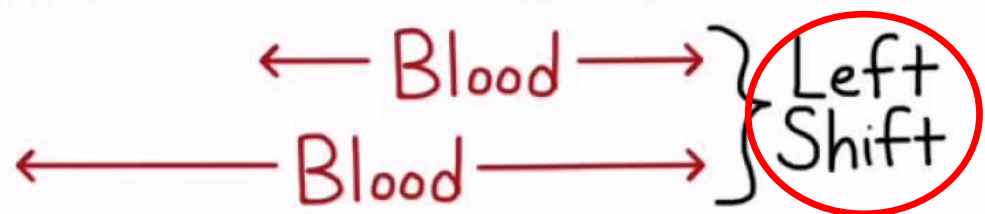
**Posun doleva**

**posun doleva = reakce na bakteriální infekci**





← Bone Marrow → Blood Normal



### ① Degenerative

- &/or {
- \* Immature > Seg. Neuts.
  - \* ↓ Seg. Neuts. + Left shift
  - Severe/Overwhelming inf.
  - Sepsis, severe infection
  - P<sub>r</sub>

### ② Regenerative

**= posun doleva =  
reakce na  
bakteriální infekci**

# REAKTIVNÍ ZMĚNY V DIFERENCIÁLNÍM KREVNÍM OBRAZE

Posun doleva vyplavení mladších forem neutrofilních leukocytů - tyčky, MC a MMC



Leukemoidní reakce: posun doleva až k myeloblastům

# **REAKTIVNÍ ZMĚNY V DIFERENCIÁLNÍM KREVNÍM OBRAZE**

**lymfocytóza / polyklonální / virové infekce**

**monocytóza – virové infekce**

**eosinofilie – alergické onem., parazitární onem.**

.

## Příklady změn v bílé řadě

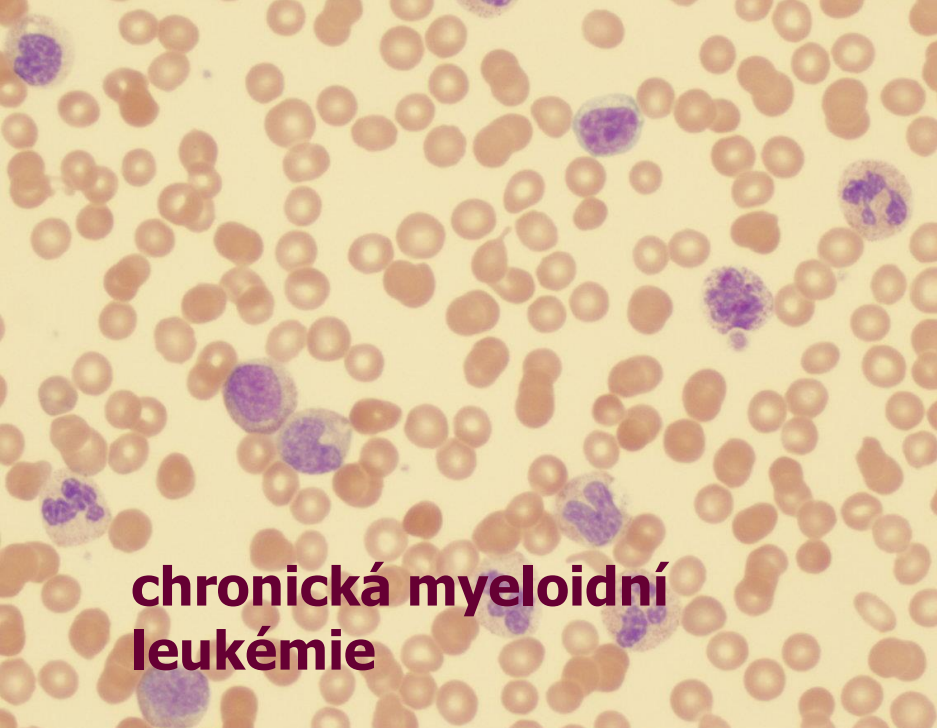
Hemoglobin (g/l)	<b>136</b>
Erytrocyty ( $10^{12}/l$ )	<b>4,42</b>
Barevná koncentrace	<b>0,35</b>
Hematokrit	<b>0,39</b>
Objem erytrocytu (fl)	<b>88</b>
Retikulocyty	<b>0,003</b>
Trombocyty ( $10^9/l$ )	<b>654,0</b>

### Chronická myeloidní leukemie

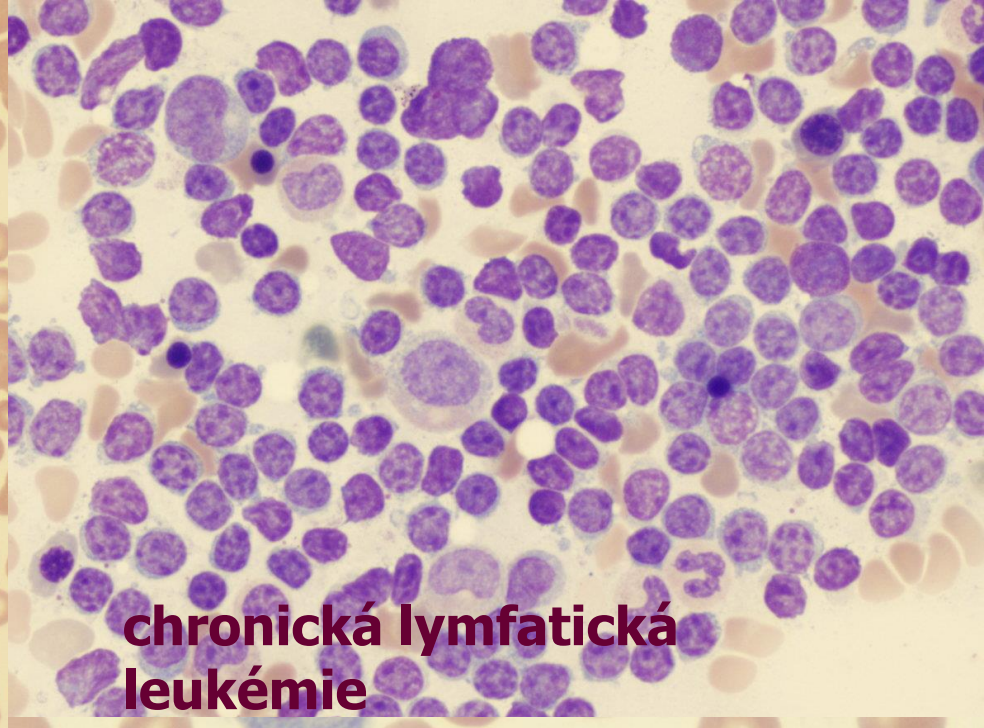
ČO: mírná anisocytóza  
alkalická fosfáza v leuko: 0

Leukocyty ( $10^9/l$ )	<b>234,0</b>
Neutrofilní segment	<b>0,17</b>
Neutrofilní tyč	<b>0,23</b>
Myeloblast	<b>0,02</b>
Promyelocyt	<b>0,04</b>
Neutrofilní myelocyt	<b>0,28</b>
Neutrofilní metamyelocyt	<b>0,14</b>
Eosinofilní segment	<b>0,03</b>
Basofilní segment	<b>0,06</b>
Monocyt	<b>0,02</b>
Lymfocyt	<b>0,01</b>





**chronická myeloidní  
leukémie**



**chronická lymfatická  
leukémie**



**Gumprechtovy stíny**



**vlasatobuněčná leukémie**

## Příklady změn v bílé řadě

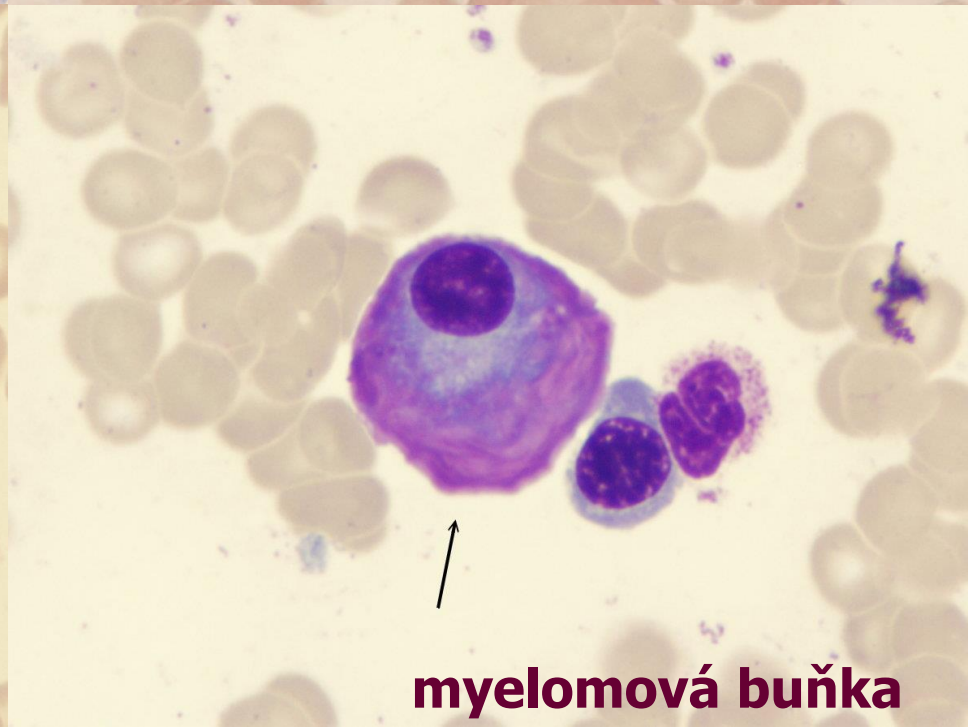
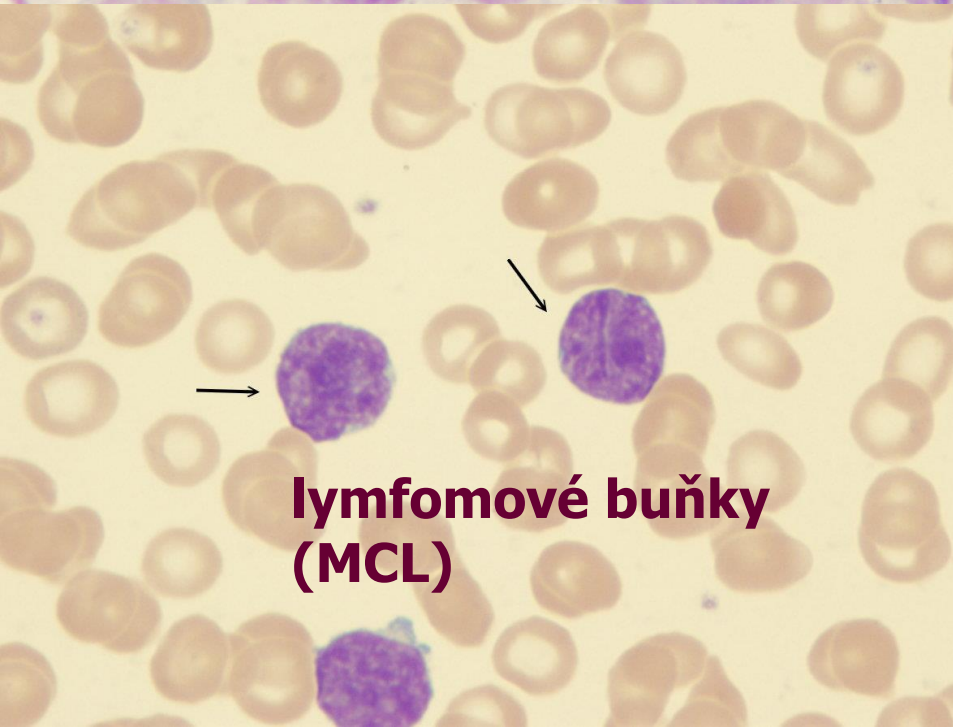
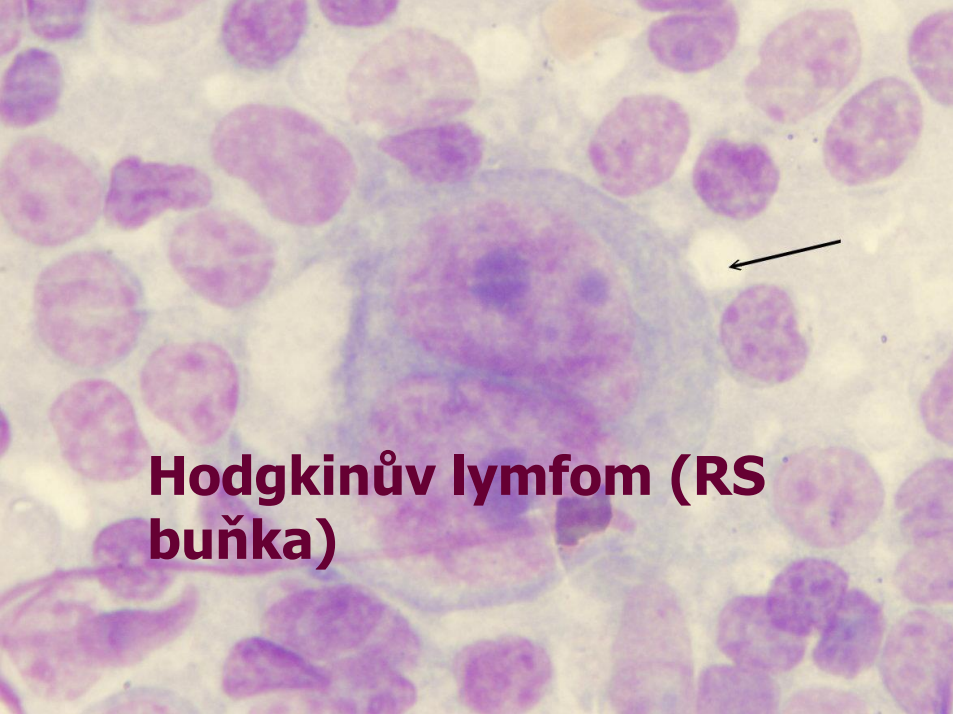
Hemoglobin (g/l)	<b>109,0</b>
Erytrocyty ( $10^{12}/l$ )	<b>3,95</b>
Hematokrit	<b>0,34</b>
Barevná koncentrace	<b>0,32</b>
Objem erytrocytu (fl)	<b>86,0</b>
Retikulocyty	<b>0,005</b>
Trombocyty ( $10^9/l$ )	<b>152,0</b>

Leukocyty ( $10^9/l$ )	<b>129,0</b>
Neutrofilní segment	<b>0,03</b>
Neutrofilní tyč	
Eosinofilní segment	
Basofilní segment	
Monocyt	<b>0,01</b>
Lymfocyt	<b>0,96</b>

**Chronická lymfocytární leukemie**

pozn.: Gumprechtovy stíny **23/100**

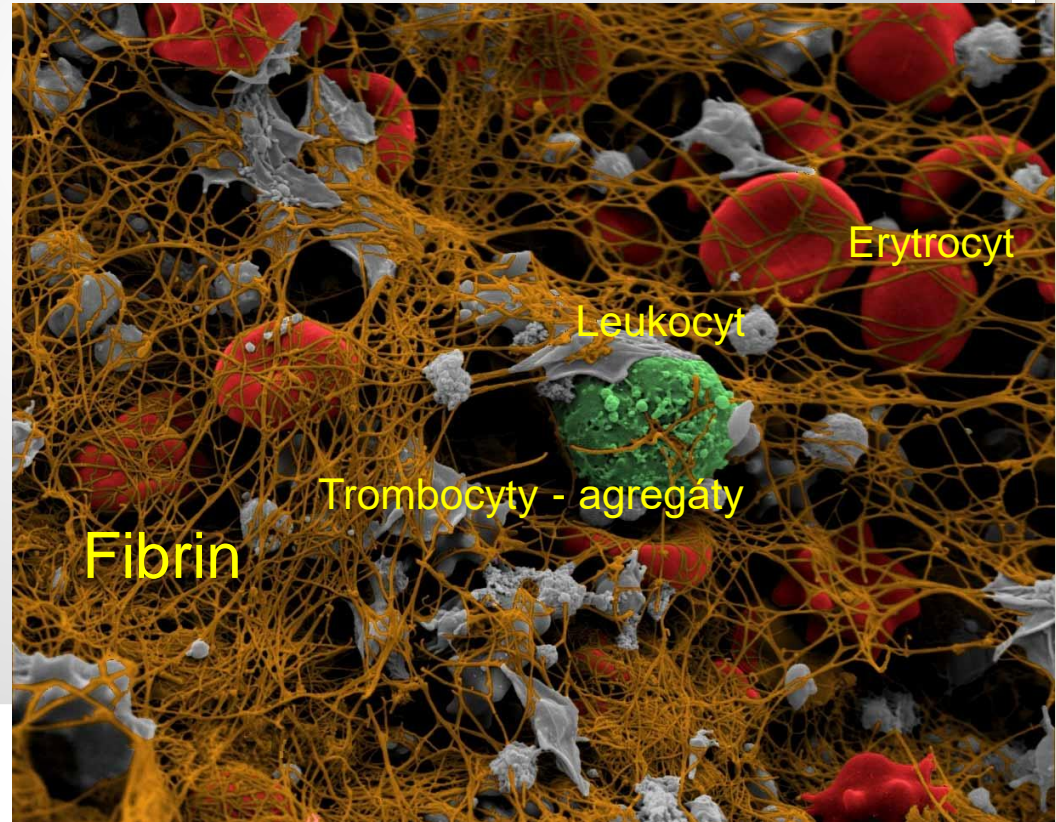
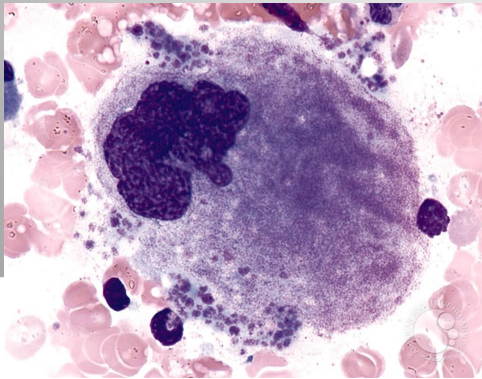




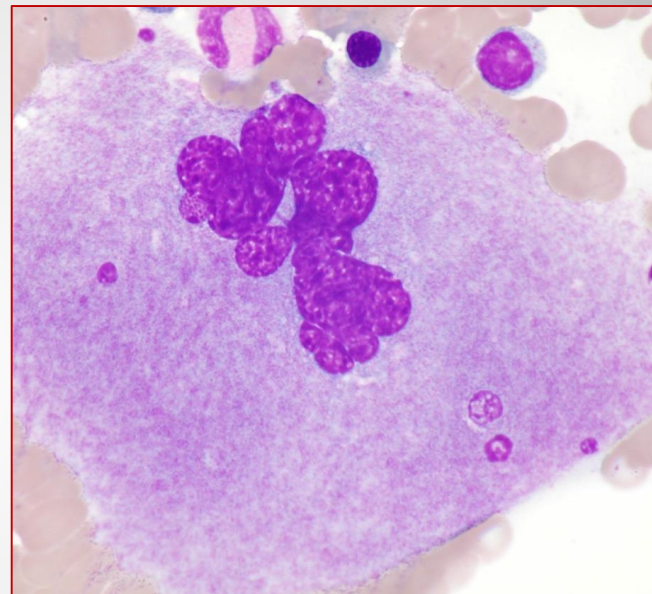
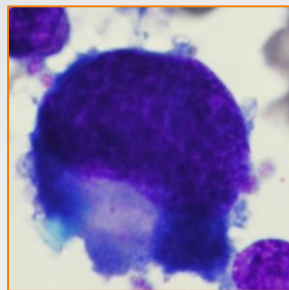
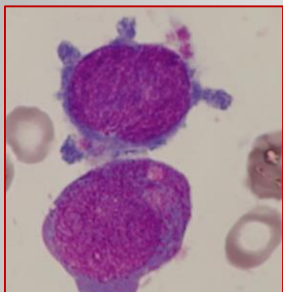


# Složení a funkce krve: **trombocyty** destičky

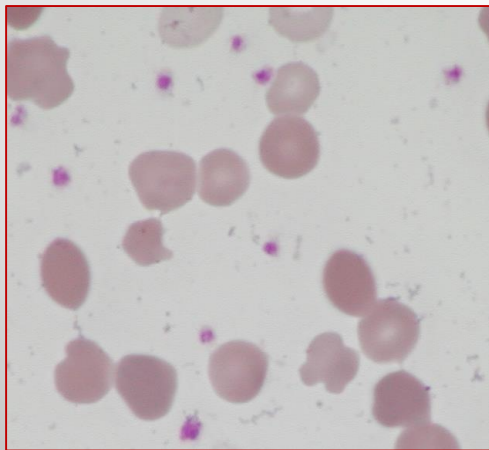
- nejmenší z pevných součástí krve
- zásadní postavení ve srážení krve
- účastní se na vzniku trombóz a embolií
- nejsou buňkami, pouze fragmenty cytoplasmy obrovských buněk, megakaryocytů (mgc).
- mgc jsou v kostní dřeni



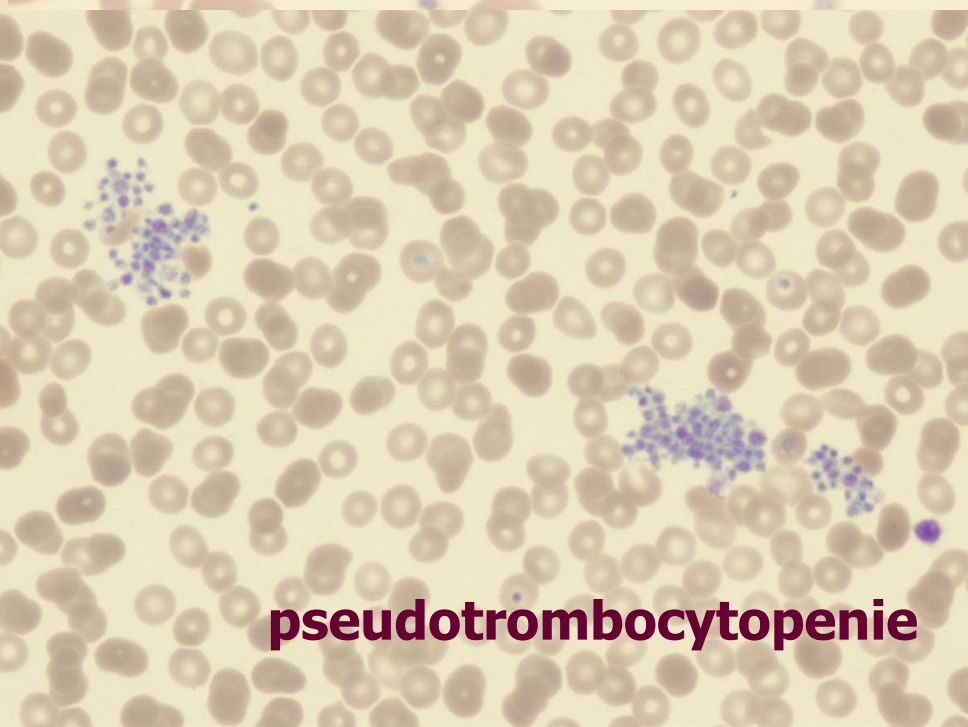
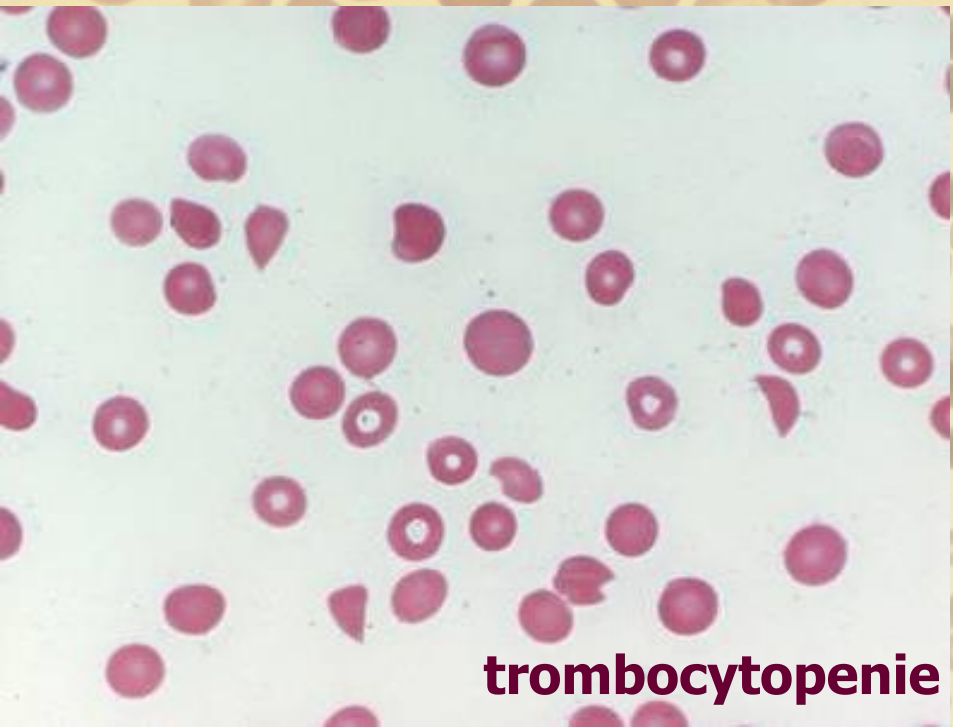
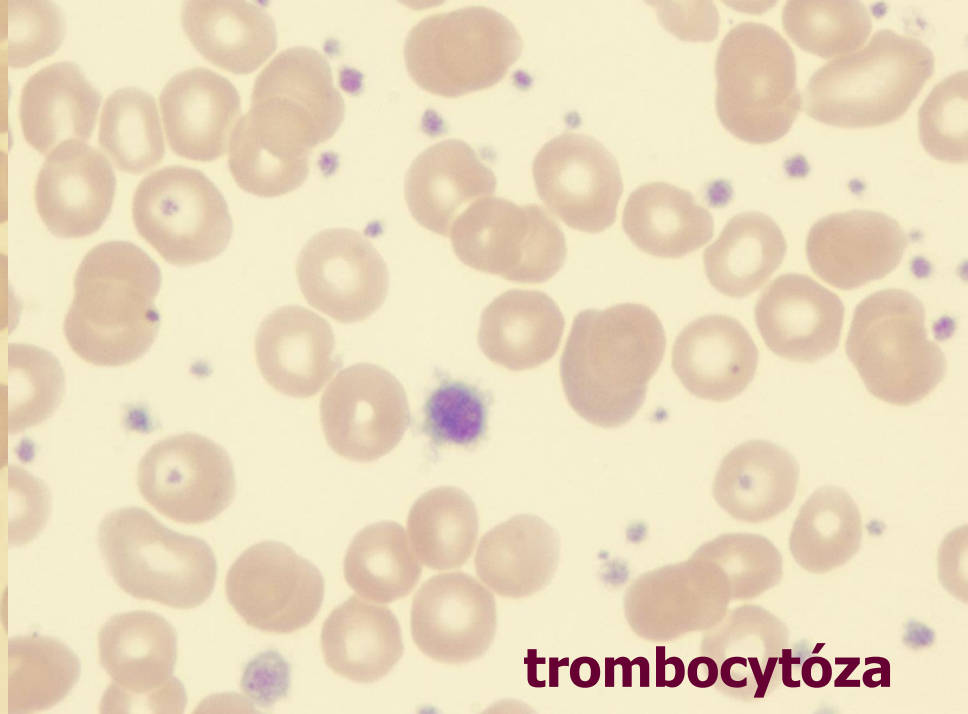
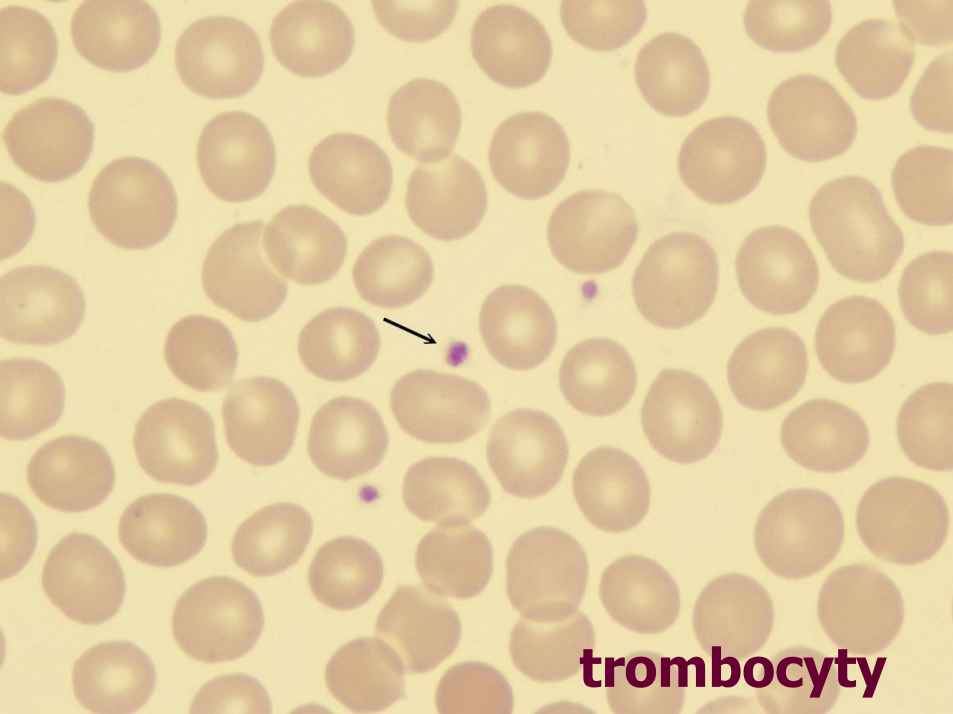
megakaryoblast → promegakaryocyt → megakaryocyt



trombocyty







# Ad 2/ Vyšetření kostní dřeně

## Odběr vzorku kostní dřeně

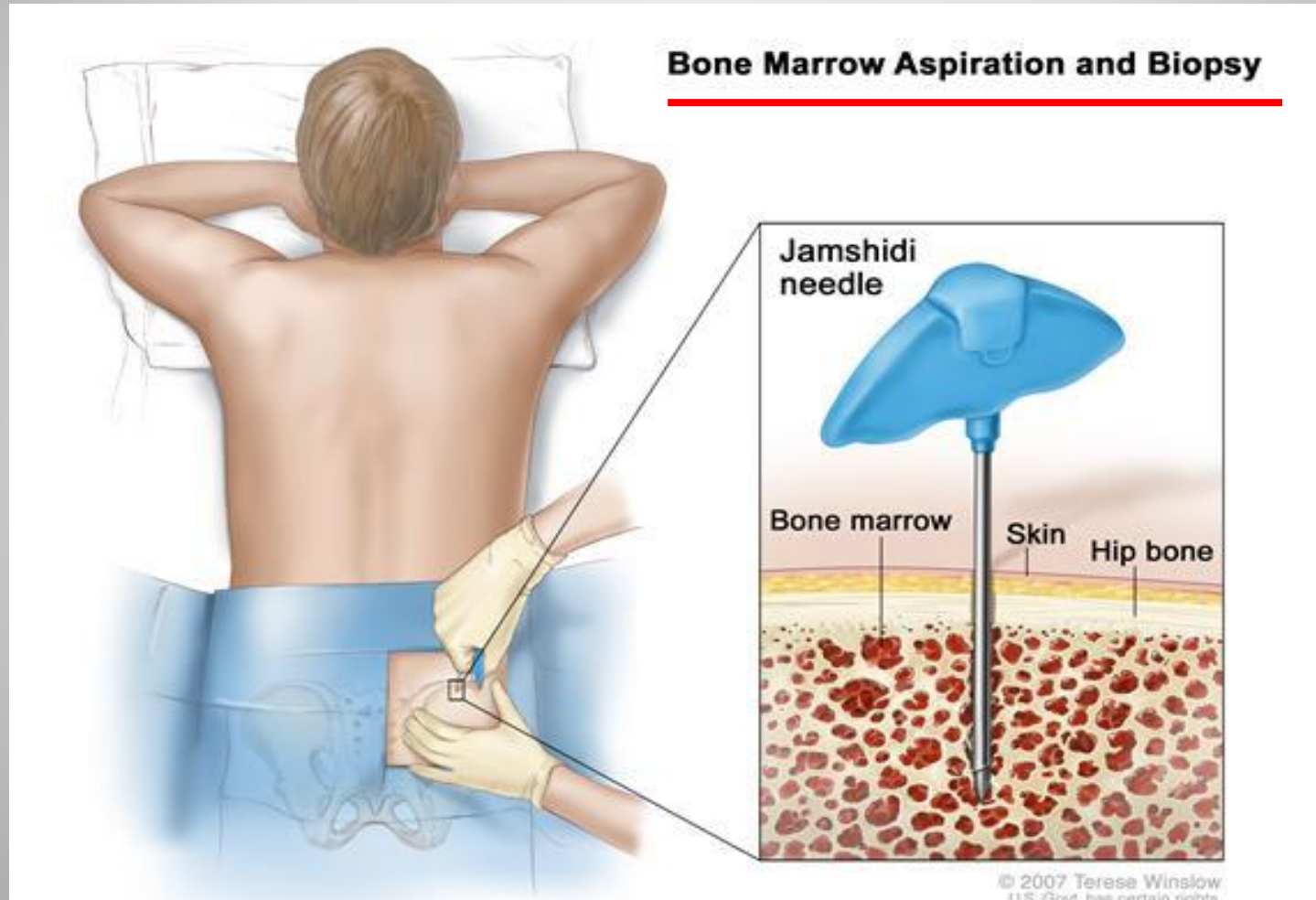
**a/ Trepanobiopsie - histologické vyšetření**

**b/ Aspirační punkce - cytologické vyšetření**

**1/ při trepanobiopsii**

**2/ aspirace ze sternální kosti**

- a/ Trepanobiopsie - histologické vyšetření kostní dřeně**  
**b/ Aspirační punkce kostní dřeně - cytologické vyšetření**



## Ad 2/ Vyšetření kostní dřeně

**a/ Trepanobiopsie**

- histologické vyšetření

**b/ Aspirační punkce**

- cytologické vyšetření

**b/1 při  
trepanobiopsii**

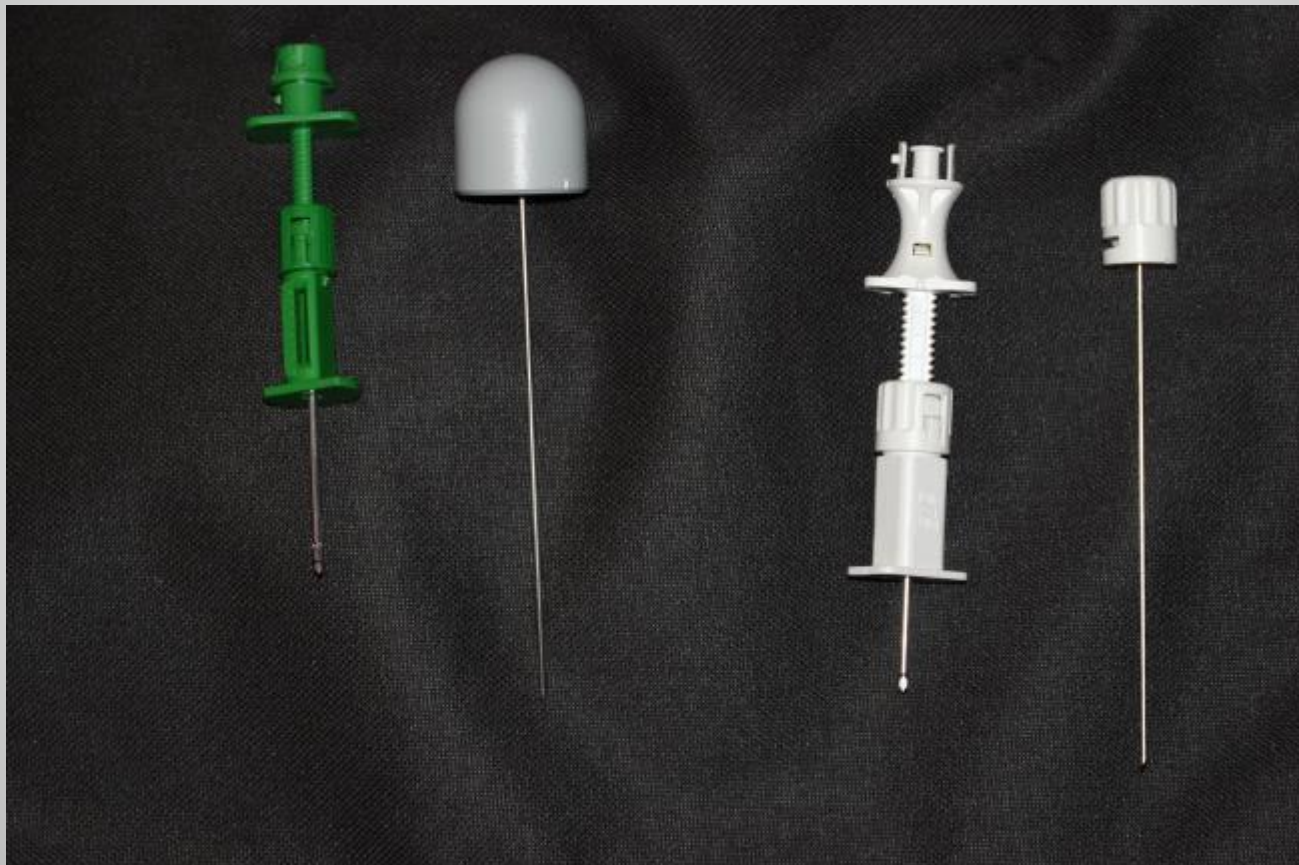


**b/2 aspirace ze  
sternální kosti**





# Punkční a sternální jehla



# Trepanobioptické jehly



# ad 3/ Speciální vyšetření

- **3/ Speciální vyšetření**
  - cytochemické vyšetření krevních buněk
  - **cytogenetické** vyšetření buněk kostní dřeně
  - **molekulárně biologické (cytogenetické)** vyšetření buněk kostní dřeně a nádorové tkáně
  - **imunofenotypizace (FACS)**
  - **kultivace hematopoetických buněk *in vitro***

# Cytochemické vyšetřovací metody

– **pomocí barevných reakcí** prokazují přítomnost některých substancí, nebo enzymů, a tím umožní prokázat příslušnost krevních elementů k určité vývojové řadě.

Například:

Reakce na **železo** - lze prokázat přítomnost železa v erytrocytech nebo erytroblastech.

**Alkalická fosfatáza v leukocytech** – přítomna v plazmě zralých neutrofilních leukocytů.

**Kyselá nespecifická esteráza** - u lymfocytů reakce tečkovitá, u monocytů difuzní

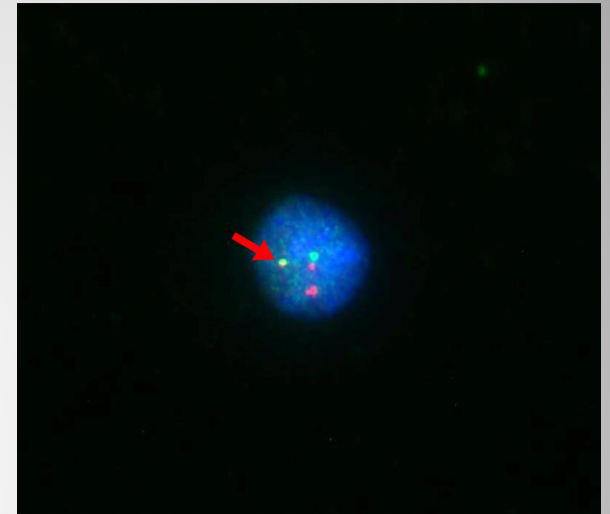
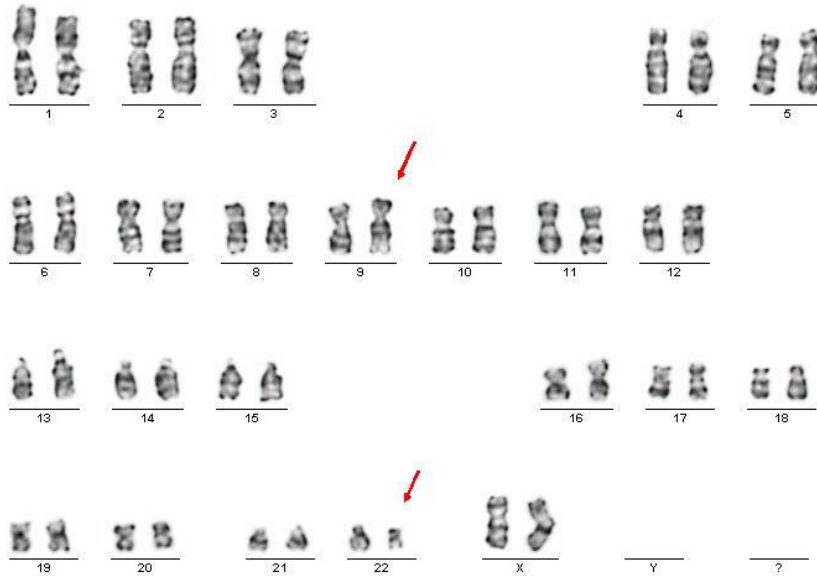
**PAS (Periodic Acid Schiff)** – identifikace lymfoblastické populace, pozitivní i v erytroblastech erytroleukémií.

# Cytogenetické / molekulárně biologické metody

- **cytogenetické metody** – průkaz translokací genů
- U hematologických onemocnění je nálezný klon s patologickým karyotypem důkazem probíhajícího maligního procesu - např. **Philadelphia chromosom** u chronické myeloidní leukemie.
- Při opakovaných vyšetřeních v průběhu léčby leukémií umožní výsledek cytogenetického vyšetření
  - posoudit úspěšnost léčby
  - potvrdit remisi choroby
  - nebo odhalit blížící se relaps onemocnění
  - u pacientů po transplantaci kostní dřeně se pomocí cytogenetických metod sleduje úspěšnost léčby.

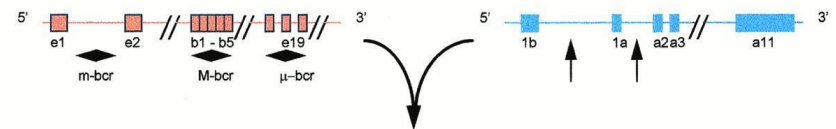
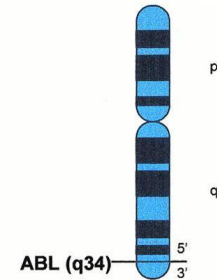
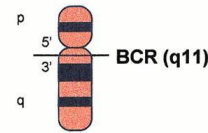


# Philadelphia chromosom



Chromozóm 22

Chromozóm 9





# Imunologické markery

- Slouží k přesné diagnostice typu zhoubných krevních chorob
- CD (Cluster of Differentiation) klasifikační systém
- pomocí **průtokové cytometrie** jsou určovány populace lymfocytů (T a B)
- jsou stanovovány antigeny, jejichž kombinace jsou typické pro různé typy leukocytů a různá stádia zralosti
- např. CD3 - T lymfocyty
- CD19, CD20, CD21, CD22 - **B lymfocyty**.

## Onkologické markery

- význam pro sledování a prognózu nádorového onemocnění např.
- **Beta2 – mikroglobulin** – používá se pro monitorování pacientů s mnohočetným myelomem a nádory lymfatického systému
- **LD**
- **Ferritin** – signifikantní pro lymfomy a leukémie

# 4/ Koagulační vyšetření

## Hemokoagulační testy

### A. Globální, skupinové, vyhledávací:

1. parciální tromboplastinový čas (PTT), resp. **aPTT**,
2. tromboplastinový test – Quickův test (**INR**),
3. trombinový čas (TT),
4. konzumpční protrombinový test,
5. retrakce koagula.

### B. Specifické:

1. izolované určení faktorů (I, II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII),
2. tromboplastinový generační test,
3. určení antitrombinu III.

# 4/ Koagulační vyšetření - základní

## Hemokoagulační testy

### A. Globální, skupinové, vyhledávací:

1. parciální tromboplastinový čas (PTT), resp. **aPTT**
2. tromboplastinový test – **Quickův test (INR)**

# Koagulační vyšetření

## aPTT

**Postavení testu:** používá se rutinně, standardně při předoperačním vyšetření, při kontrole léčby heparinem, dává se mu přednost před TT

aPTT je závislý především na činitelích počátečních období koagulace – na faktorech XII, XI, IX, VIII a teprve ve druhé řadě jsou zachyceny faktory X, V, II, I.

### **Prodloužení:**

- hemofilie A, B (nedostatek faktorů VIII, IX), vzácně XII, XI,
- DIC, hyperfibrinolýza (= konzumpce faktorů),
- získaný (většinou přechodný) nedostatek f. VIII při masivní krevní transfuzi, po PNC,
- nedostatek faktorů I, II, V, X,
- inhibitory krevního srážení = heparin,
- fyziologicky u kojenců

# Koagulační vyšetření

## Prodloužení Quickova testu (INR):

- Význam spočívá zejména v **kontrole léčby dikumariny** (warfarin), kdy se hodnoty udržují podle základní indikace:
  - **profylaxe (riziko trombózy, operace):** INR = 1,5 až 2,5; (při nižších hodnotách INR (mezi 1,5–2,0) se uplatňuje spíše antitrombotický než antikoagulační efekt warfarinu);
  - **terapie trombózy, profylaxe (ortopedické) operace:** INR=2,0-3,0
- recidivující trombózy a embolie: INR = 3,0–4,0;
- nedostatek a chybění faktorů II, VII, X, V;
- při poškození jaterního parenchymu;
- DIC v přítomnosti štěpných produktů fibrinogen//fibrin (= FDP);
- trombolytická léčba;
- při léčbě heparinem, je-li koncentrace vyšší než 1 IU/1 ml plazmy



