

Základní hematologická vyšetření

Ústav patologické fyziologie
1.LF UK

Co vyšetřujeme?

1. Krev
2. Kostní dřeň
 - aspirační punkce (sternální punkce)
 - trepano-biopsie (z lopaty kyčelní kosti)
3. Lymfatické uzliny - extirpace

Přehled metod

1. **Sedimentace erytrocytů (zkratka FW – Fahraeus Westergren)**
2. **Krevní obraz**
3. **Koagulace**
4. Cytochemie
5. Vyšetření metabolismu Fe
6. Vyšetření metabolismu hemoglobinu
7. Immunologie
8. Průtoková cytometrie
9. Cytogenetika a molekulární biologie

Sedimentace erytrocytů (FW)

- Rychlost sedimentace závisí na **tvorbě agregátů erytrocytů – penízkovatění** (suspensní stabilitě)



- **Zrychlení** – fibrinogen, imunoglobuliny, CRP a jiné proteiny akutní fáze, anémie
- **Zpomalení** – albumin, polycytémie
- Metoda Fahreus-Westergren (**FW**)
- **Norma:** 2-5 mm/h u mužů
3-8 mm/h u žen (↓ ery, ↑ fibrinogen)
- Nespecifické vyšetření – screening, sledování průběhu (dynamiky) nemoci

Krevní obraz (KO)

kvantitativní vyšetření

- Hemoglobin (HGB)
- Hematokrit (HCT)
- Počet erytrocytů (RBC)
- Objem RBC (MCV)
- Množství HGB v RBC (MCH)
- Koncentrace HGB v RBC (MCHC)
- Distribuční šíře RBC (RDW)
- Retikulocyty (ret)

- Počet trombocytů (PLT)
- Distribuční šíře PLT (PDW)
- Objem PLT (MPV)
- Počet leukocytů (WBC)
- Diferenciální rozpočet WBC
 - segmenty a tyče
 - eozinofily
 - bazofily
 - monocyty
 - lymfocyty

kvalitativní vyšetření

mikroskopické a makroskopické parametry

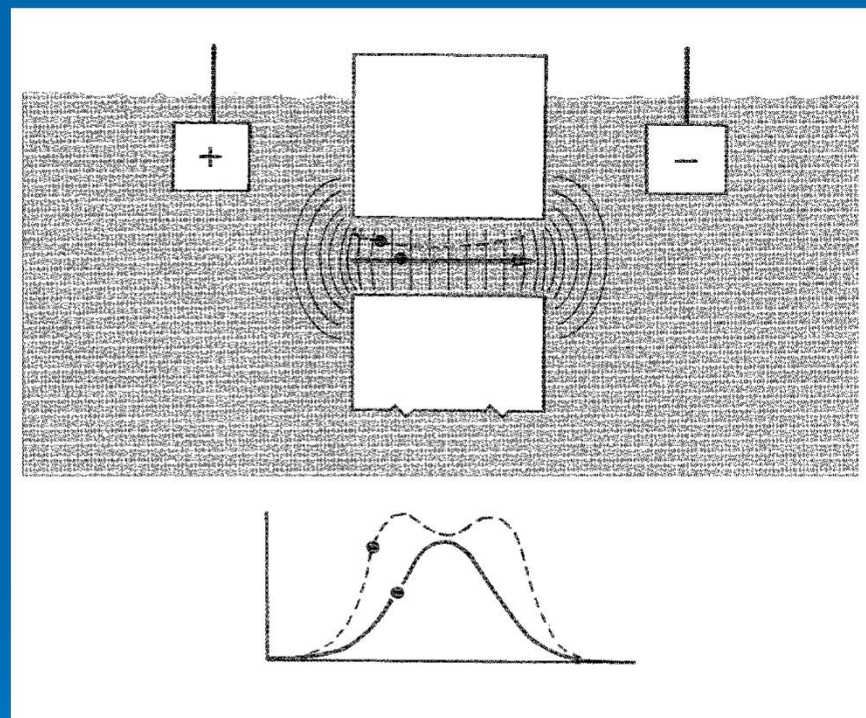
➤ Automatické stanovení hematologickými analyzátory



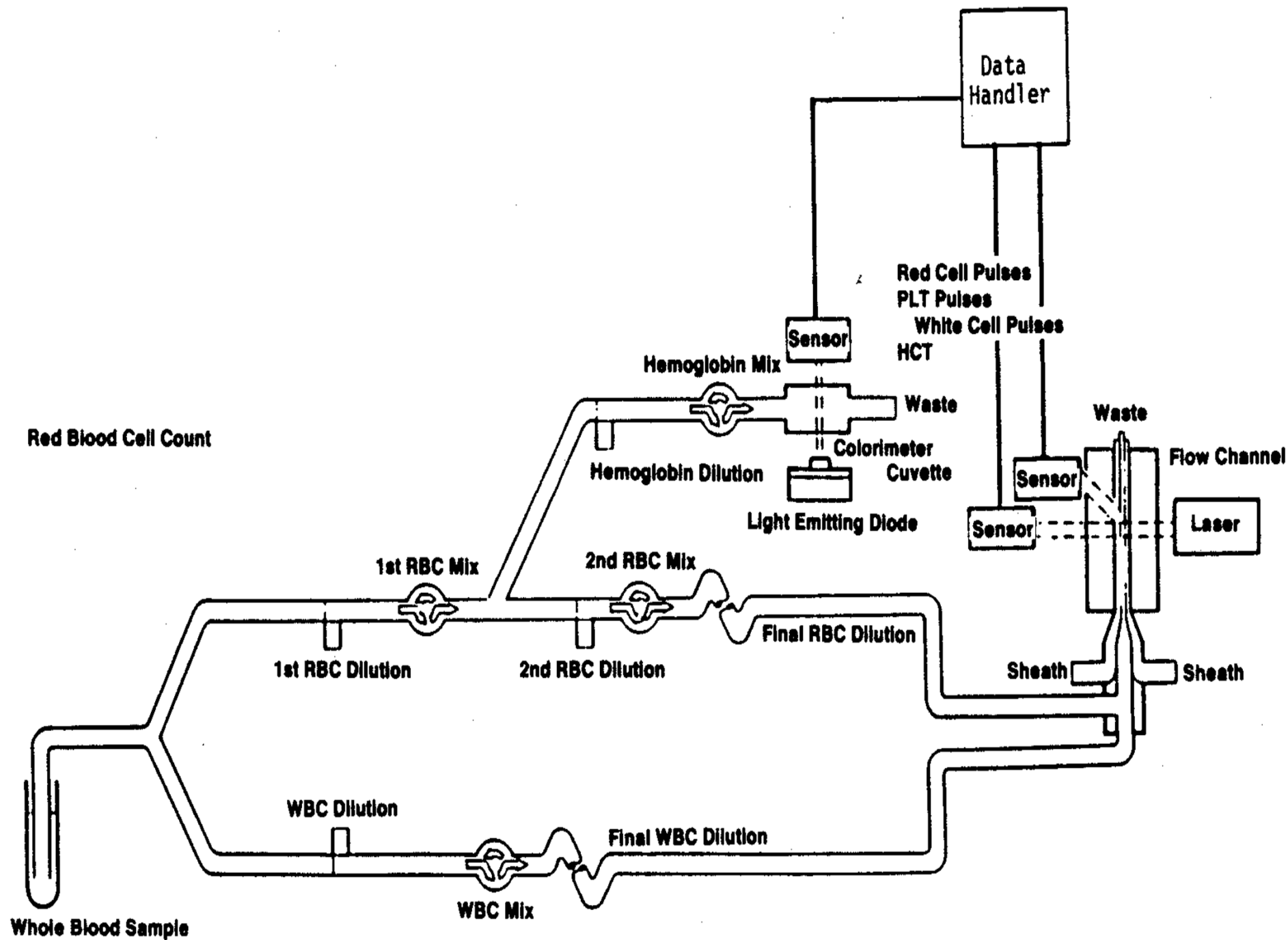
Jak funguje analyzátor ?

- **impedanční** – při průchodu částice mezi elektrodami vzroste impedance

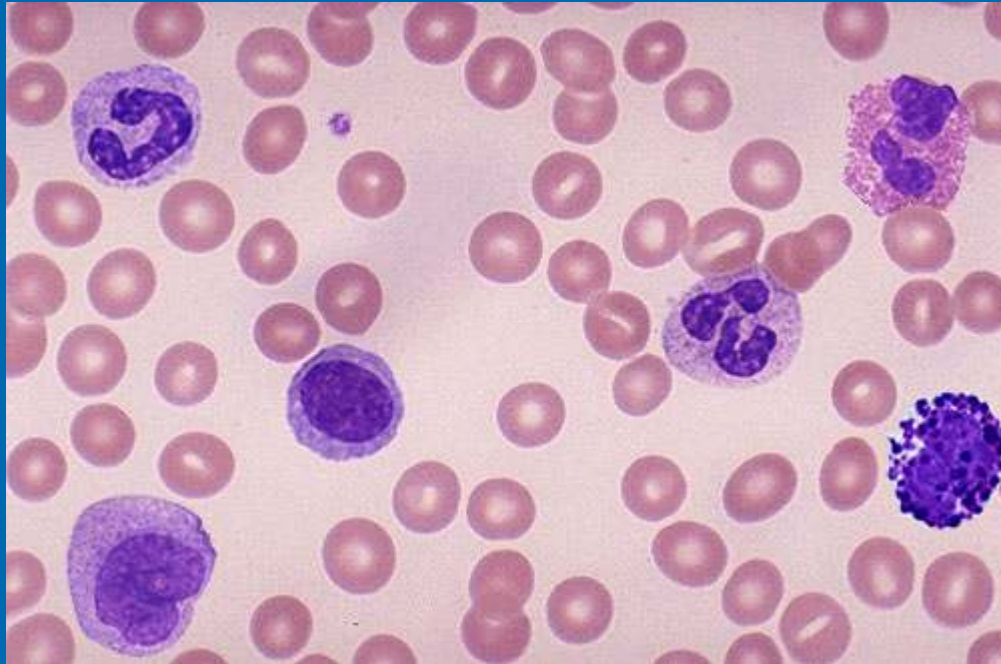
- počet impulzů = počet částic
- amplituda = objem částice



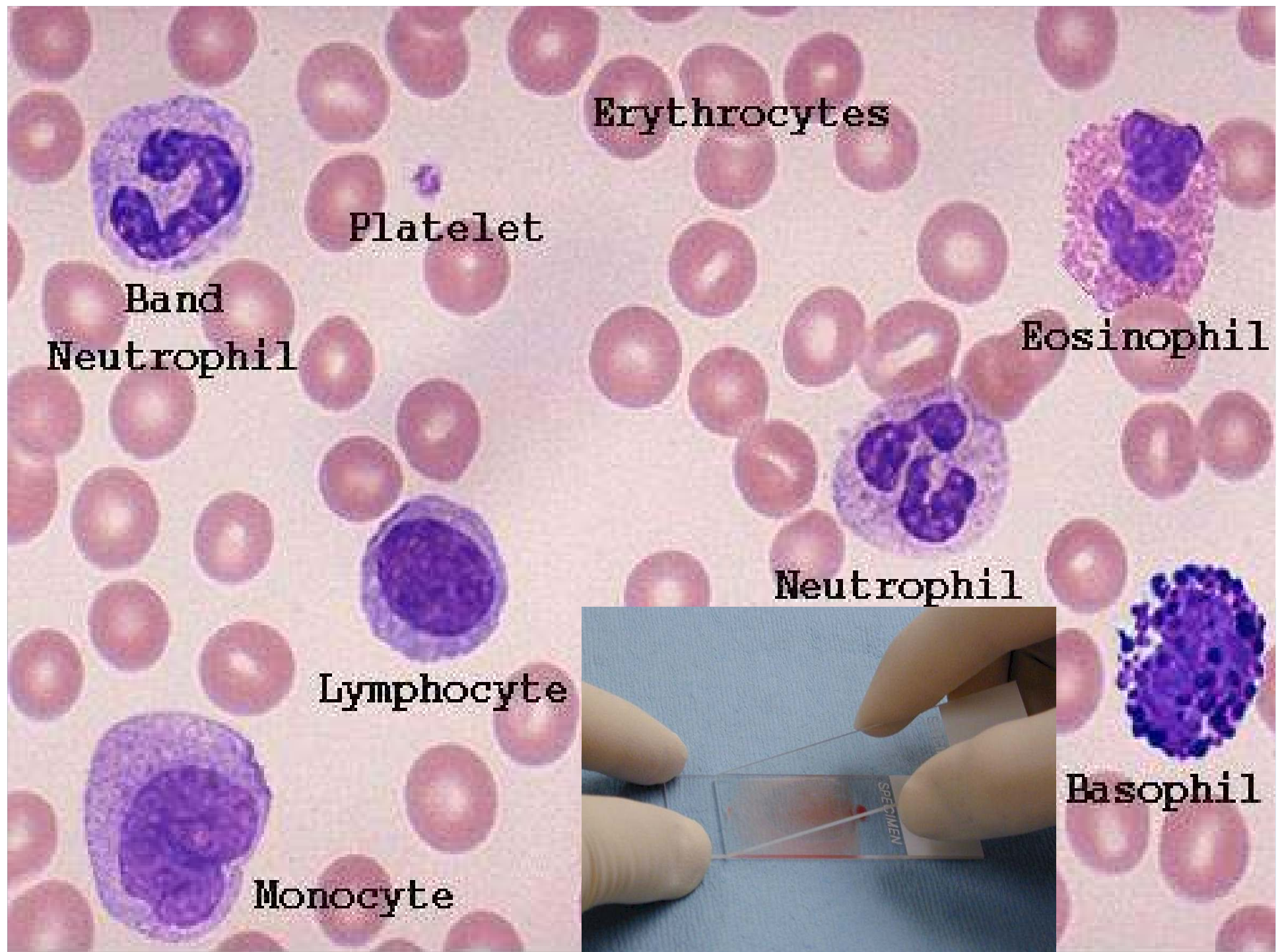
- **optické** – při průchodu částice přes fokusovaný světelný paprsek dojde k rozptylu světla

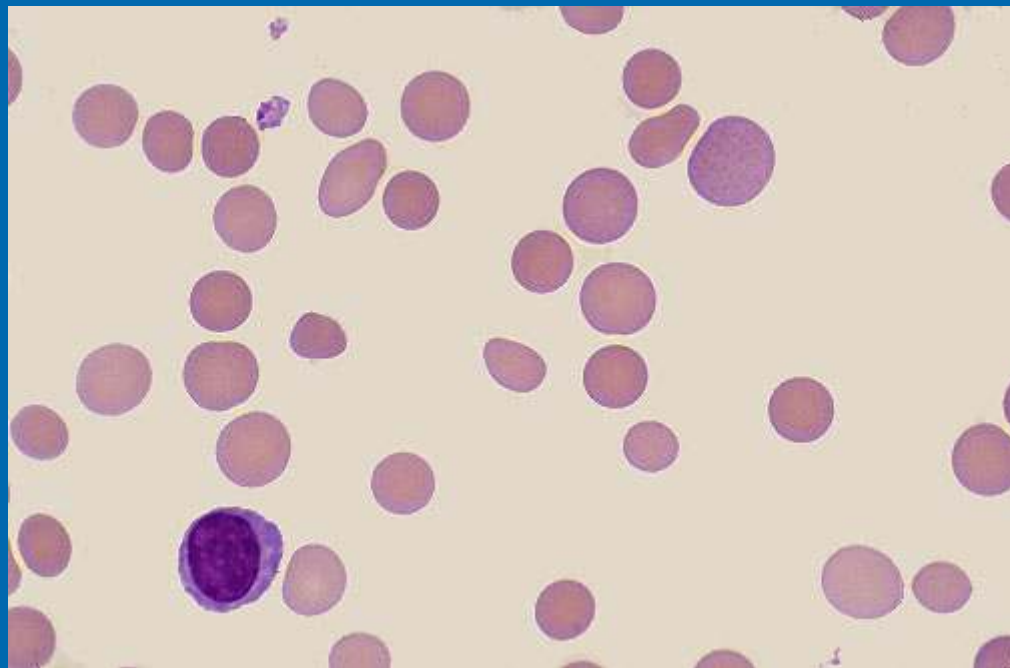


➤ Klasický krevní nátěr



- při patologickém nálezu na analyzátoru
- zhodnocení morfologie buněk

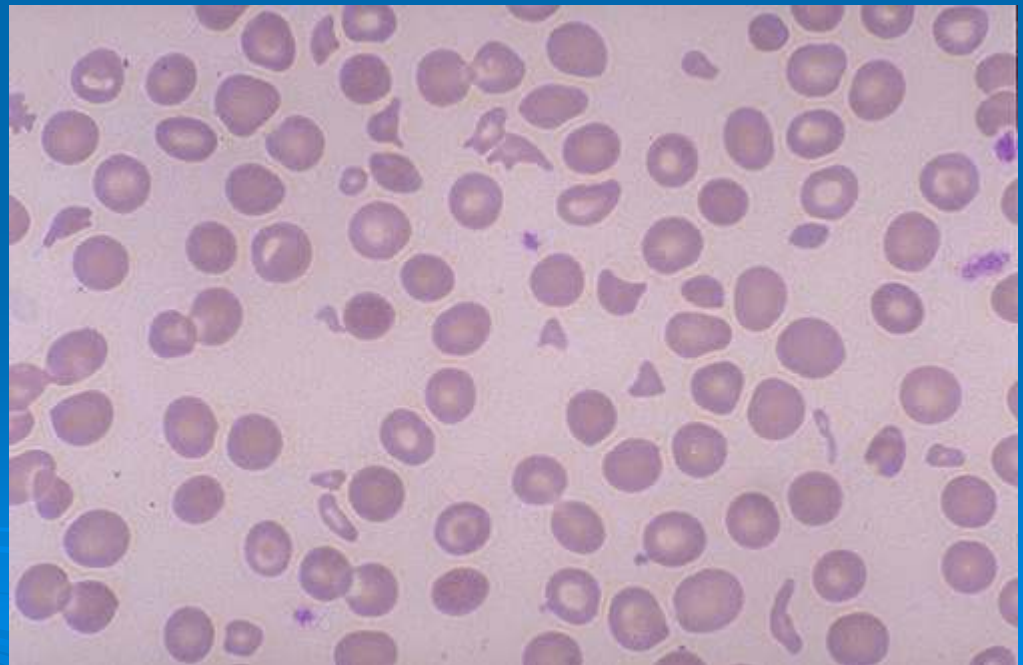




← sférocyty

schistocyty →

makrocyty/ normocyty/ mikrocyty



Hemoglobin

- Stanovení spektrofotometricky po hemolýze erytrocytů a přeměně na hemiglobin-kyanid
- **Normální hodnoty**
ženy: 120 – 160 g/l
muži: 130 – 175 g/l
- **Zvýšení:** polycytémie, dehydratace
- **Snížení:** anémie, hyperhydratace

Hematokrit

- HCT udává **procentuelní zastoupení** erytrocytů v **objemové jednotce** krve
(analyzátor vypočítá HCT z RBC a MCV)

- **Normální hodnoty**

ženy: 0,35 – 0,46 35 - 46 %

muži: 0,40 – 0,50 40 – 50 %

- **Zvýšení:** polycytémie, dehydratace

- **Snížení:** anémie, hyperhydratace

Počet erytrocytů

- udáván v množství $\times 10^{12}/l$ nebo $\times 10^6/\mu l$
- **Normální hodnoty**
ženy: $3,8 - 5,2 \times 10^{12}/l$
muži: $4,2 - 5,8 \times 10^{12}/l$
- **Zvýšení:** polycytémie, dehydratace
- **Snížení:** anémie, hyperhydratace

MCV – mean cell (corpuscular) volume

➤ Výpočet:

$$MCV = \frac{\text{hematocrit}}{\text{poč}_{\text{ery.}}}$$

- vypočten přímo analyzátořem

➤ Normální hodnota: 80 – 99 fl

- ## ➤ Rozlišení
- normocyty
 - mikrocyty
 - makrocyty

MCH – mean cell (corpuscular) hemoglobin

➤ **Výpočet:**

$$MCH = \frac{\text{hemoglobin}[g/l]}{\text{poč}_{-ery}[l^{-1}]}.$$

➤ **Normální hodnota:** 27 – 33 pg

- **Rozlišení** - normochromní RBC (normo nebo makrocyty)
- hypochromní RBC (většinou mikrocyty)

MCHC – mean cell (corpuscular) hemoglobin concentration

➤ **Výpočet:**

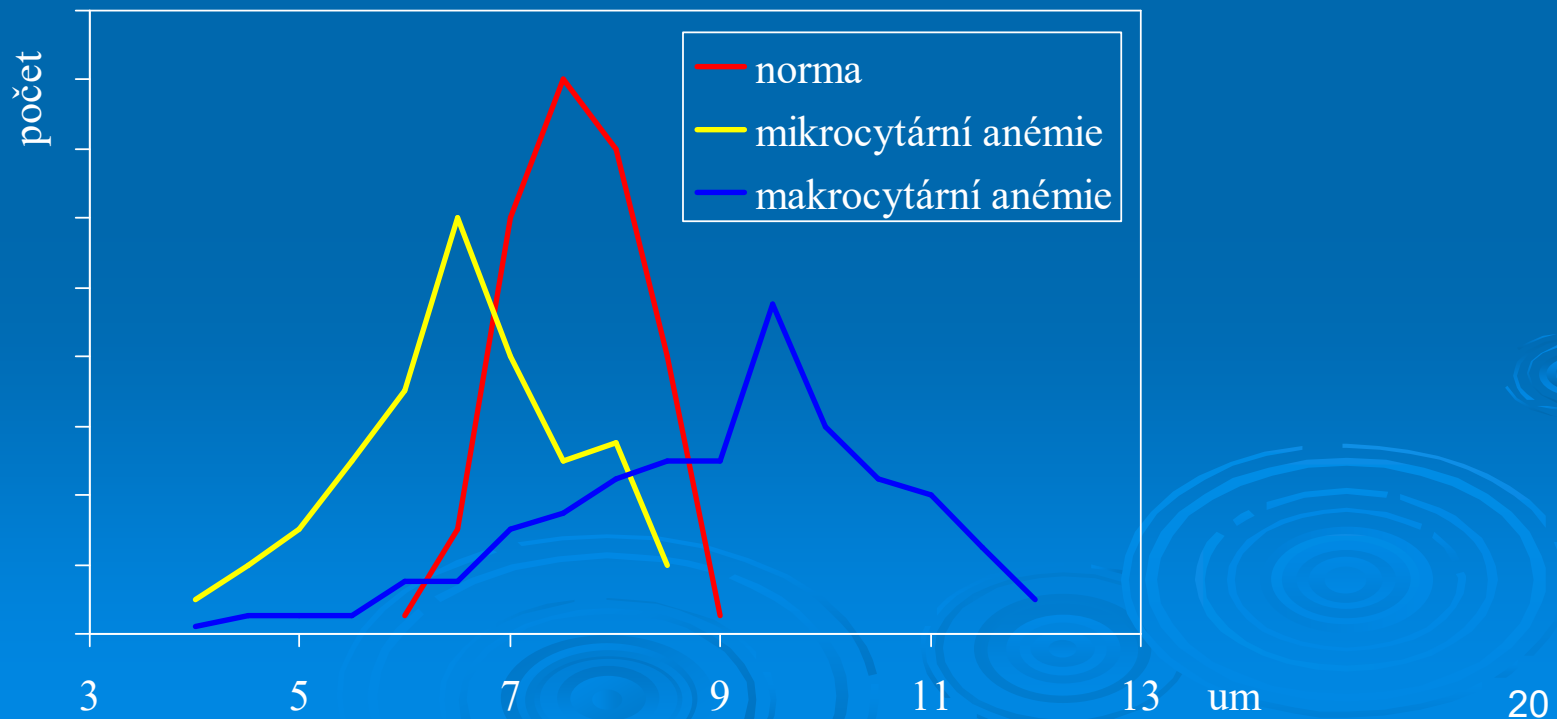
$$MCHC = \frac{\text{hemoglobin[g / l]}}{\text{hematorcit}}$$

➤ **Normální hodnota:** 33 - 37 %

➤ Hodnocení obdobné jako u MCH

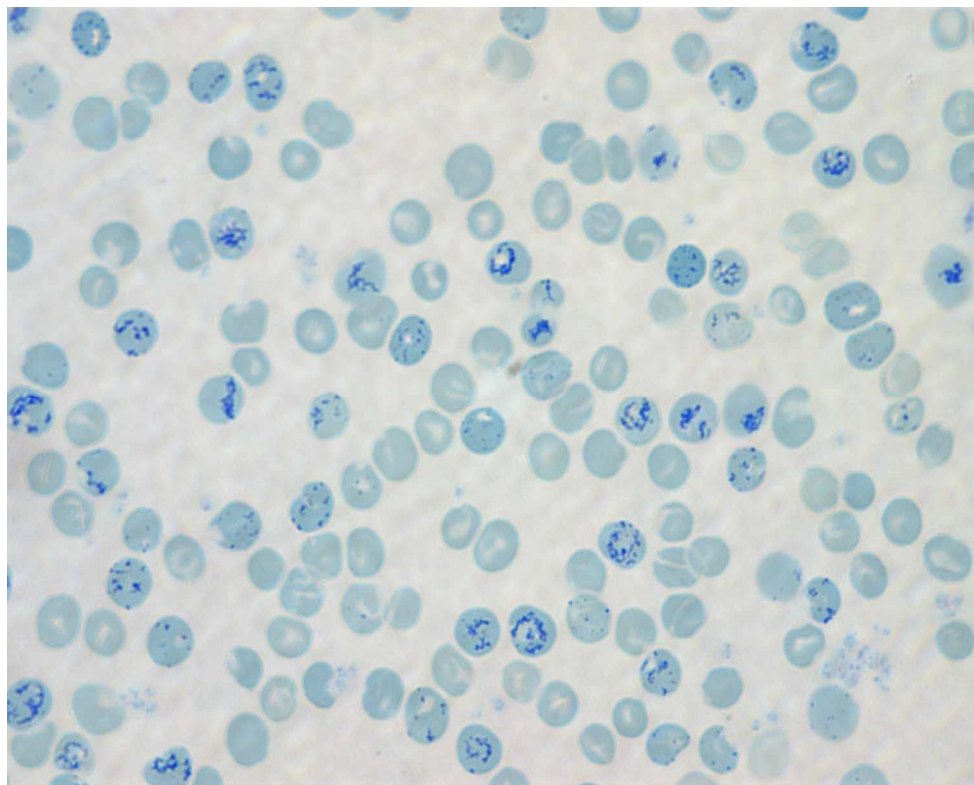
RDW – red cell distribution width

- Analyzátor vytvoří v paměti Priceovu-Jonesovu křivku, RDW Red blood cell Distribution Width je šířka distribuce (obdobně se stanovuje PDW) **(RDW je mírou anizocytózy)**

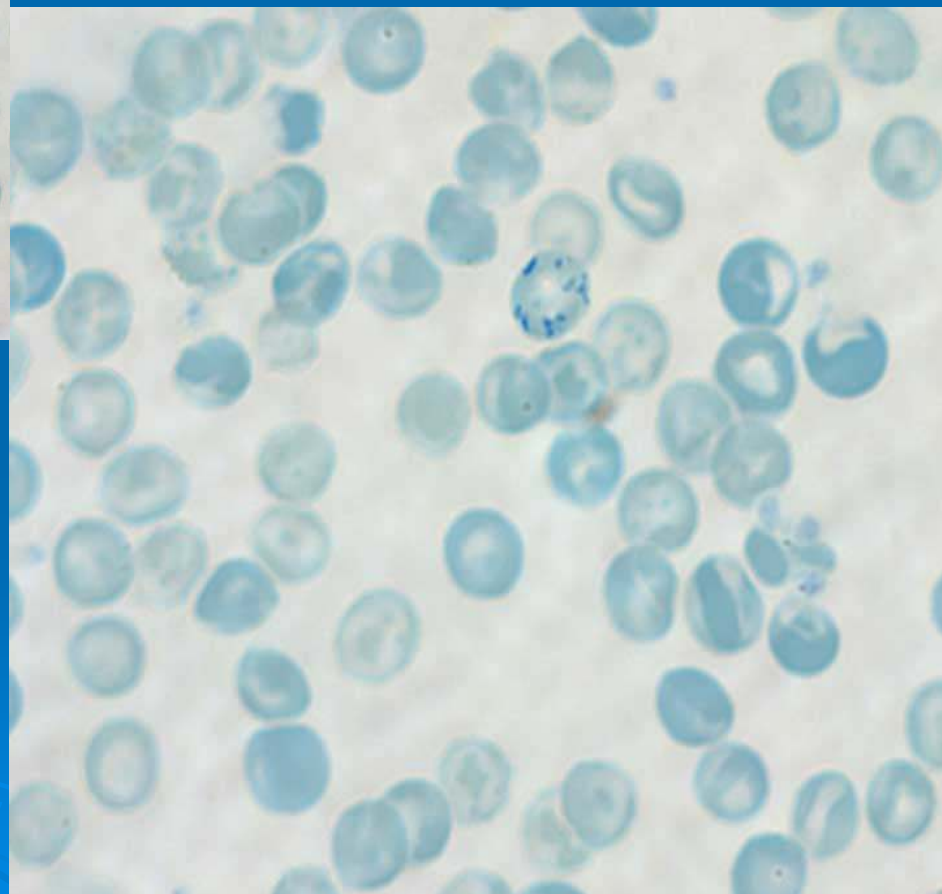


Počet retikulocytů

- Stanovení z **krevního nátěru** obarveného brilantkrezylovou modří (počet / 1000 RBC) (**analyzátořem** – absolutní hodnoty)
- **Normální hodnota:** 0,5 – 1,5 %
- **Zvýšení:** zvýšená tvorba RBC v kostní dřeni (krvácení, hemolýza)
- **Snížení až vymizení:** útlum erytropoézy, útlum dřeně



**retikulocyty - obsahují
“substantia reticulo-filamentosa“**

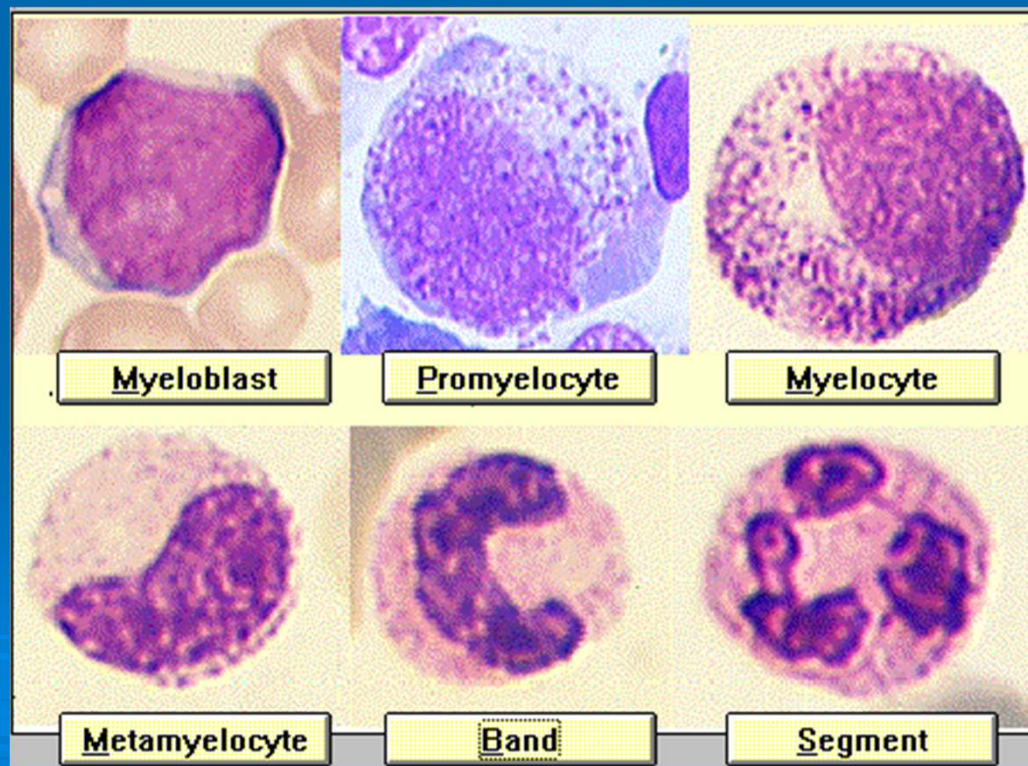


Počet trombocytů

- Udává se v množství $\times 10^9/l$ nebo $\times 10^3/\mu l$
- **Normální hodnoty:** $150 - 450 \times 10^9/l$
- **Zvýšení:** trombocytóza
- **Snížení:** trombocytopenie
- **Funkční porucha:** trombocytopatie

Počet leukocytů

- Udává se v množství $\times 10^9/l$ nebo $\times 10^3/\mu l$
- **Normální hodnoty:** $4 - 10 \times 10^9/l$
- **Zvýšení:** leukocytóza
- **Snížení:** leukopenie



Diferenciální rozpočet leukocytů

- Udává zastoupení jednotlivých druhů leukocytů v krvi
- Vyjadřuje se v **relativním** (%) nebo **absolutním** počtu

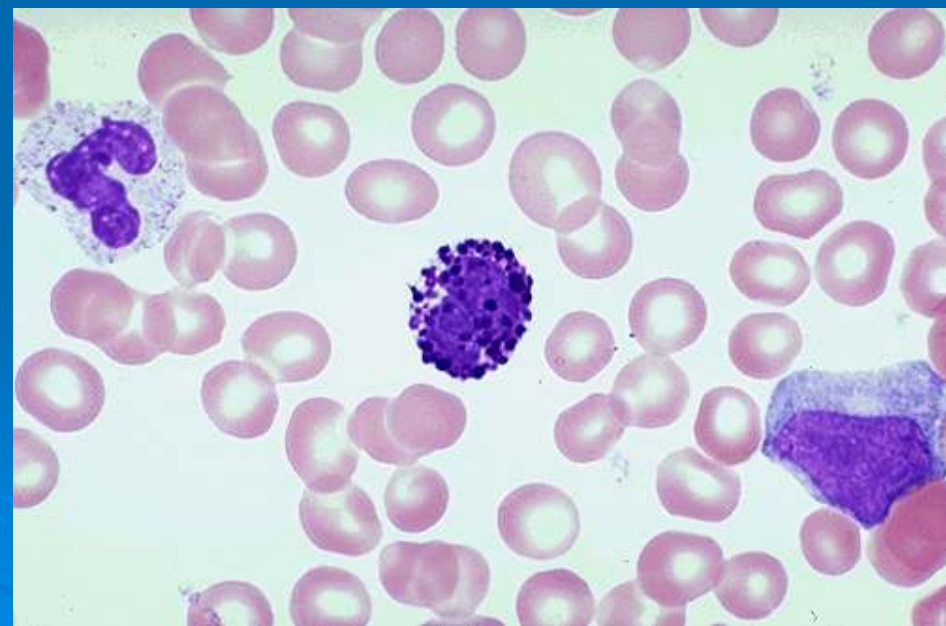
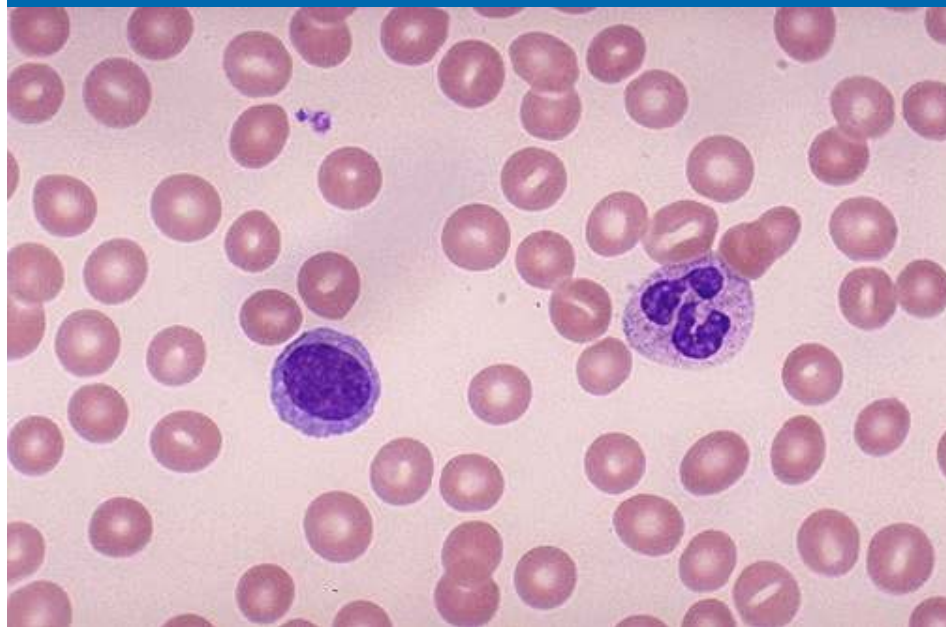
Poruchy:

neutrofilie x neutropenie

eozinofilie x eozinopenie

bazofilie x bazopenie

lymfocytóza x lymfopenie



Anémie

- 35 letá těhotná žena byla vyšetřena pro progredující **únavu** a **zadýchávání** při minimální zátěži. Klinické vyšetření až na **bledé spojivky** v normě.

- Bylo vysloveno podezření na anémii, provedeno vyšetření krevního obrazu

➤	HGB	71 g/l	(120 – 160 g/l)
	HCT	23%	(35 - 46 %)
	RBC	$2,5 \times 10^{12}$	$(3,8 - 5,2 \times 10^{12}/l)$
	MCV	74 fl	(80 – 99 fl)
	MCH	22 pg	(27 – 33 pg)
	RDW	17,1%	(13 – 15 %)
	ret	0,2%	(0,5 – 1,5 %)
	WBC	$5,4 \times 10^9$	$(4 - 10 \times 10^9/l)$
	PLT	450×10^9	$(150 - 450 \times 10^9/l)$

**mikrocytární
hypochromní
s anizocytózou
hypoproliferativní**

- Který parametr krevního obrazu diagnostikuje anémii?
- Proč není anémie definována hodnotami RBC a HCT?
- Jak lze anémii na základě hodnot KO blíže charakterizovat?

Anémie (patofyziologická klasifikace)

hyperproliferativní
(zvýšené ztráty)

krvácení

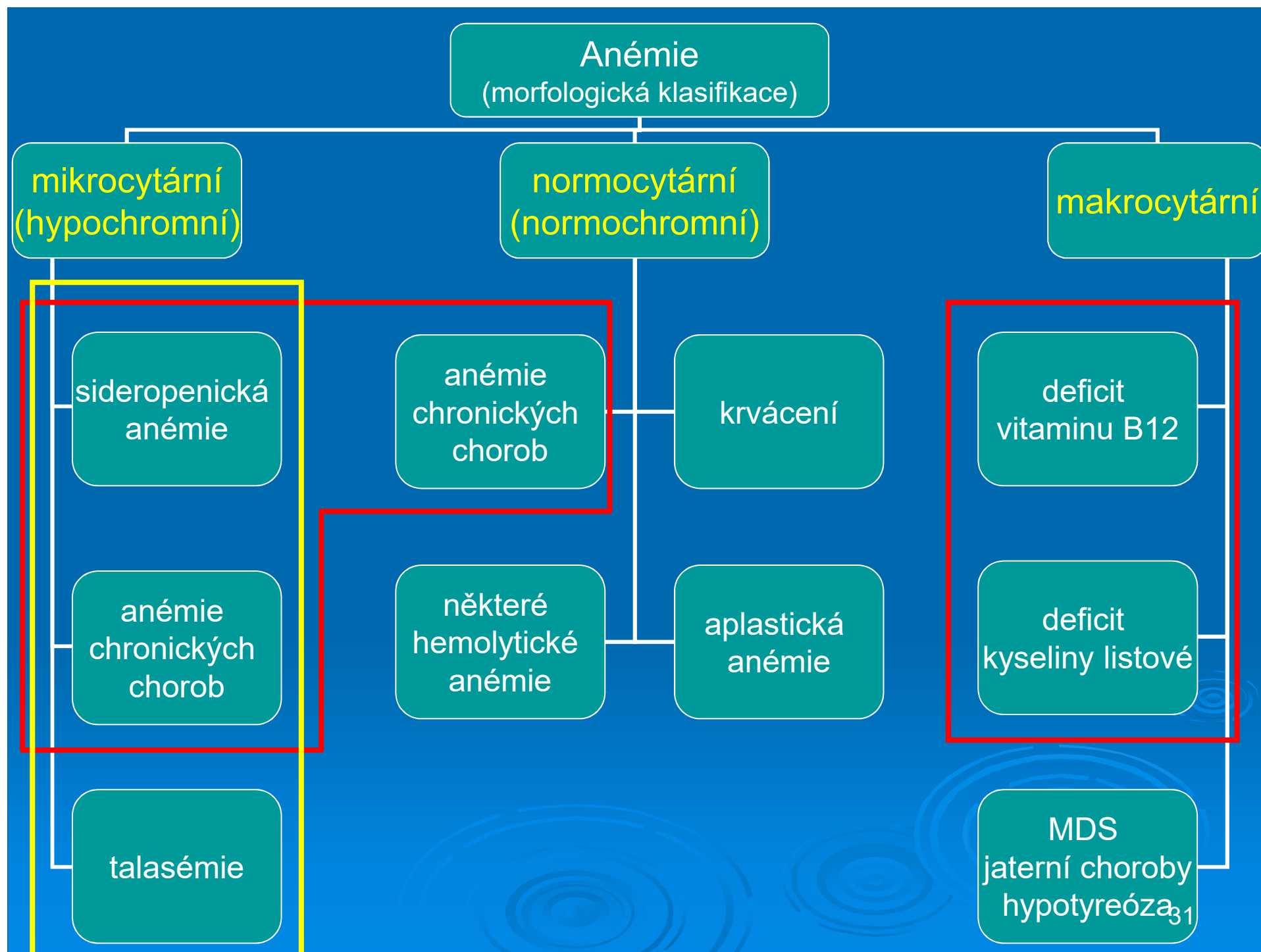
hemolýza

hypoproliferativní
(nedostatečná tvorba)

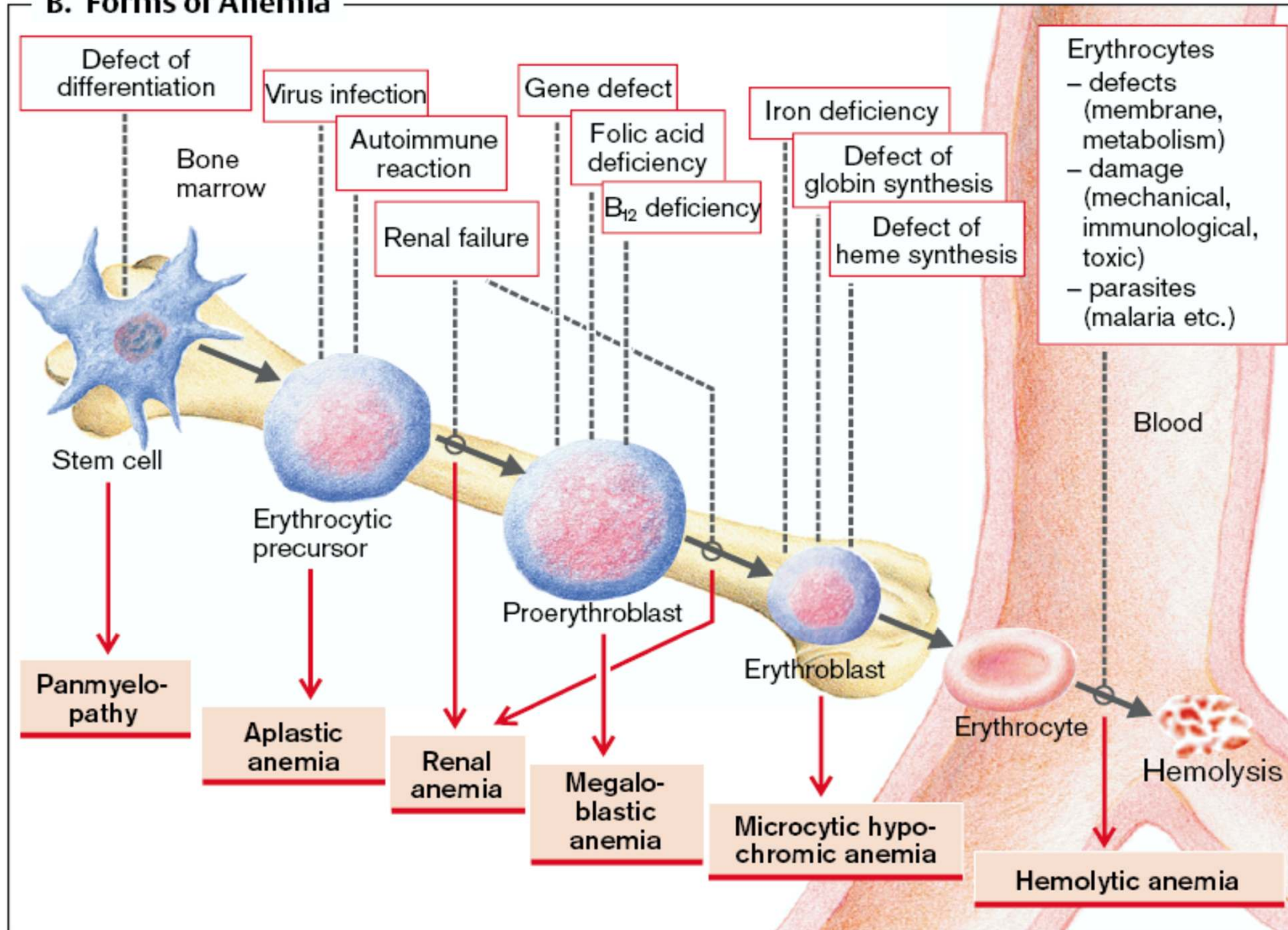
nedostatek
erytropoetinu

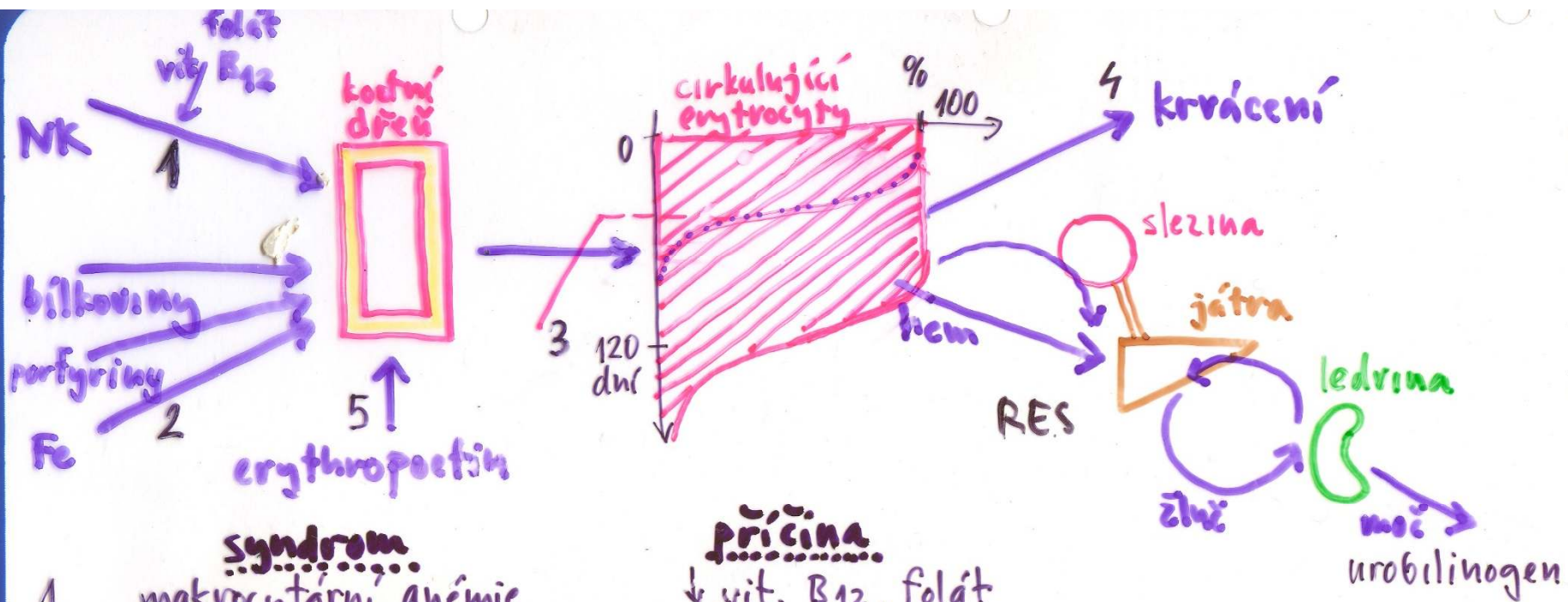
nedostatek
faktorů
důležitých pro
erytropoezu

porucha
krvetvorné
tkáně



B. Forms of Anemia





Syndrom

- 1 makrocytární anémie
- 2 hypochromní anémie
- 3 hyperbilirubinémie
- 4 posthemoragická anémie
- 5 hyper-kreatinémie

Příčina

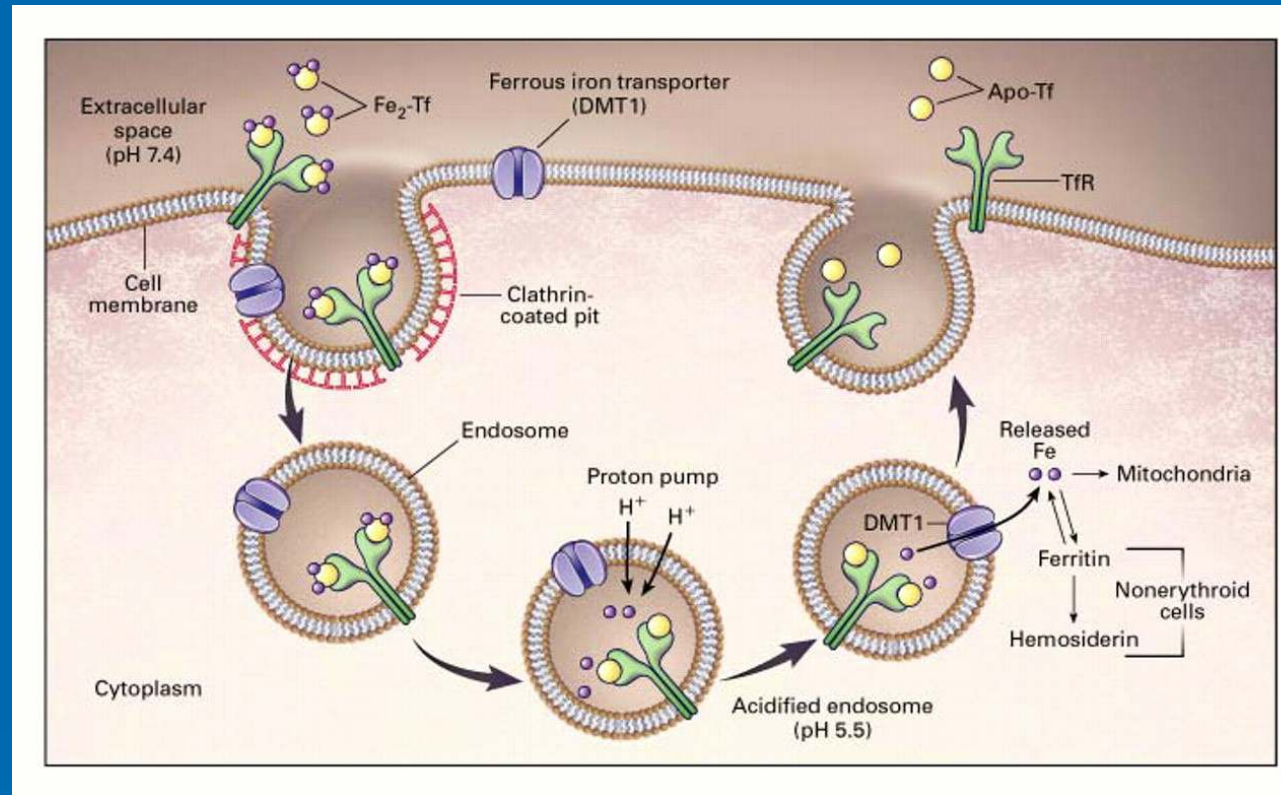
↓ vit. B12, folát
↓ Fe

hemolýza

exsanguinace (meléna, menstrace, atd.)
chronická renální insuficience

Vyšetření metabolismu železa

- S-Fe
- S-ferritin
- S-transferin



Saturace transferinu

Celková vazebná kapacita transferinu

- (Solubilní transferinový receptor)

Vyšetření metabolismu železa

- Tranzitní pool Fe je stanovován jako **sérové železo** (veškeré železo je vázáno na transferin) a jako **TIBC**

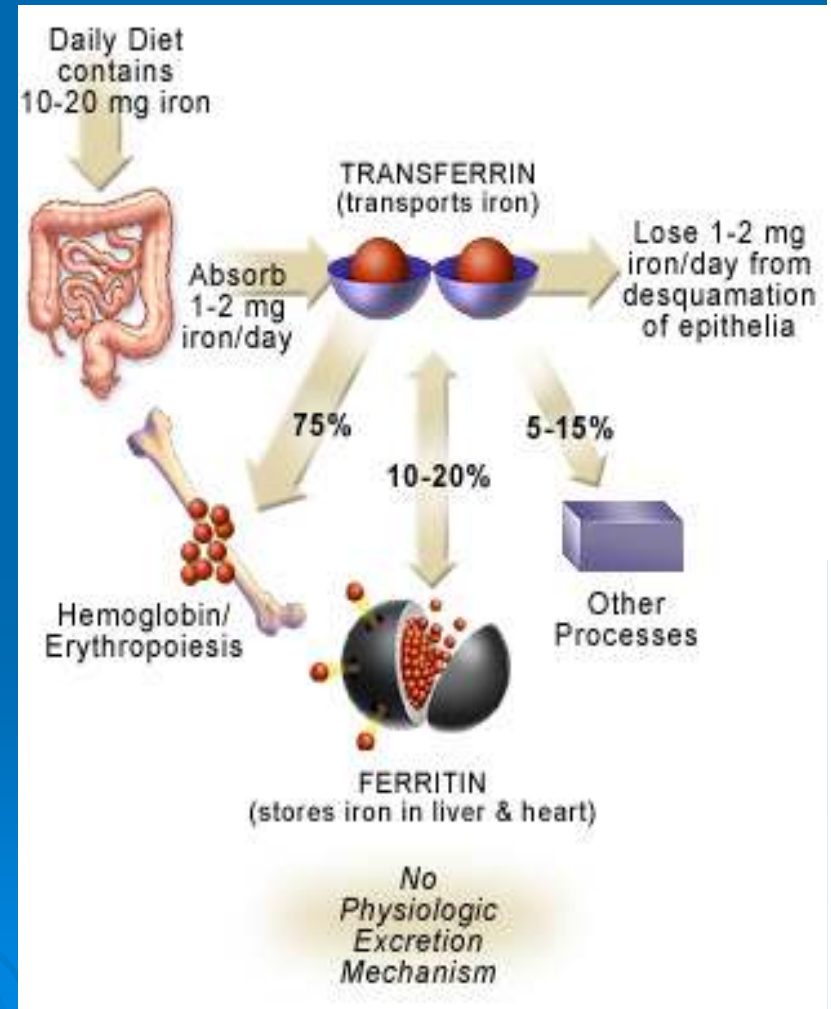
total iron binding capacity
(celková vazebná kapacita)

- Pool Fe v zásobárnách je
- stanovován jako **sérový feritin**

Vilém Laufberger

(*1890 Turnov – +1986 Praha, 96 let)

„Malá tajemství života“



Vyšetření metabolismu železa

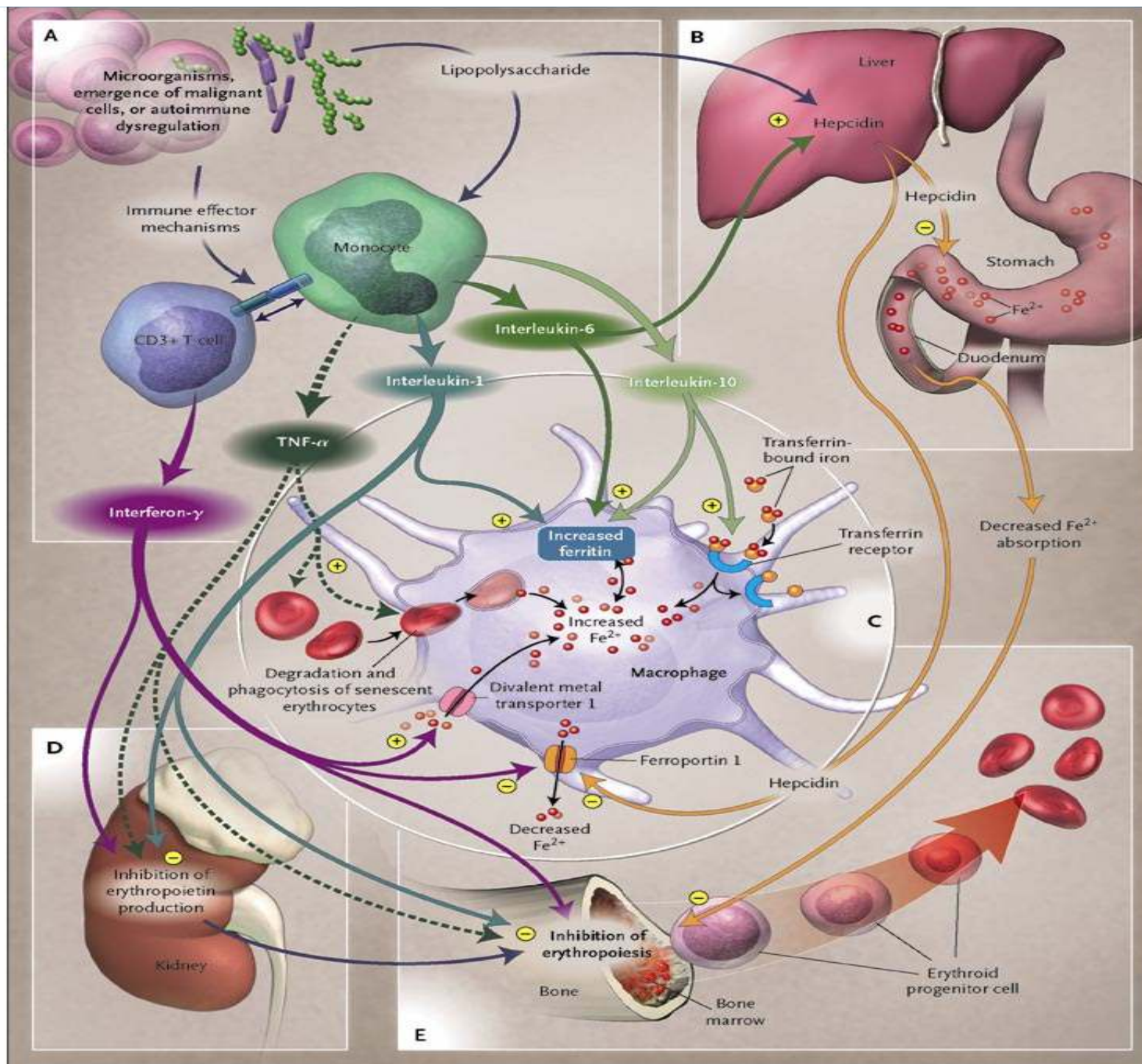
- **TIBC** se zvyšuje při sníženém Fe v séru (více neobsazeného transferinu) a při zvýšení sérového transferinu
 - **Saturace transferinu** je vypočtená jako $S\text{-Fe} / \text{TIBC}$
 - **sTfR** vzniká proteolýzou membránového TfR, je nepřímým ukazatelem exprese TfR v organismu
- => zvýšen u deficitu železa a intenzivní erytropoézy

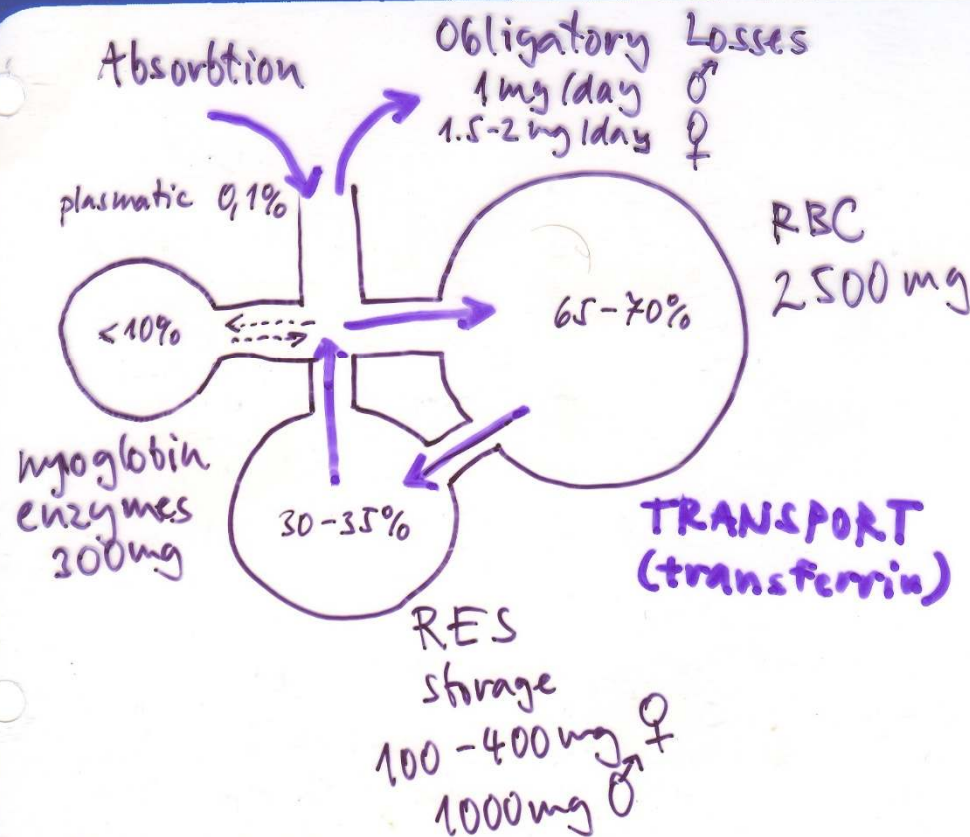
Table 3. Serum Levels That Differentiate Anemia of Chronic Disease from Iron-Deficiency Anemia.*

Variable	Anemia of Chronic Disease	Iron-Deficiency Anemia	Both Conditions†
Iron	Reduced	Reduced	Reduced
Transferrin	Reduced to normal	Increased	Reduced
Transferrin saturation	Reduced	Reduced	Reduced
Ferritin	Normal to increased	Reduced	Reduced to normal
Soluble transferrin receptor	Normal	Increased	Normal to increased
Ratio of soluble transferrin receptor to log ferritin	Low (<1)	High (>2)	High (>2)
Cytokine levels	Increased	Normal	Increased

* Relative changes are given in relation to the respective normal values.

† Patients with both conditions include those with anemia of chronic disease and true iron deficiency.





Iron pools

$$\text{Iron content in RBC} = \text{ttl. body Hb} \cdot \frac{\text{mol. weight of iron}}{\text{mol. weight of Hb}}$$

Ferritin (plasma): 35 µg/l ♀ 95 µg/l ♂ (RIA)

(sideropenia: < 12 µg/l)

Proč je sideropenická
anémie mikrocytární?

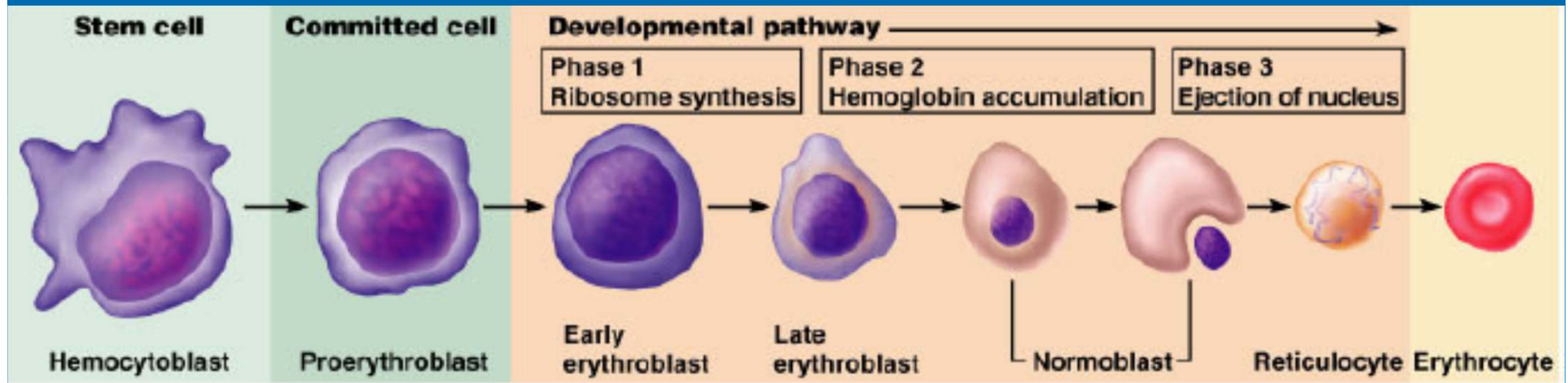
Proč je přítomna
anizocytóza?

mikrocyty

↑
mitózy

↑
prodloužená hemoglobinizace

↑
nedostatek **Fe**



- 50 letá žena přichází pro **zhoršení dechu** v několika posledních týdnech. Také si stěžuje na **mravenčení prstů** na levé noze. Při fyzikálním vyšetření zjišťujeme **žlutě zabarvené skléry**, červený a **vyhlazený jazyk**.

➤ Pro podezření na anémii byl vyšetřen krevní obraz:

➤ HGB	65 g/l	(120 – 160 g/l)
HCT	19,3%	(35 - 46 %)
RBC	$1,7 \times 10^{12}$	$(3,8 - 5,2 \times 10^{12}/l)$
MCV	114 fl	(80 – 99 fl)
MCH	33 pg	(27 – 33 pg)
RDW	22 %	(13 – 15 %)
ret	0,4%	(0,5 – 1,5 %)
WBC	$2,0 \times 10^9$	$(4 - 10 \times 10^9/l)$
PLT	140×10^9	$(150 - 450 \times 10^9/l)$

O jaký typ anémie se jedná?

Anémie (morfologická klasifikace)

mikrocytární (hypochromní)

sideropenická
anémie

anémie
chronických
chorob

talasémie

normocytární (normochromní)

anémie
chronických
chorob

některé
hemolytické
anémie

krvácení

aplastická
anémie

makrocytární

deficit
vitaminu B12

deficit
kyseliny listové

MDS
jaterní choroby
hypotyreóza

➤ Vyšetření sérové koncentrace:

vitaminu B12

kyseliny listové

➤ Proč je anémie makrocytární?

tradiční název: perniciosní = zhoubná anemie

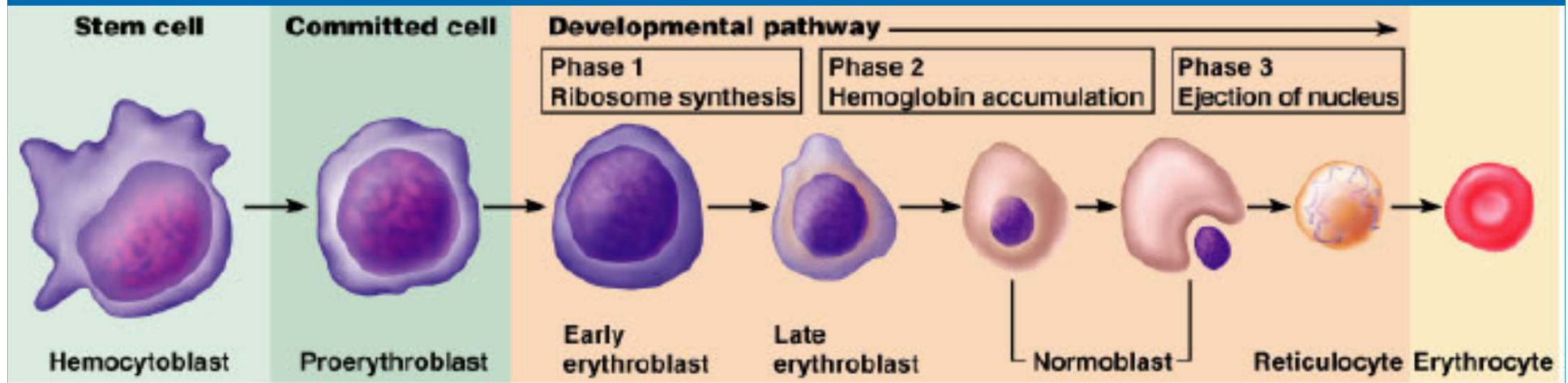
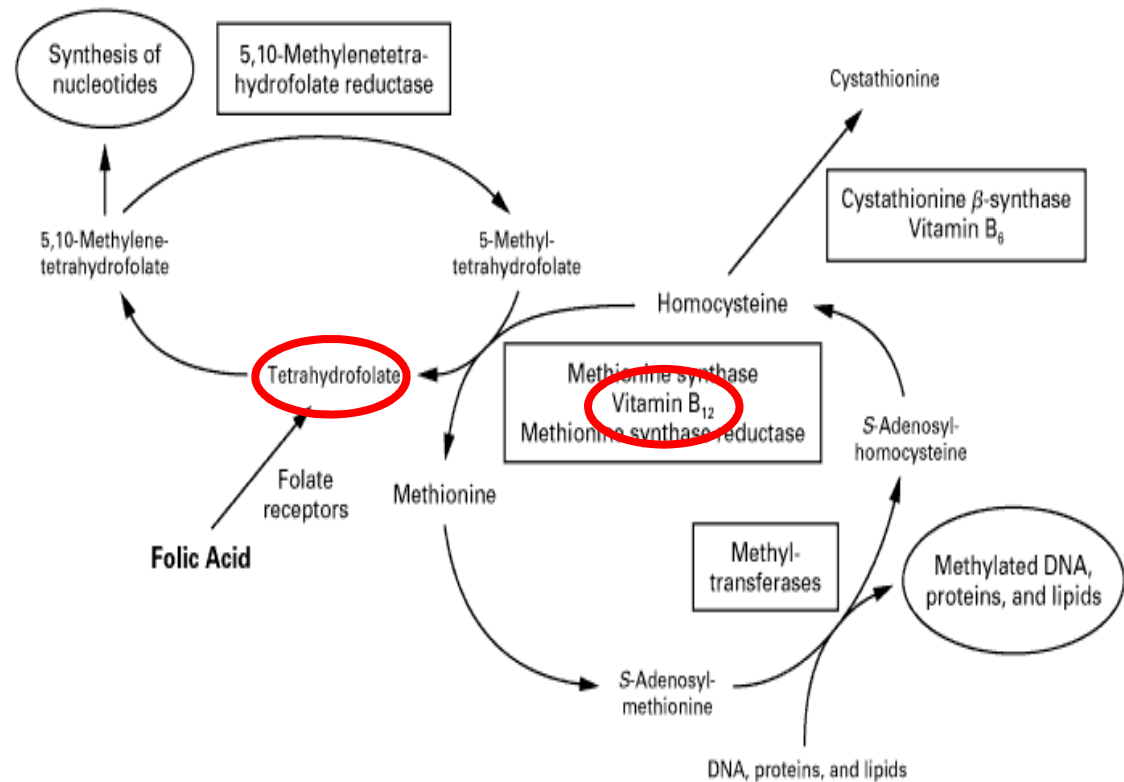
makrocyty



prodloužená doba mezi
bb děleními

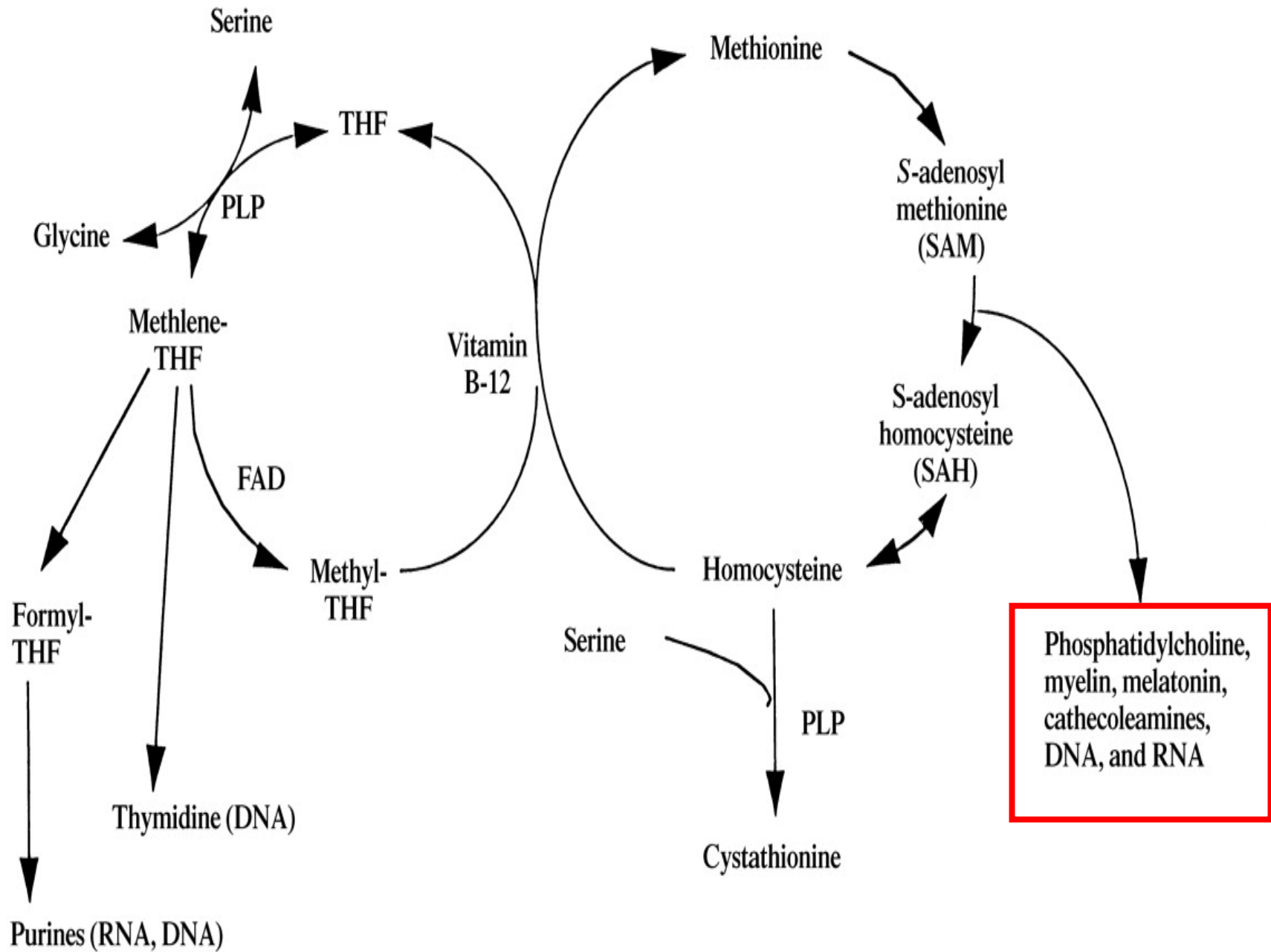


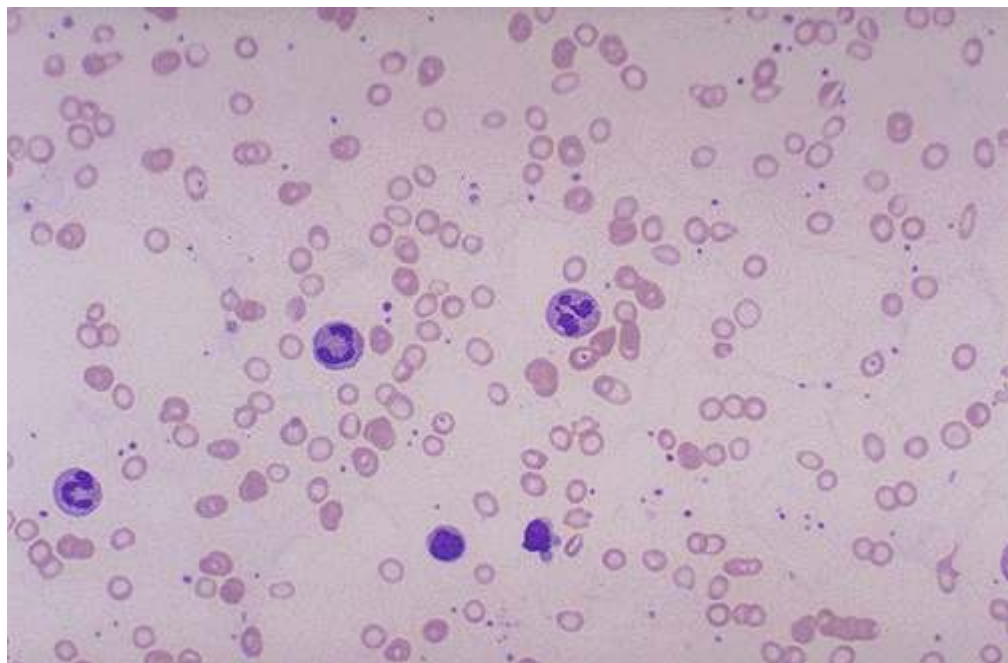
nedostatek **kyseliny
listové** a **vitaminu B12**



➤ HGB	65 g/l	(120 – 160 g/l)
HCT	19,3%	(35 - 46 %)
RBC	$1,7 \times 10^{12}$	$(3,8 – 5,2 \times 10^{12}/l)$
MCV	114 fl	(80 – 99 fl)
MCH	33 pg	(27 – 33 pg)
RDW	22 %	(13 – 15 %)
ret	0,4%	(0,5 – 1,5 %)
WBC	$2,0 \times 10^9$	$(4 – 10 \times 10^9/l)$
PLT	140×10^9	$(150 – 450 \times 10^9/l)$

- Proč má pacientka pancytopenii ?
- Proč má pacientka parestézie?



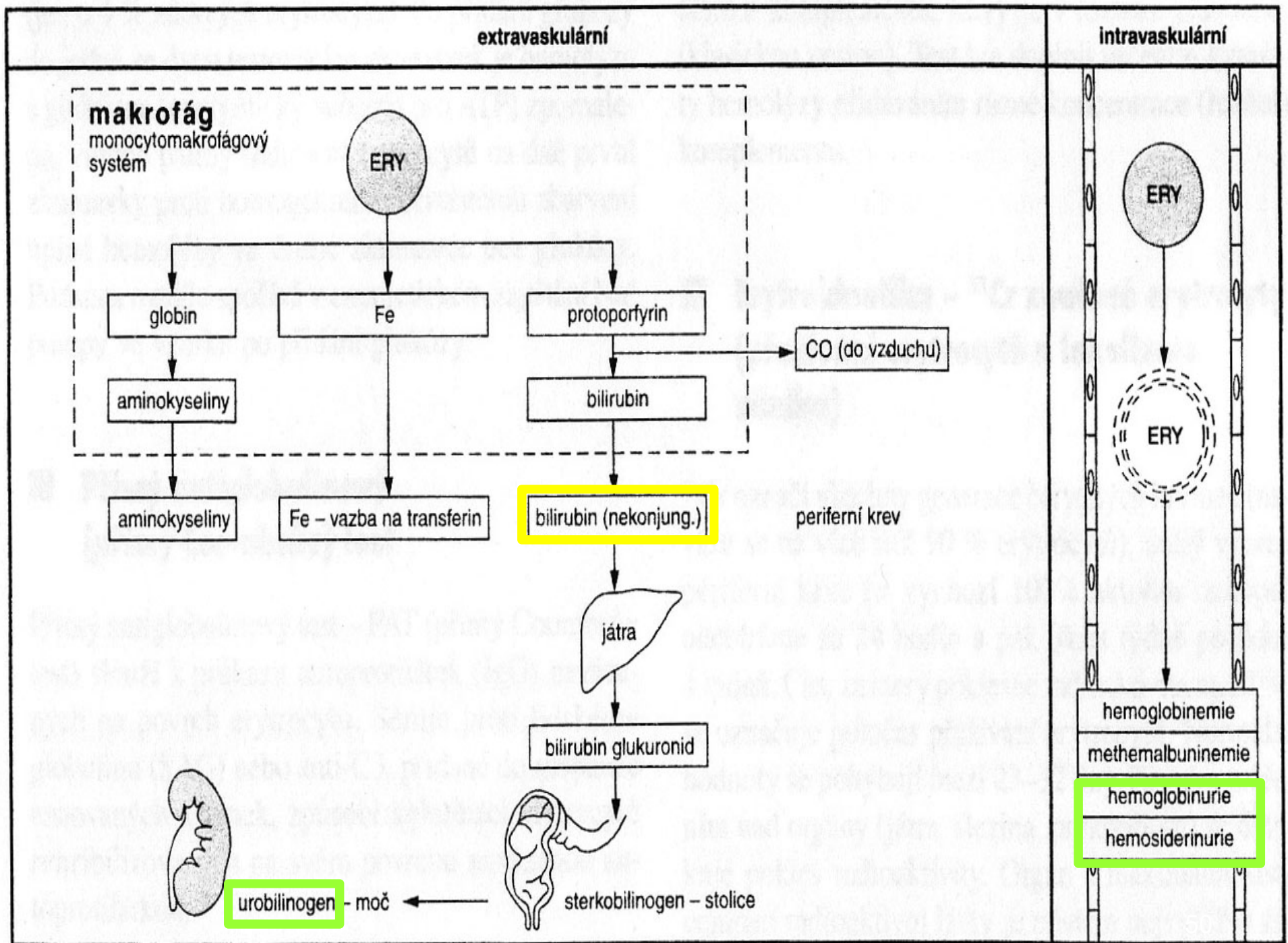


←
hypochromní mikrocytární
anémie



→
makrocytární anémie
hypersegmentovaný neutrofil

Hemolytické anémie



Vyšetření metabolismu hemoglobinu

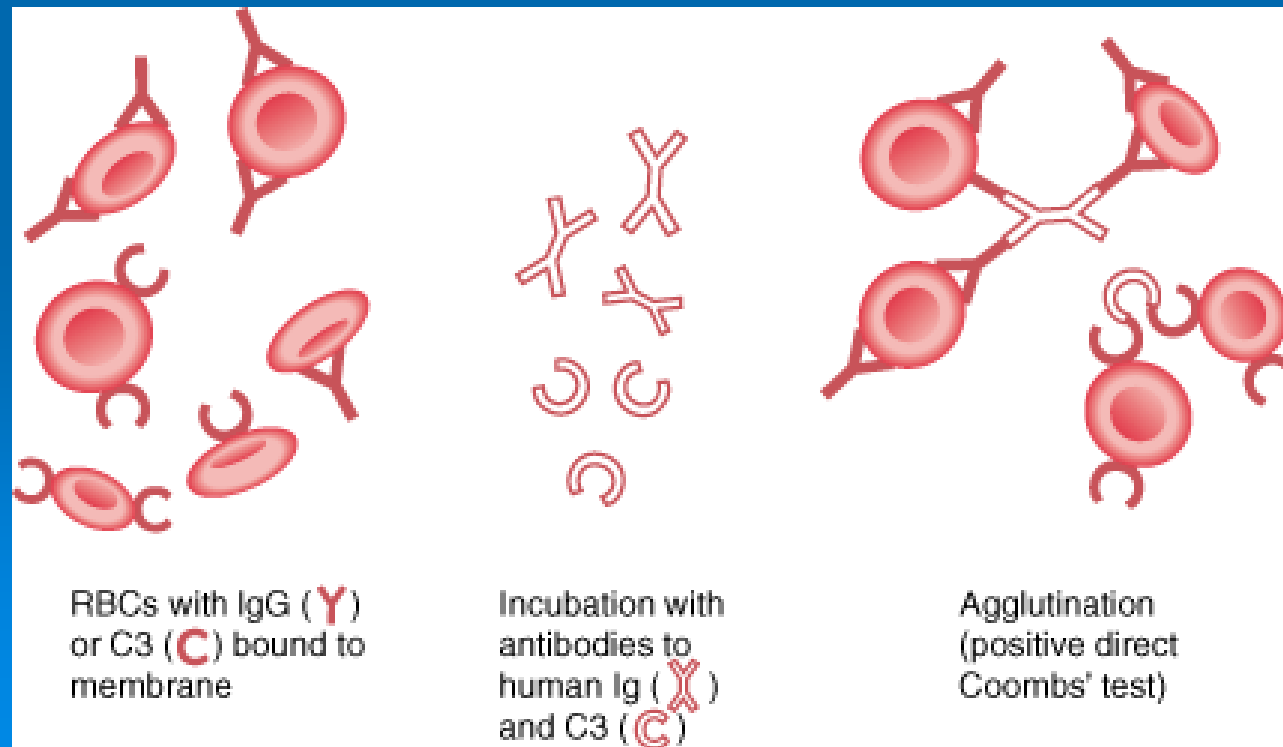
- **S-bilirubin** – koncentrace odráží degradaci hemu (zvýšen u hemolytických anémií)
- **S-haptoglobin** (váže hemoglobin)
- **S-hemopexin** (váže hem)
(sníženy u hemolytických anémií)
- **Elektroforéza hemoglobinu** – zjištění abnormálních hemoglobinů (hemoglobin S)

Vyšetření antierytrocytových protilátek

(→ dg. autoimunitních hemolytických anémií)

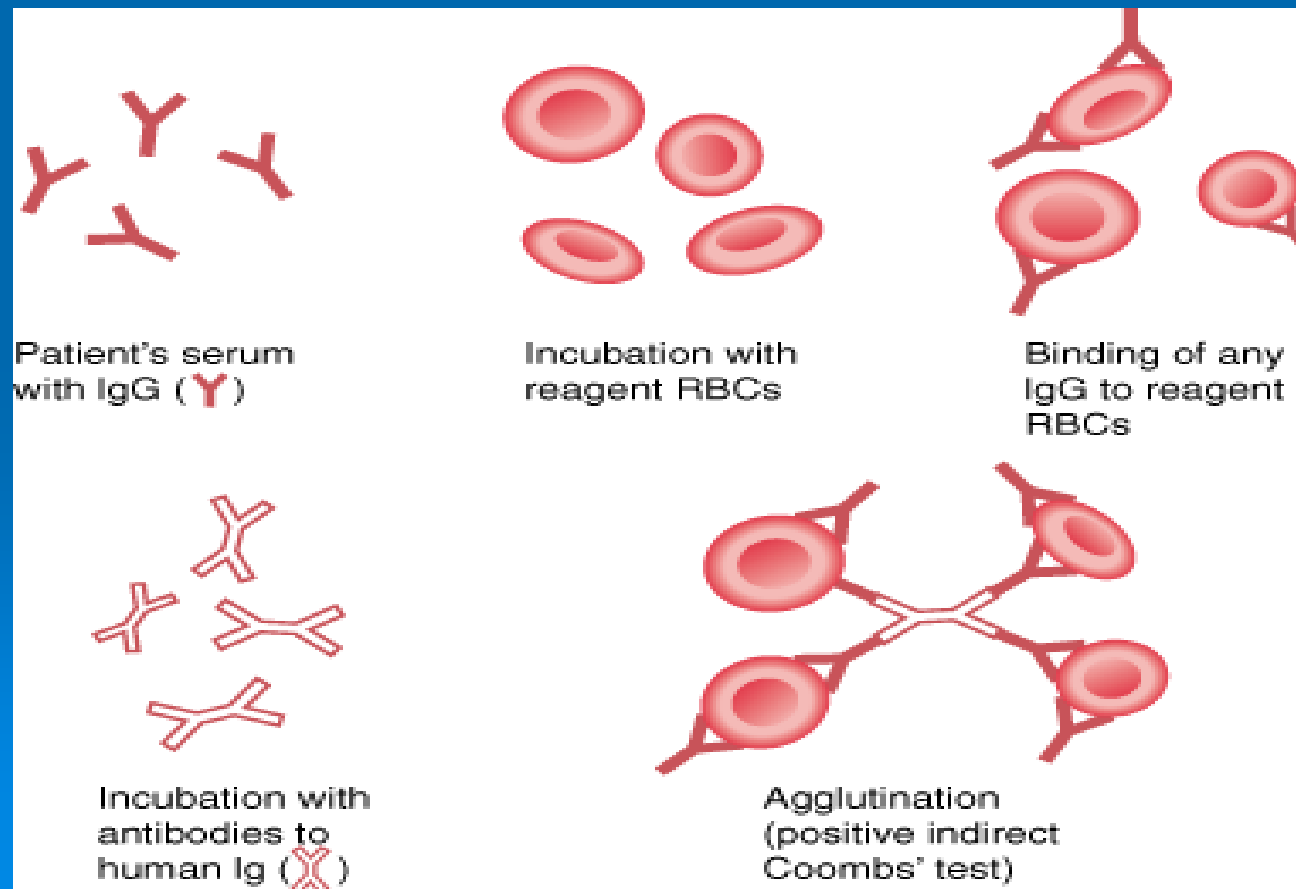
➤ Přímý antiglobulinový test (Coombsův)

- průkaz protilátek na povrchu erytrocytů pomocí antiglobulinového séra



➤ Nepřímý antiglobulinový test

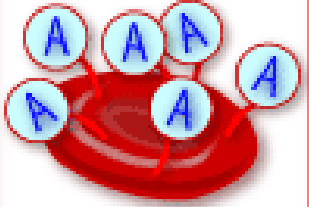
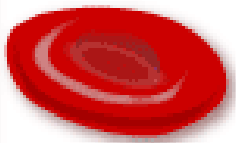
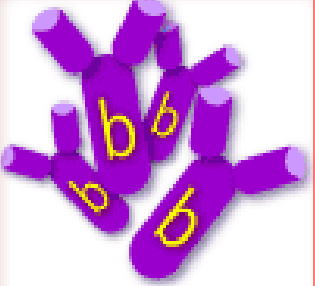
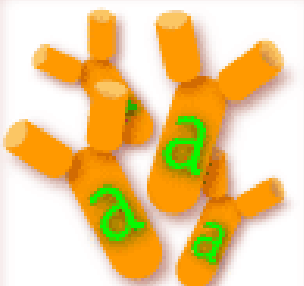
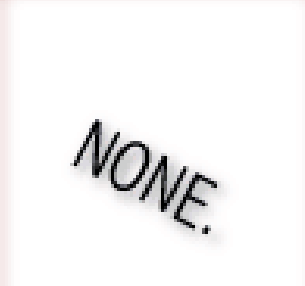
- průkaz volných protilátek v séru (po inkubaci RBC se sérem se přidá antiglobulinové sérum)

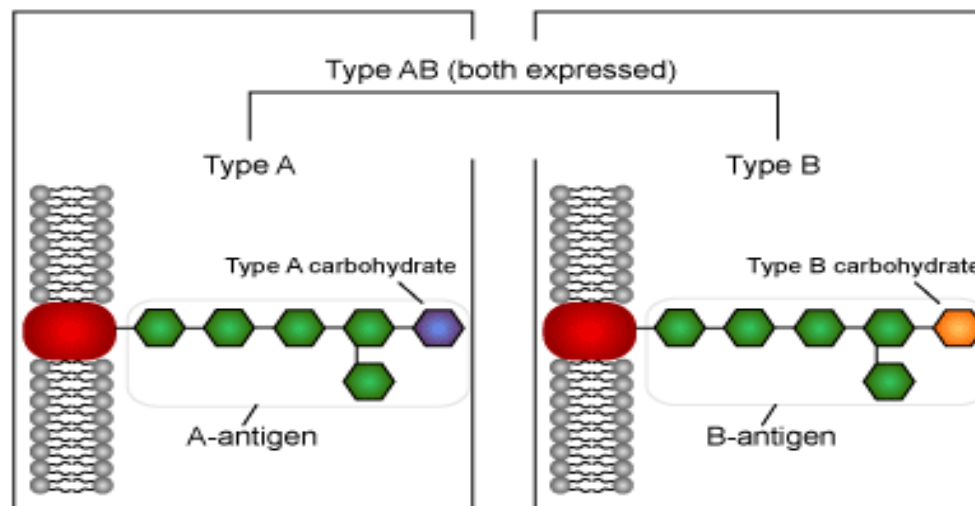
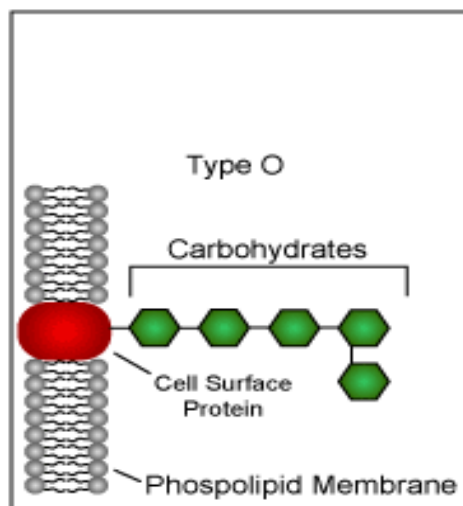


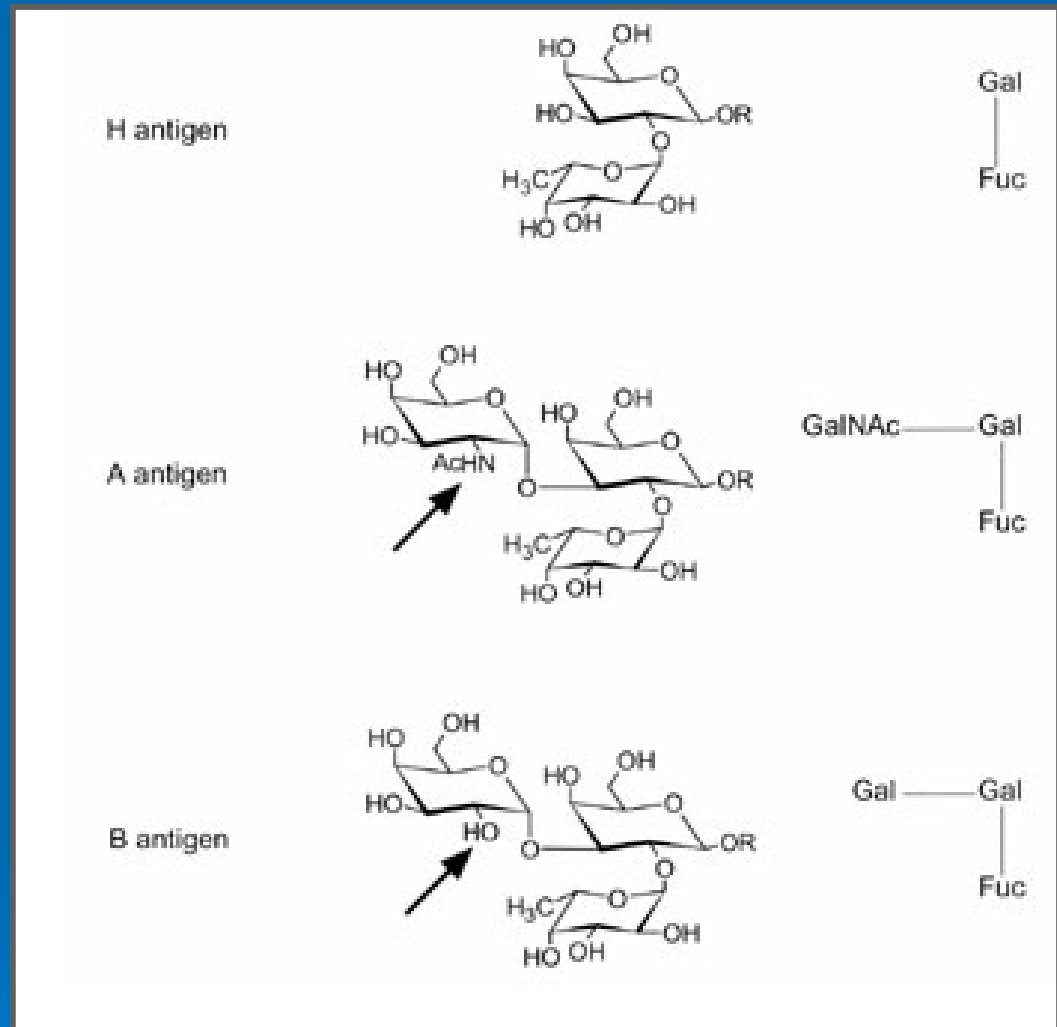
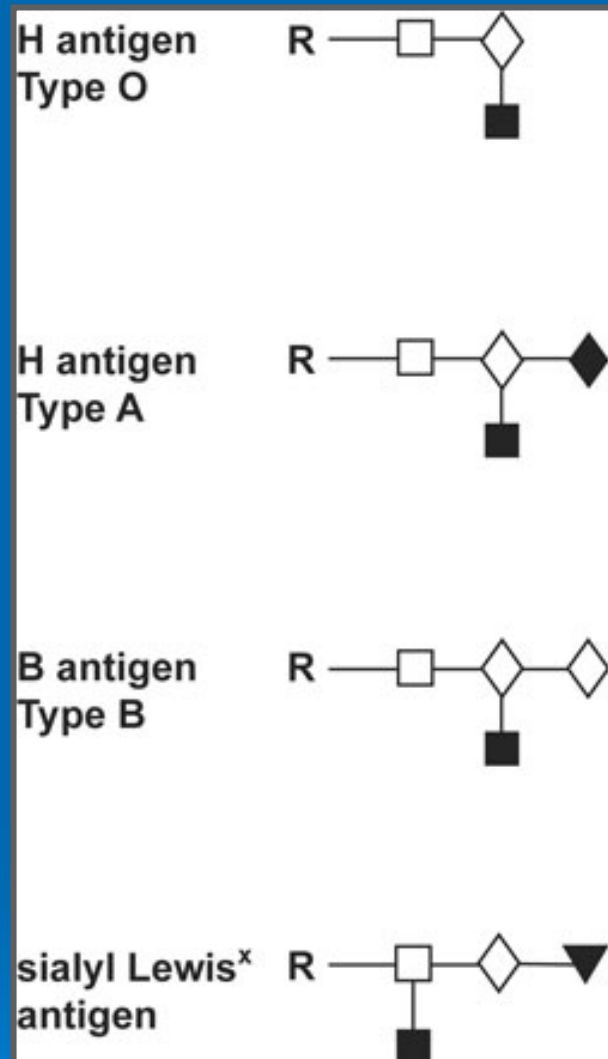
Imunologická vyšetření

- Vyšetření krevních skupin
- (Přímý antiglobulinový test)
- (Nepřímý antiglobulinový test)

The ABO Blood System

Blood Type (genotype)	Type A (AA, AO)	Type B (BB, BO)	Type AB (AB)	Type O (OO)
Red Blood Cell Surface Proteins (phenotype)	 A agglutinogens only	 B agglutinogens only	 A and B agglutinogens	 No agglutinogens
Plasma Antibodies (phenotype)	 b agglutinin only	 a agglutinin only	 NONE. No agglutinin	 a and b agglutinin





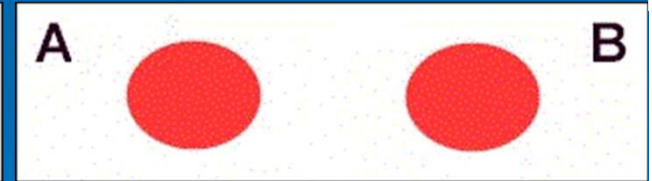
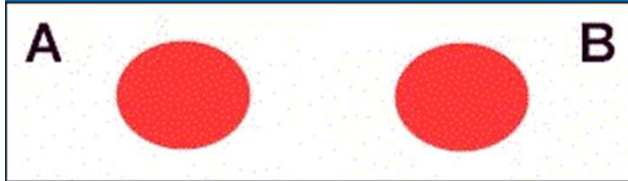
Vyšetření krevních skupin

➤ ABO systém

- vyšetření RBC pomocí diagnostických sér anti-A a anti-B
- vyšetření sérových aglutininů anti-A a anti-B pomocí typových erytrocytů

➤ Rh(D) systém

- vyšetření pomocí anti-Rh(D) séra



PACIENT	Č. CHOR.
KREVŇÍ VZOREK PŘÍJEMCE 	výsledná krevní skupina
VZOREK KREVŇÍ KONZERVY 	výsledná krevní skupina
ID krevní konzervy:	krevní skupina

bed-side test

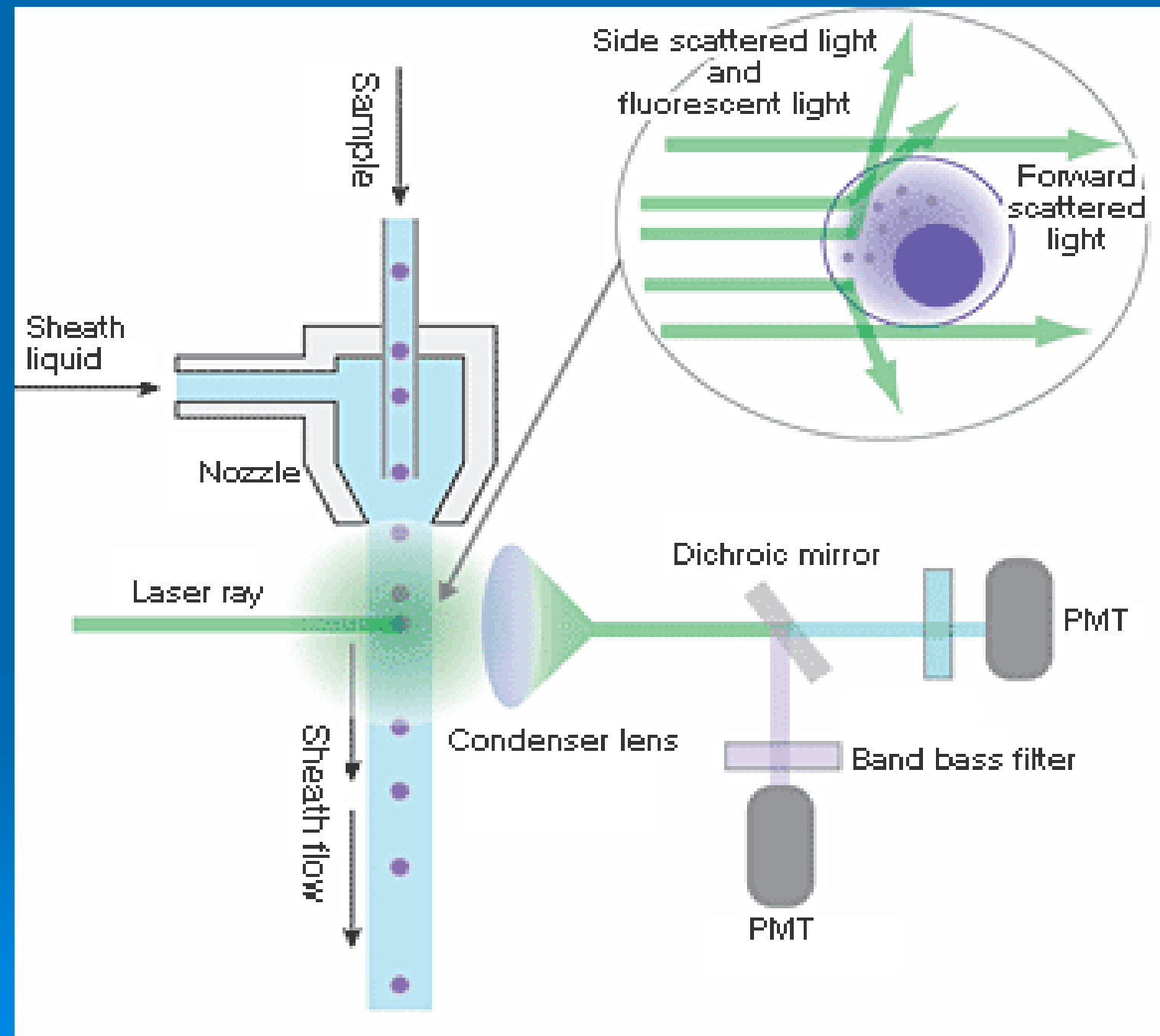
PACIENT	Č. CHOR.
KREVŇÍ VZOREK PŘÍJEMCE 	výsledná krevní skupina B
VZOREK KREVŇÍ KONZERVY 	výsledná krevní skupina B

Cytochemie

- Průkaz látek v buňkách pomocí chemických reakcí, hodnocení **periferní krve** i **kostní dřeně**
- **Reakce na železo (Perlsova reakce)**
 - průkaz železa v erytroblastech (sideroblasty), erytrocytech (siderocyty) a makrofázích (siderofágy)
- **Vyšetření některých enzymů (ALP, NE)**
 - dg. a dif. dg. hematologických malignit

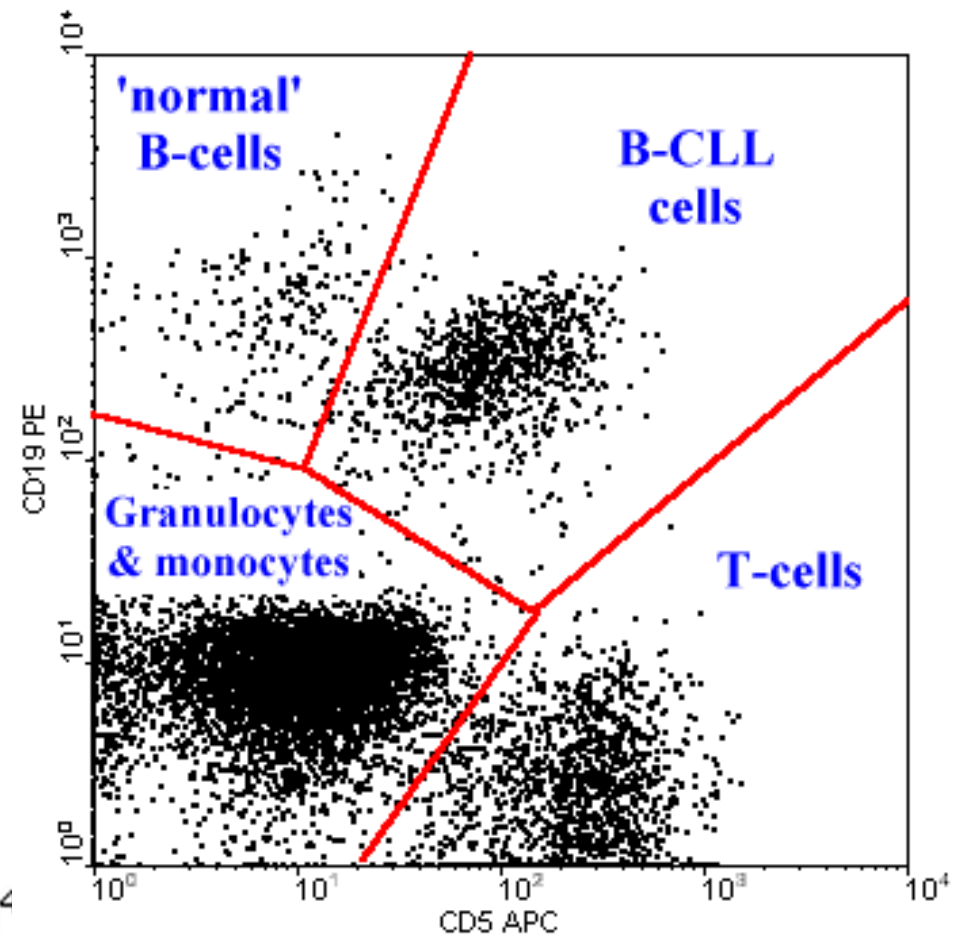
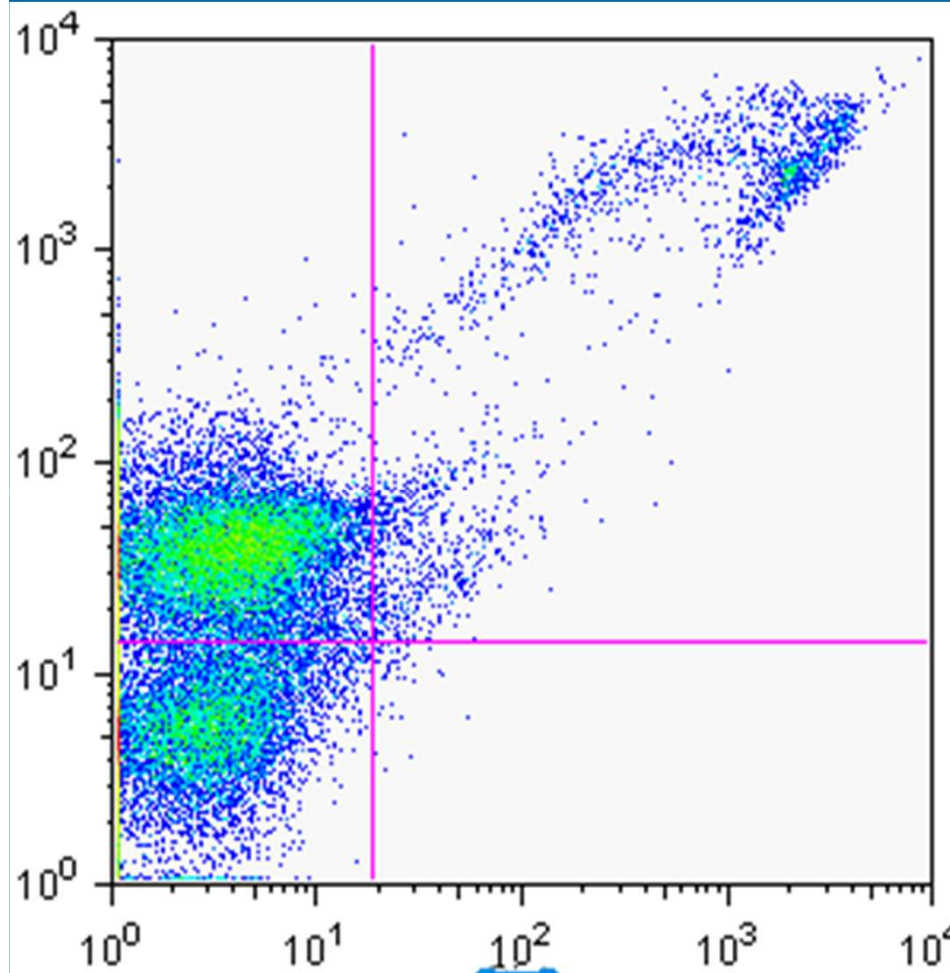
Průtoková cytometrie (flow cytometry)

- technika umožňující kvantitativně i kvalitativně **analyzovat částice – buňky – v suspenzi**. Umožňuje cíleně separovat buňky na základě jejich fyzikálních a chemických vlastností
- **FACS** (Fluorescence-activated-cell-sorting) - třídění buněčné suspenze dle odlišného rozptylu světla a fluorescenční charakteristiky buňky



➤ Užití v hematologii:

imunofenotypizace myeloproliferací a lymfoproliferací pomocí fluorescenčně značených monoklonálních protilátek



Bez copyright-u/ Upozornění/ Varování

seminář

Kolektivní editace, ...Petr Maršálek, a další...

1. lékařská fakulta UK Praha,
Ústav patologické fyziologie

upozornění: tato prezentace
(verze PPT, PDF, či jiná)
není oficiální studijní material

Nevlastníme žádné z použitých obrázků. Zdroj obrázků - internet