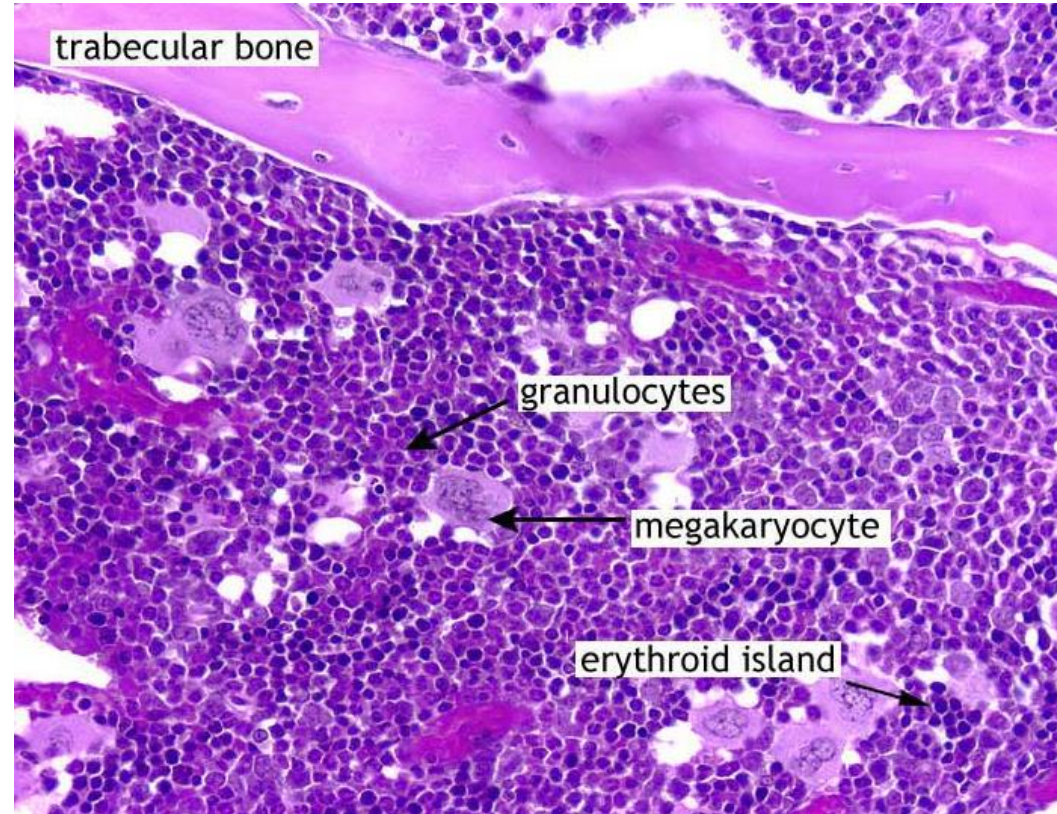
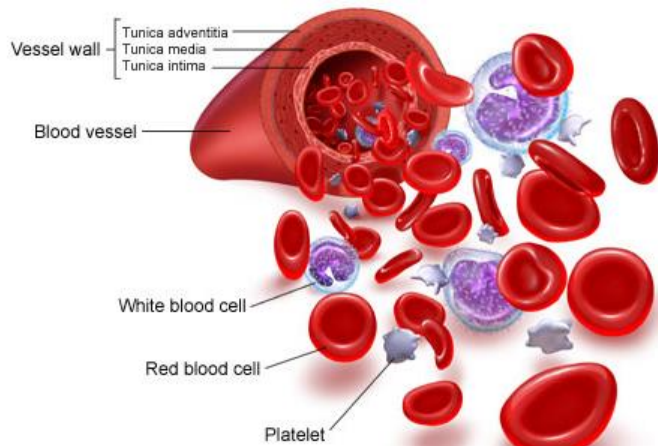
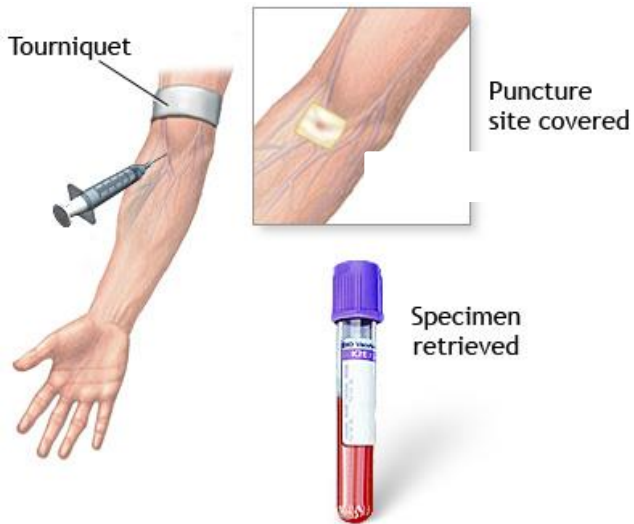


Γενική αίματος και φυσιολογικός αιμοποιητικός μυελός



Αργύρης Συμεωνίδης
Απαρτιωμένη διδασκαλία Αιματολογίας 2016

Γενική αίματος

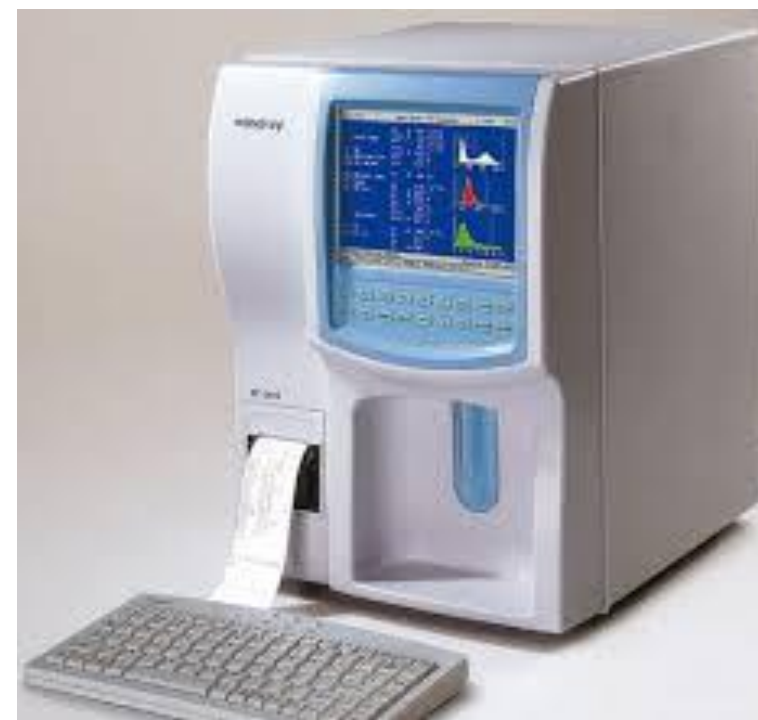
Ορισμός

Η περιγραφική αποτύπωση μίας αντιπροσωπευτικής εικόνας του αίματος, με βάση συγκεκριμένες αριθμητικές και ποιοτικές παραμέτρους των εμμόρφων του στοιχείων.



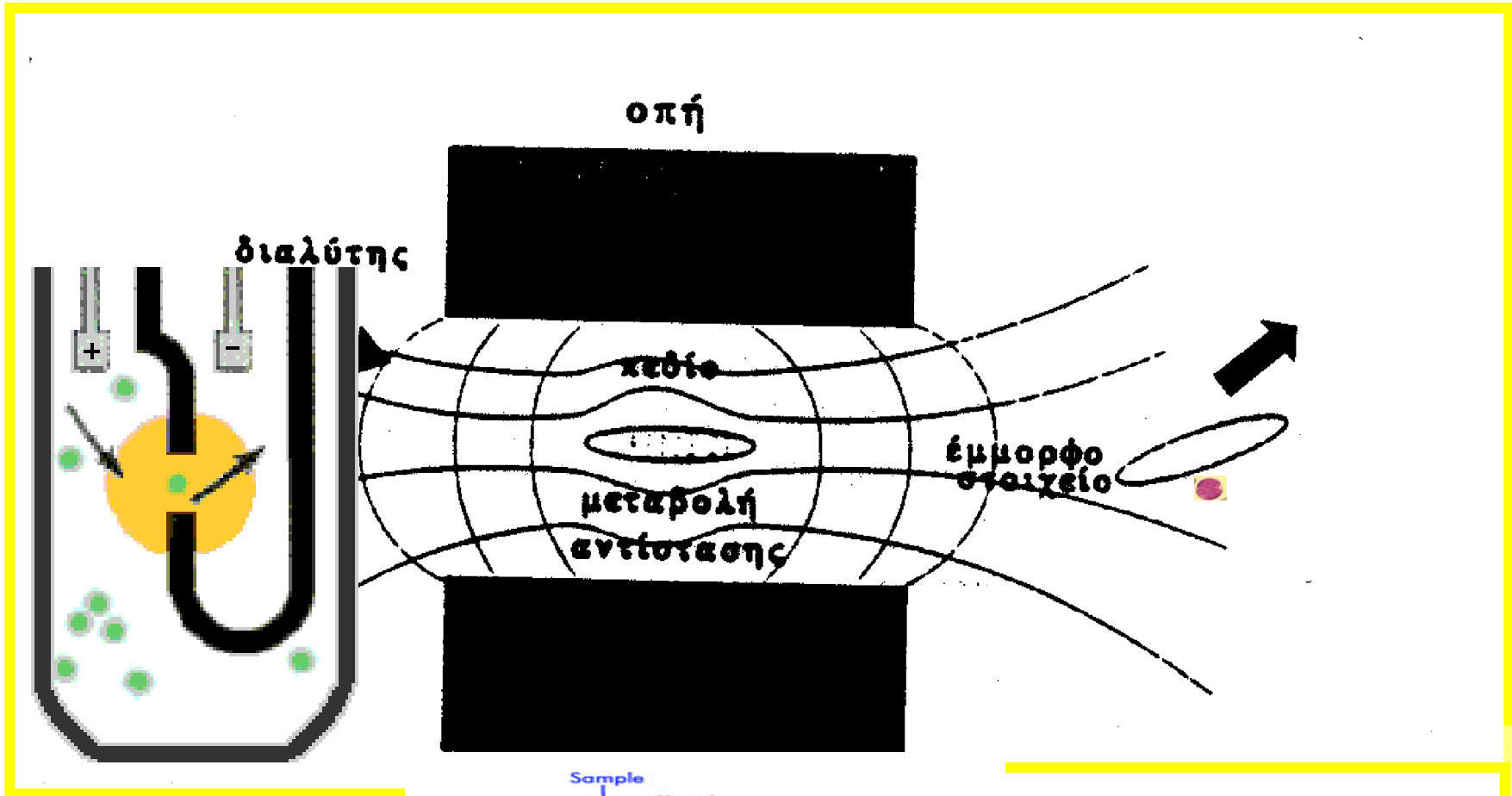
Γενική αίματος

Laser light
scattering technology

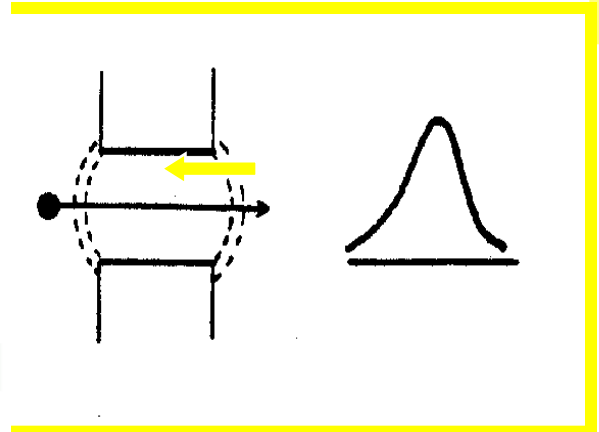
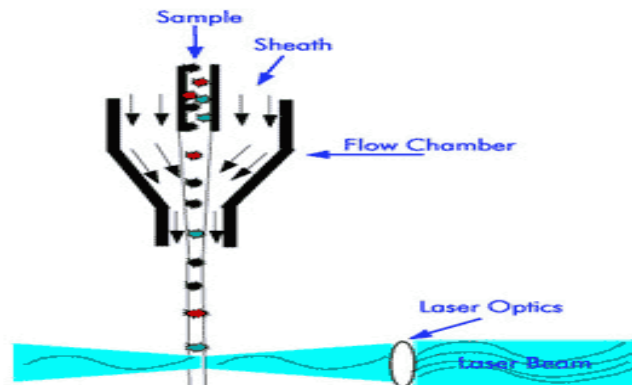


- Καταμέτρηση των εμμόρφων στοιχείων του αίματος (ερυθρών, λευκών αιμοσφαιρίων και αιμοπεταλίων και λευκοκυτταρικός τύπος)
- Παραμετροποίηση βιολογικών και μορφολογικών χαρακτηριστικών των ερυθροκυττάρων (**μέγεθος, περιεκτικότητα και πυκνότητα αιμοσφαιρίνης, ομοιομορφία μεγέθους, % δικτυοερυθροκυττάρων**) των κοκκιοκυττάρων (πολυπλοκότητα πυρήνα, παρουσία και ιδιότητες κυτταροπλασματικών κοκκίων) και των αιμοπεταλίων (μέγεθος, ομοιομορφία μεγέθους)

Αρχή λειτουργίας αυτόματου αιματολογικού αναλυτή



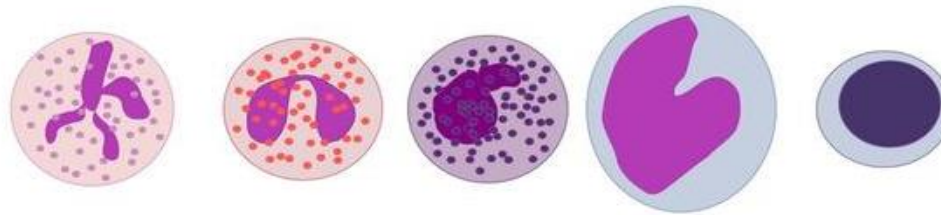
- Καταμέτρηση αριθμού κυττάρων
- Όγκος κυττάρου



Φυσιολογικές απόλυτες τιμές των εμμόρφων στοιχείων του αίματος

- Λευκοκύτταρα (WBC) 4.0 – 10.0 $\times 10^9$ /Lt
- Αιμοπετάλια (PLT) 150 – 400 $\times 10^9$ /Lt
- **Ερυθροκύτταρα (RBC)**
♂: 5.2 ± 0.6 , ♀: $4.5 \pm 0.7 \times 10^6$ /μl 4.6 – 5.8 $\times 10^6$ /μl (άνδρες)
3.9 – 5.2 $\times 10^6$ /μl (γυναίκες)
- **Αιμοσφαιρίνη:**
♂: 15.1 ± 1.7 , ♀: 13.9 ± 1.6 g/dl 12 – 16 g/dl (γυναίκες)
13 – 17.5 g/dl (άνδρες)
- **Αιματοκρίτης:**
♂: $47 \pm 5\%$, ♀: $42 \pm 5\%$ 42 – 52% (άνδρες)
37 – 48% (γυναίκες)
- **Μέσος όγκος ερυθρών** 80-95 fl (10^{-15})Lt
- **Μέση περιεκτικότητα Hb** 27-32 pg
- **Εύρος κατανομής ερυθρών** 12-16%

Λευκοκυτταρικός τύπος



Λευκοκυτταρικός τύπος είναι η ποσοστιαία αναλογία των υποπληθυσμών των λευκοκυττάρων επί του συνόλου

Καταμέτρηση λευκοκυτταρικών υποπληθυσμών

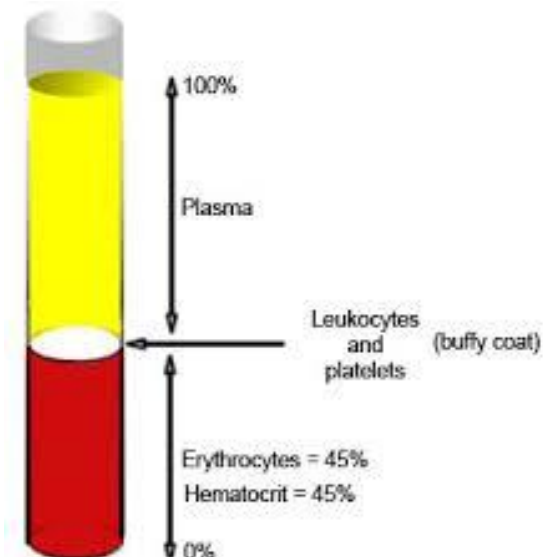
- Ποσοστά
- Απόλυτες τιμές

- Ουδετερόφιλα (NEUT)
- Λεμφοκύτταρα (LYMPH)
- Μονοκύτταρα (MONO)
- Ηωσινόφιλα (EO)
- Βασεόφιλα (BASO)

Διάκριση των εμπύρηνων ερυθρών

Παράμετροι που αποτελούν δείκτες της μάζας των ερυθροκυττάρων

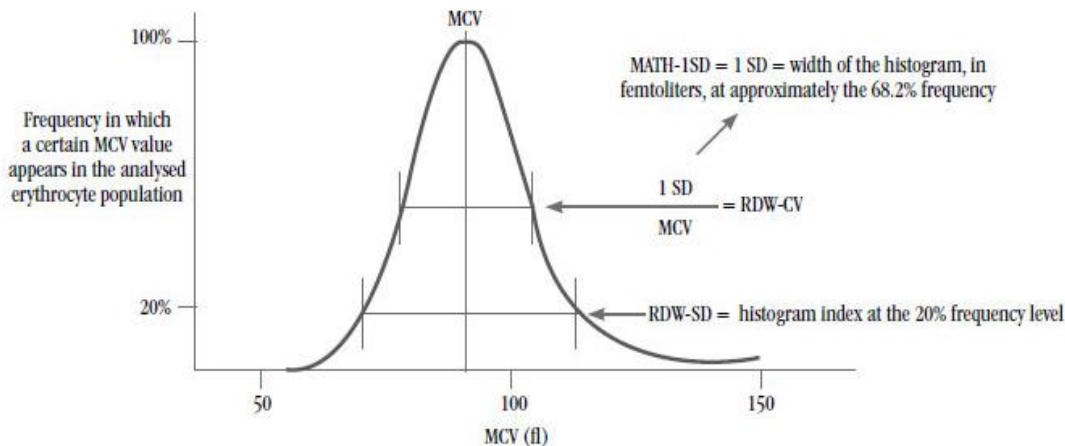
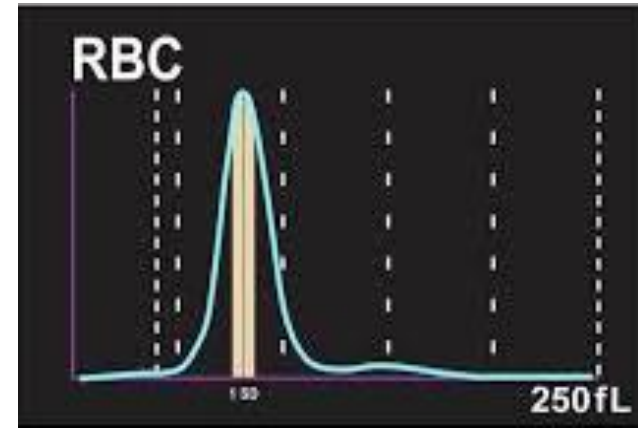
- Μέτρηση αιμοσφαιρίνης (Hb) (g/dl) (φωτομετρικά): **μικρό πιθανό σφάλμα**
- Μέτρηση αιματοκρίτη (Ht) (%)
Η ποσοστιαία αναλογία της μάζας των ερυθρών σε σχέση με τον συνολικό όγκο αίματος
- Στην αυτόματη ανάλυση **$Ht = RBC \times MCV \Rightarrow$** Λάθη στην μέτρηση του αριθμού των RBC ή του MCV αντανακλούν στο αποτέλεσμα του Ht



Ερυθροκυτταρικοί δείκτες

- Δείκτες που περιγράφουν μορφολογικά χαρακτηριστικά των ερυθρών

- **MCV** = Μέσος όγκος ερυθροκυττάρων
- **MCH** = Μέση περιεκτικότητα Hb/ερυθρ.
- **MCHC** = Μέση πυκνότητα αιμοσφαιρίνης
- **RDW** = Εύρος κατανομής ερυθροκυττάρων



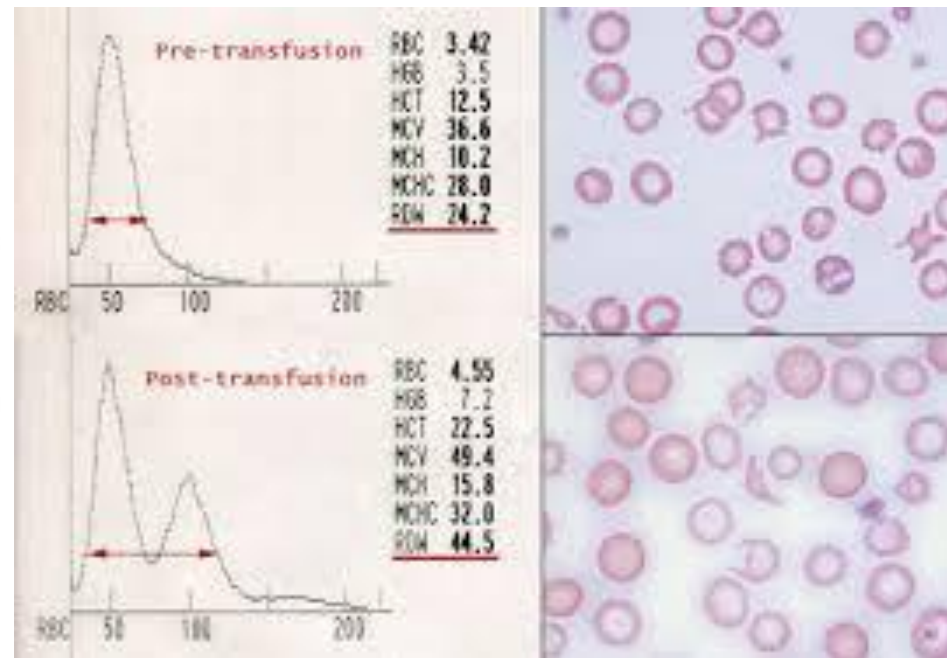
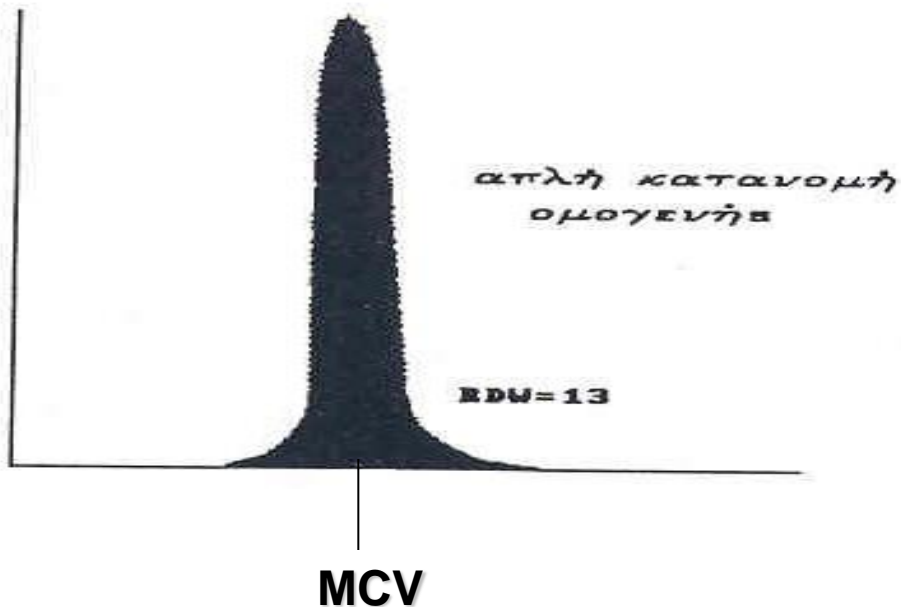
Ο αιματολογικός αναλυτής μετρά μόνο 2 παραμέτρους: αριθμό ερυθροκυττάρων και MCV

MCV (Mean corpuscular volume)

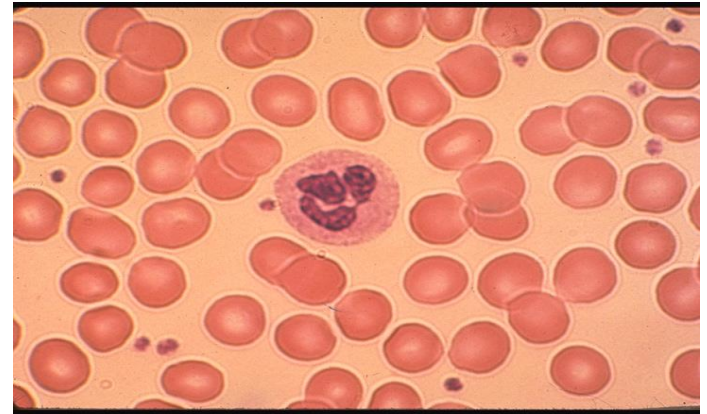
Μέσος όγκος ερυθρών

Φυσιολ. τιμές 88 ± 7 fl (L^{-15})

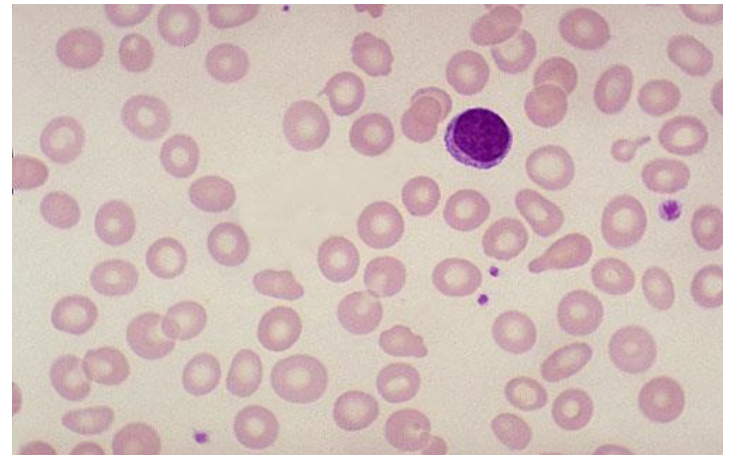
Απλός και διπλός ερυθροκυτταρικός πληθυσμός



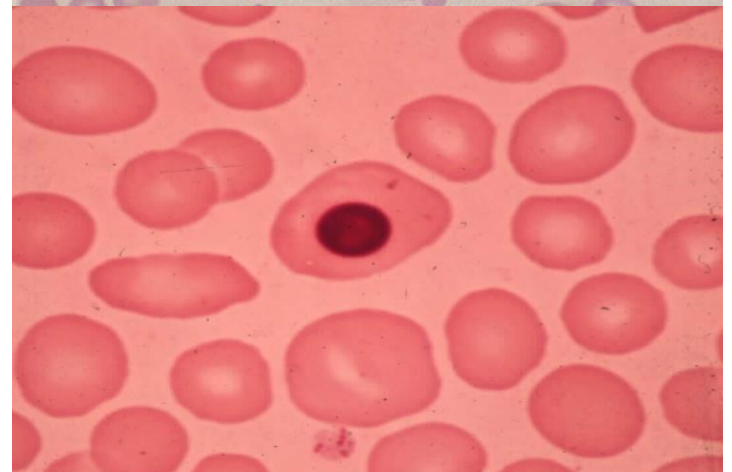
MCV κφ (80-95 fl)
ορθοκυτταρικά ερυθρά



MCV ↓ (< 80 fl)
μικροκυτταρικά ερυθρά



MCV ↑ (> 95 fl)
μακροκυτταρικά ερυθρά



MCH

(Mean corpuscular hemoglobin)

μέση περιεκτικότητα Hb 30 ± 2.5 pg (27-32.5 pg)

$$\text{MCH} = \text{Hb/RBC}$$

MCHC

(Mean corpuscular hemoglobin concentration)

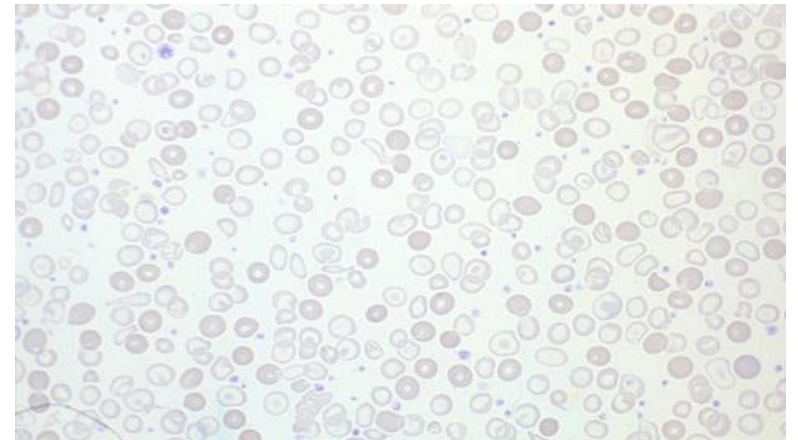
μέση πυκνότητα Hb $32 \pm 2\%$ (30-34%)

$$\text{MCHC} = \text{Hb/Ht}$$

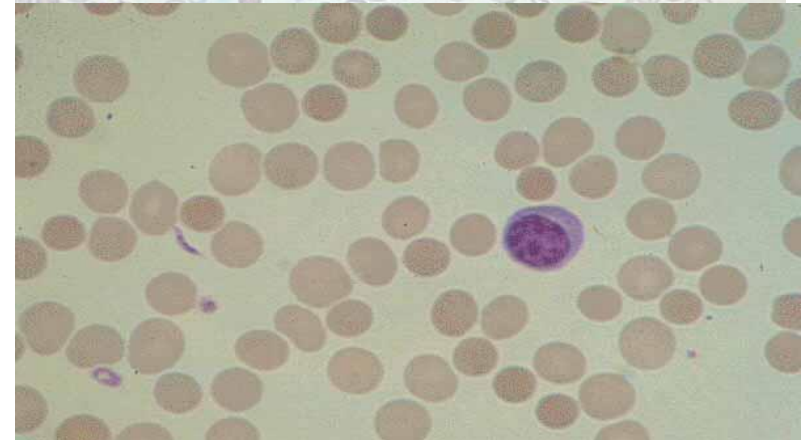
MCH, MCHC κ.φ.
ορθόχρωμα ερυθρά



MCH, MCHC ↓
υπόχρωμα ερυθρά

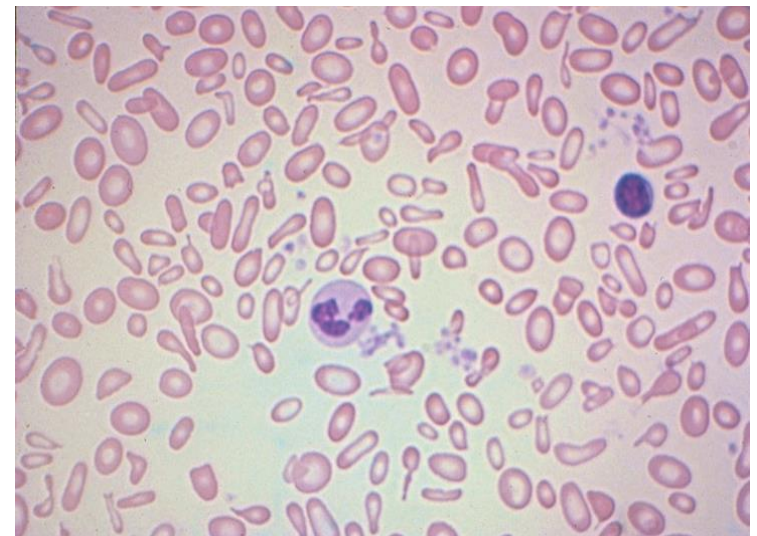
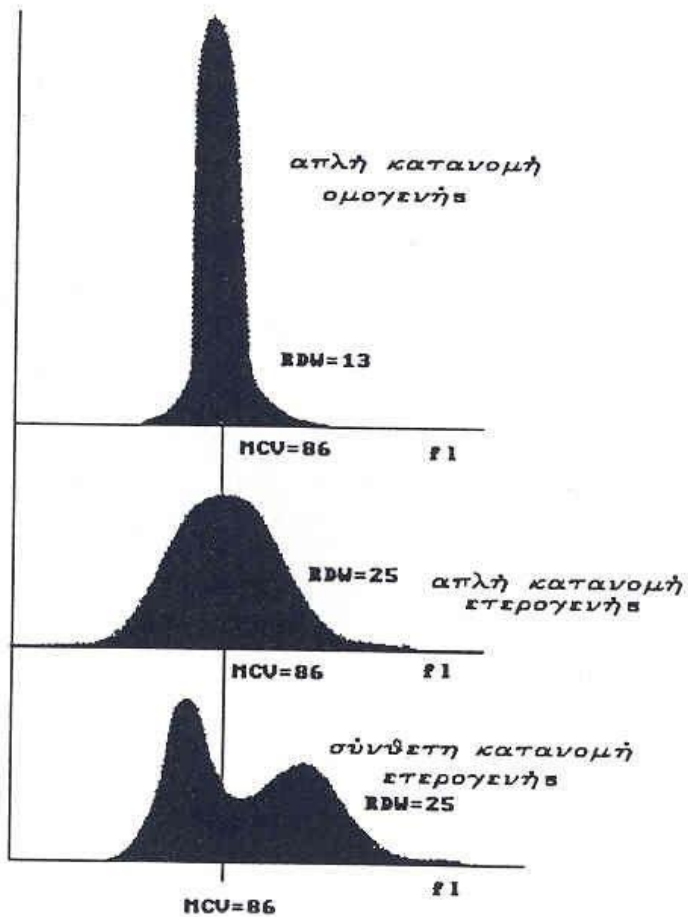


MCH, MCHC ↑
υπέρχρωμα ερυθρά



RDW (Red Cell Distribution Width) Εύρος κατανομής ερυθρών (12-16%)

ΣΧΕΤΙΚΟΣ ΑΡΙΘΜΟΣ

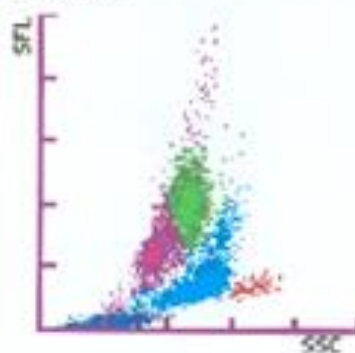


Diff. Morph.
Count

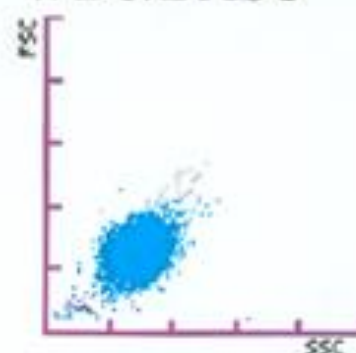
WBC &	12.39 *	[10 ³ /uL]
RBC	2.26 -	[10 ⁶ /uL]
HGB	6.7 -	[g/dL]
HCT	19.1 -	[%]
MCV	84.5 -	[fL]
MCH	29.6	[pg]
MCHC	35.1	[g/dL]
PLT	59 *	[10 ³ /uL]
RDW-SD	47.4	[fL]
RDW-CV	15.6	[%]
PDW	16.7 *	[fL]
MPV	12.1 *	[fL]
P-LCR	40.5 *	[%]
PCT	0.07 *	[%]
NEUT	7.68 *	[10 ³ /uL]
LYMPH	1.91 *	[10 ³ /uL]
MONO	2.62 *	[10 ³ /uL]
EO	0.15 *	[10 ³ /uL]
BASO	0.03 *	[10 ³ /uL]
NRBC	0.13 *	[10 ³ /uL]
RET	1.90	[%]
IRF	31.5	[%]
LFR	68.5	[%]
MFR	22.7	[%]
HFR	8.8	[%]

62.1 *	[%]
15.4 *	[%]
21.1 *	[%]
1.2 *	[%]
0.2 *	[%]
1.0 *	[/100WBC]
0.0429	[10 ⁶ /uL]

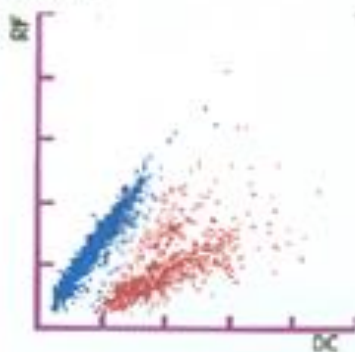
DIFF



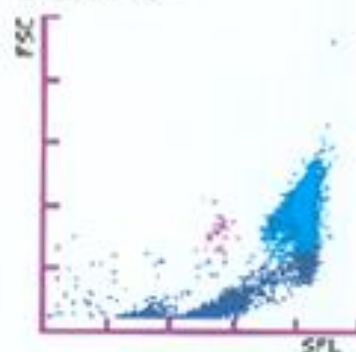
WBC/BASO



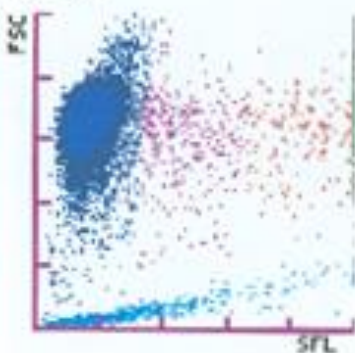
IMI



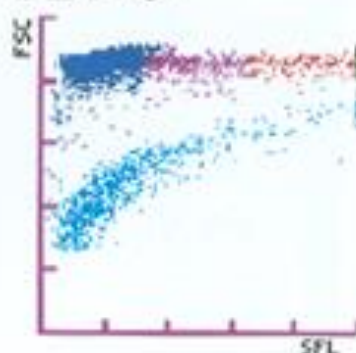
NRBC



RET

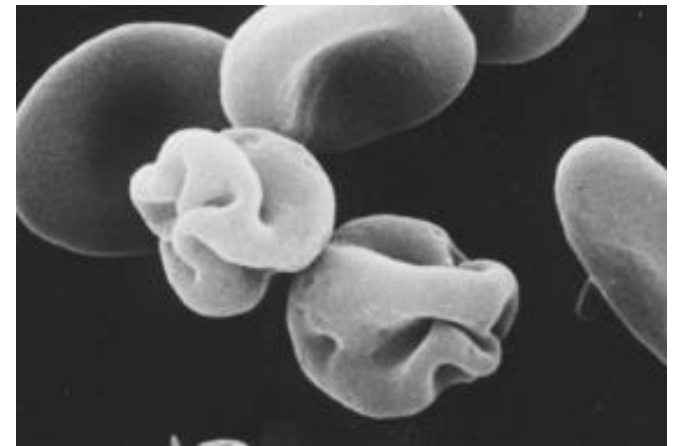
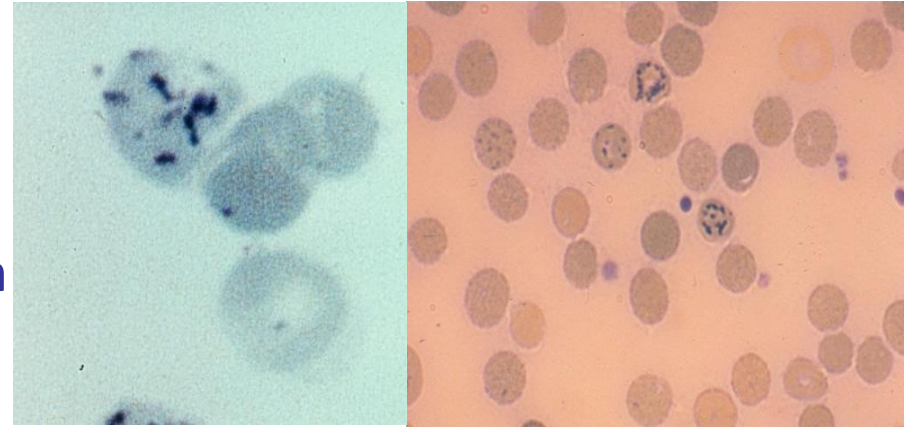


PLT-O



Δικτυοερυθροκύτταρα (ΔΕΚ): φυσιολογικά 25-100.000/μl

- Τελευταίο στάδιο διαφοροποίησης πριν το ώριμο ερυθροκύτταρο
- Περιέχουν πολυριβοσώματα και συνθέτουν αιμοσφαιρίνη
- Χρόνος ζωής στο περιφ. αίμα 24-36 h
- Αντικατοπτρίζουν την ερυθροποιητική δραστηριότητα του μυελού
- Μετρώνται στο επίχρισμα σαν % επί του συνόλου των ερυθροκυττάρων
- Αντιπροσωπευτικότερη η **απόλυτη τιμή τους = % ΔΕΚ x αριθ. ερυθρών/μl**
< 25000/μl => **Υποπλασία ερ.σειράς**
>100000/μl => **Υπερπλασία ερ.σειράς**



Σκοπός της γενικής αίματος

- Η αποτύπωση του προφίλ των εμμόρφων στοιχείων του αίματος μια δεδομένη χρονική στιγμή
- Η ανίχνευση αριθμητικών αποκλίσεων στους φυσιολογικούς πληθυσμούς του αίματος
- Ανίχνευση ποιοτικών διαταραχών της ερυθράς σειράς και η συσχέτισή τους με υποκείμενες παθολογικές καταστάσεις
- Ανίχνευση και η ποσοτικοποίηση παθολογικών κυτταρικών πληθυσμών λευκών αιμοσφαιρίων

Ορισμοί αριθμητικών αποκλίσεων

Αύξηση του αριθμού των λευκοκυττάρων στο περιφερικό αίμα

- **Ουδετεροφιλία** (αρ. ουδετεροφίλων > 7500/μl)
- **Λεμφοκυττάρωση** (αρ. λεμφοκυττάρων > 3500/μl)
- **Μονοκυττάρωση** (αρ. μονοκυττάρων > 1000/μl)
- **Ηωσινοφιλία** (αρ. ηωσινοφίλων > 500/μl)
- **Βασεοφιλία** (αρ. βασεοφίλων > 200/μl)

Αύξηση αριθμού αιμοπεταλίων

- **Θρομβοκυττάρωση** (αρ. αιμοπεταλίων > 400,000/μl)

Αύξηση αριθμού ερυθροκυττάρων

- **Ερυθροκυττάρωση** (αιμοσφαιρίνη >17.5 g/dl για άνδρες)
(αιμοσφαιρίνη >16.0 g/dl για γυναίκες)

Ορισμοί αριθμητικών αποκλίσεων

Μείωση του αριθμού των λευκών στο περιφερικό αίμα

- **Ουδετεροπενία** (αρ. ουδετεροφίλων <2000/μl)
- **Λεμφοπενία** (αρ. λεμφοκυττάρων < 750/μl)
- **Μονοκυτταροπενία** (αρ. μονοκυττάρων < 100/μl)

Μείωση του αριθμού αιμοπεταλίων

- **Θρομβοπενία** (αρ. αιμοπεταλίων <150,000/μl)

Μείωση της **μάζας** (όχι μόνο του αριθμού) των ερυθροκυττάρων

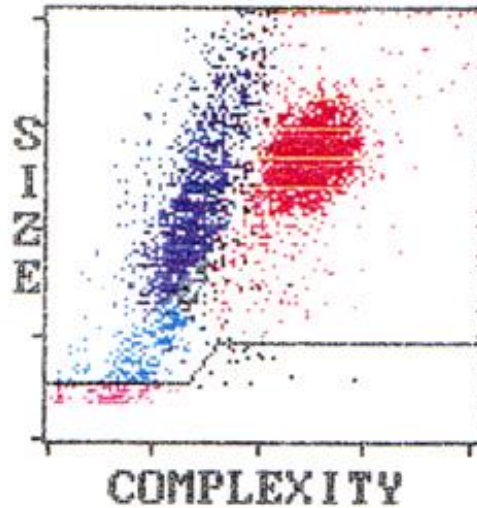
- **Αναιμία** Hb < 13 g/dl για άνδρες)
Hb < 12 g/dl για γυναίκες)

Περαιτέρω εργαστηριακή διερεύνηση επί παθολογικών ευρημάτων στη γενική αίματος

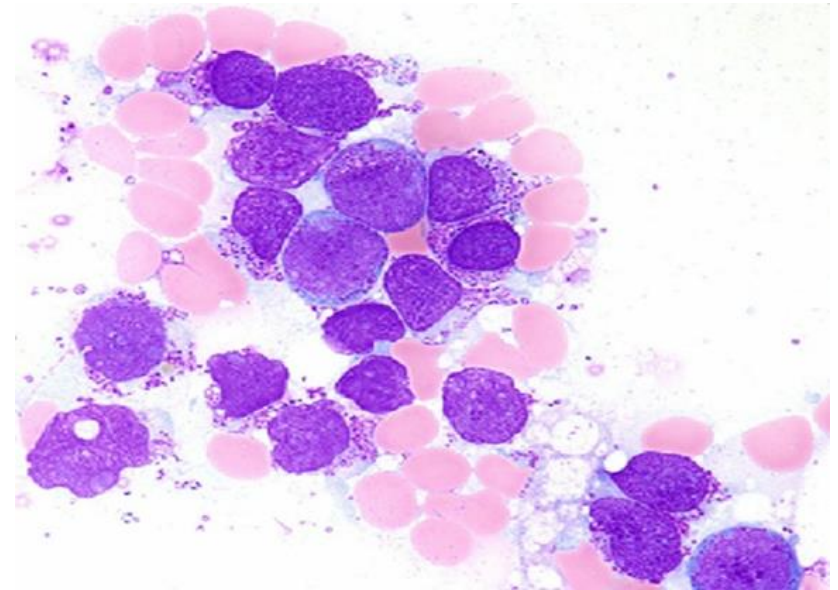
- ⇒ Εκτίμηση της μορφολογίας των κυττάρων του περιφερικού αίματος
- ⇒ Μέτρηση δικτυοερυθροκυττάρων
- ⇒ Μέτρηση παραμέτρων που επηρεάζουν την αιμοποιητική λειτουργία
 - Παράμετροι σιδήρου (Fe, TIBC, κορεσμός τρανσφερρίνης, φερριτίνη)
 - Αξιολόγηση λειτουργίας γονιδίων σύνθεσης αιμοσφαιρίνης (ΗΛ. Hb)
 - Αξιολόγηση παραμέτρων φλεγμονής
 - Αξιολόγηση νεφρικής και ηπατικής λειτουργίας
- ⇒ Αξιολόγηση του αιμοποιητικού οργάνου (αιμοποιητικού μυελού)
 - Μορφολογική εκτίμηση επιχρίσματος μυελού
 - Κυτταροχημεία επιχρισμάτων μυελού
 - Ανοσοφαινότυπος ολικού μυελού και κυτταρικών πληθυσμών
 - Κυτταρογενετική ανάλυση μυελού
 - Κατευθυνόμενες μοριακές αναλύσεις μυελού με FISH, PCR κλπ.
 - Οστεομυελική βιοψία
 - Ανοσοϊστοχημεία μυελού

Επίχρισμα περιφερικού αίματος

WBC	60.1	K/uL		
NEU	5.96	59.2	%N	
LYM	.473	4.69	%L	
MONO	3.25	32.3	%M	
EOS	.012	.123	%E	
BASO	.375	3.73	%B	
RBC	2.90	M/uL		
HGB	8.20	g/dL		
HCT	23.8	%		
MCV	82.3	fL		
MCH	28.3	pg		
MCHC	34.4	g/dL		
RDW	17.6	%		
PLT	23.8	K/uL		
MPV	>>>>	fL		



Η μορφολογία στο επίχρισμα επιβεβαιώνει την κλινική υποψία για χρόνια μυελογενή λευχαιμία



Η γενική αίματος θέτει την υπόνοια παρουσίας παθολογικού πληθυσμού κοκκιοκυττάρων

Περαιτέρω διερεύνηση

Αύξηση ενός
υποπληθυσμού με
χαρακτηριστικά
φυσιολογικών
λεμφοκυττάρων

**Ανοσοφαινότυπος
περιφερικού αίματος**

Παρουσία **παθολογικού
λευκοκυτταρικού πληθυσμού**

ανοσοφαινότυπος

Μυελόγραμμα

Βιοψία μυελού

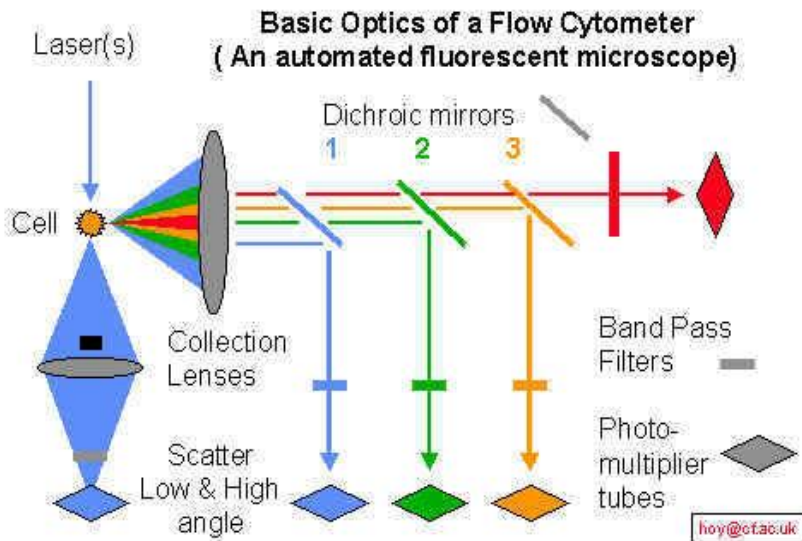
Καρυότυπος

Αναζήτηση μοριακών
βλαβών στο γενετικό υλικό

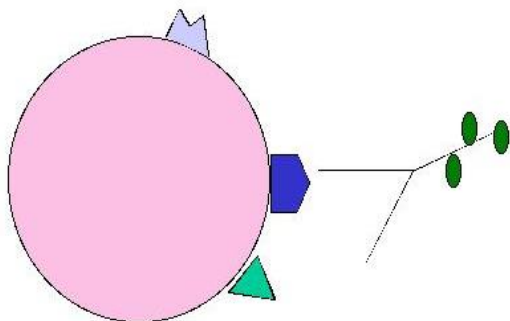
Ανοσοφαινότυπος κυτταρικού πληθυσμού

- **Ορισμός:** Ο χαρακτηρισμός των κυττάρων ενός εναιωρήματος (αίμα, μυελός, υγρό κοιλότητας) βάσει των αντιγόνων της κυτταρικής επιφάνειας, του κυτταροπλάσματος, της πυρηνικής μεμβράνης ή του πυρήνα, με τη χρήση ειδικών μονοκλωνικών αντισωμάτων.
- Χαρακτηρισμός λειτουργικής κατάστασης φυσιολογικών λεμφοκυττάρων (ήρεμα, διεγερμένα)
- Ποσοστά και απόλυτοι αριθμοί λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών (B-, NK, T-βοηθητικά, T-κυτταροτοξικά κλπ)
- Χαρακτηρισμός παθολογικών κυττάρων (π.χ. λεμφοβλάστες)
- Ποσοτικοποίηση συγκεκριμένου πληθυσμού

Κυτταρομετρητής ροής



Direct staining

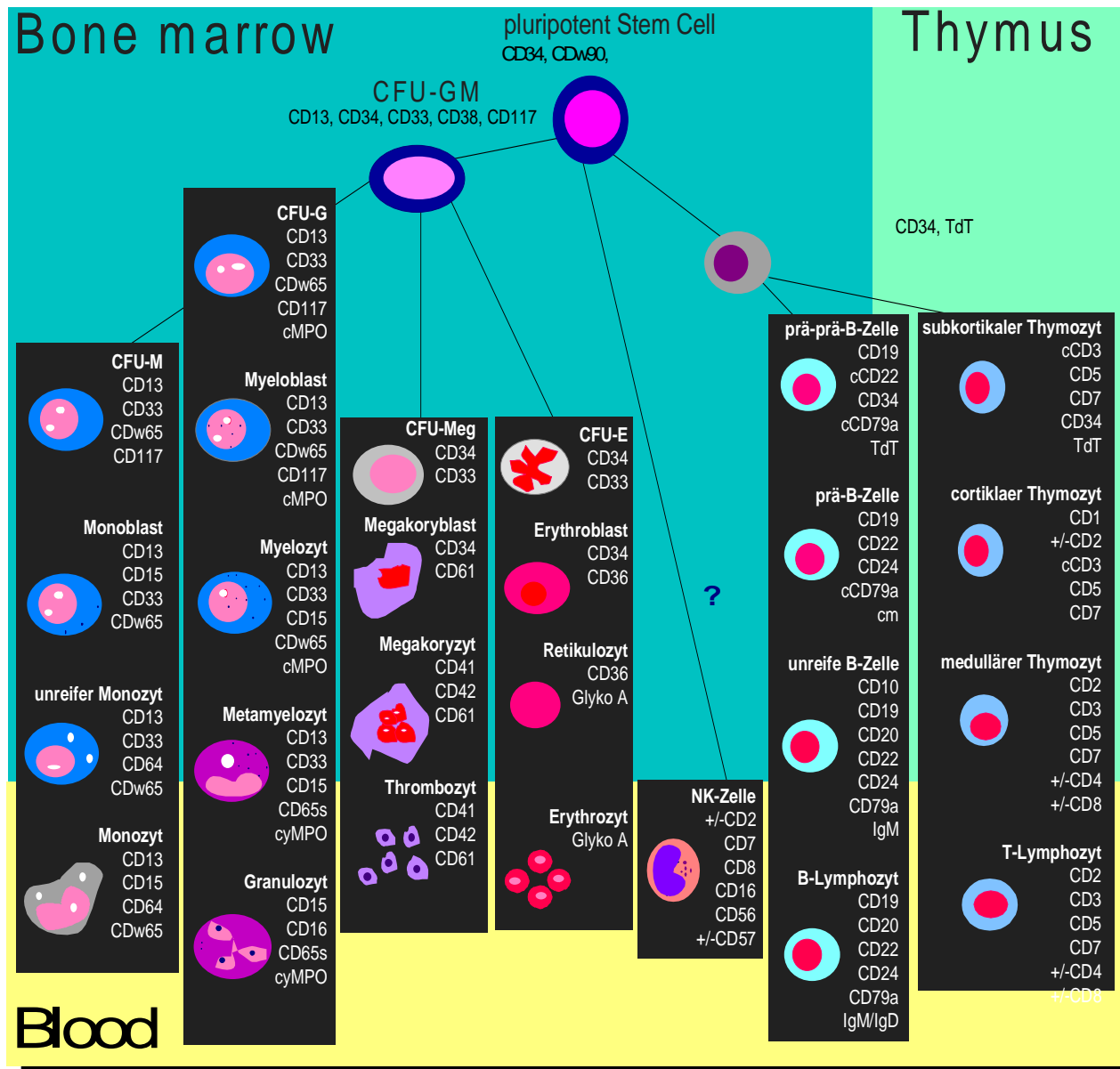


- Fluorescent probe attached to antibody
- Specific signal: weak, 3dyes/site
- Nonspecific binding: low

Αντισώματα

Ταυτόχρονη χρήση μέχρι και 8 διαφορετικών αντισωμάτων, συνδεδεμένων με διαφορετικό χρώμα

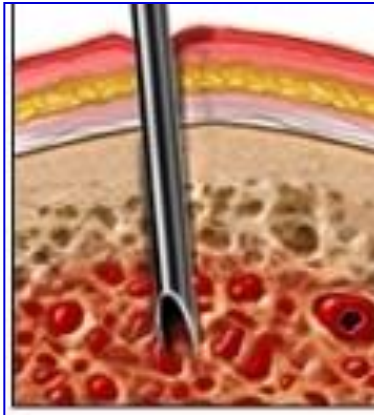
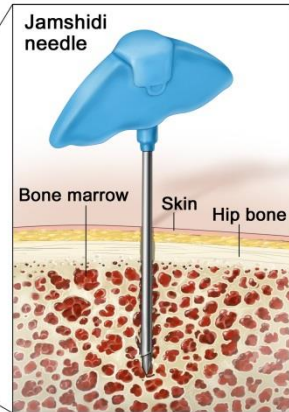
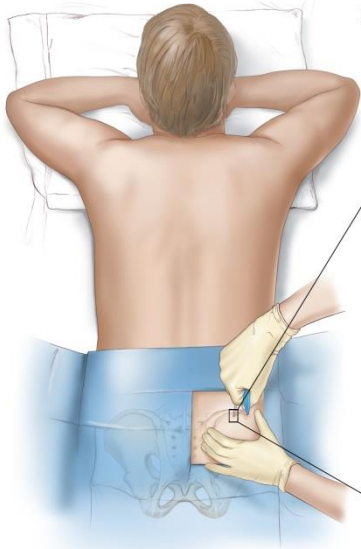
CD (Cluster Designation) αντιγόνα



- **B-λεμφ:** CD10, CD19, CD20, CD23, cytopl. CD79a
- **T-λεμφ:** CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD25
- **Διεγερμένα T:** CD25, CD45, HLA-DR
- **NK-κύτταρα:** CD16, CD56, CD57, HNK-1
- **Πλασματοκύτταρα:** CD38, CD138
- **Stem cells:** CD34, CD38
- **Μυελική σειρά:** CD11b, CD13, CD15, CD33
- **Μονοκυτταρική σειρά:** CD64, CD14
- **Ερυθρά σειρά:** CD71, Gly-A
- **MKK σειρά:** CD41, CD61

Μυελόγραμμα και οστεομυελική βιοψία

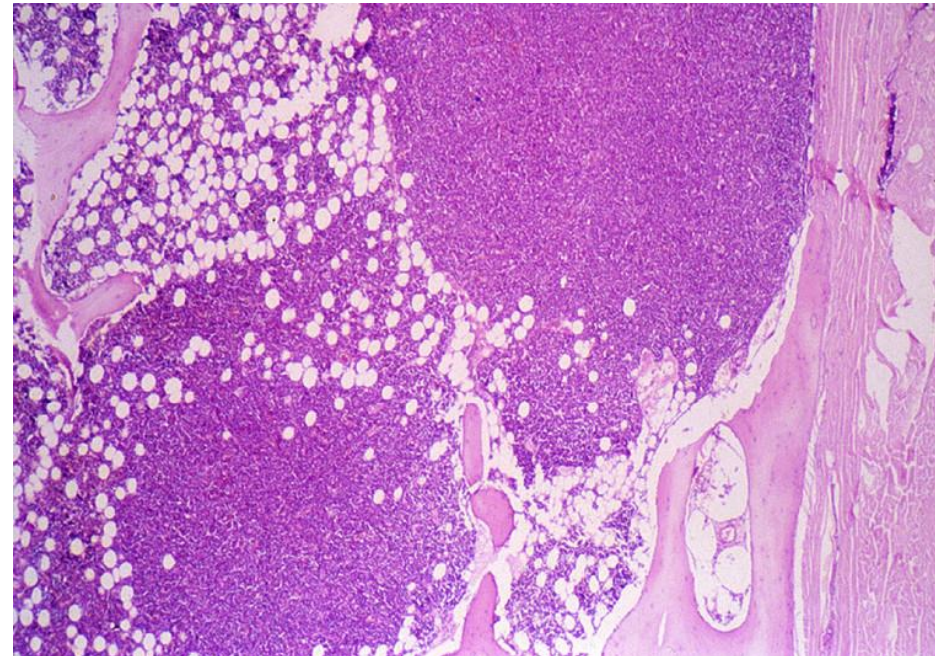
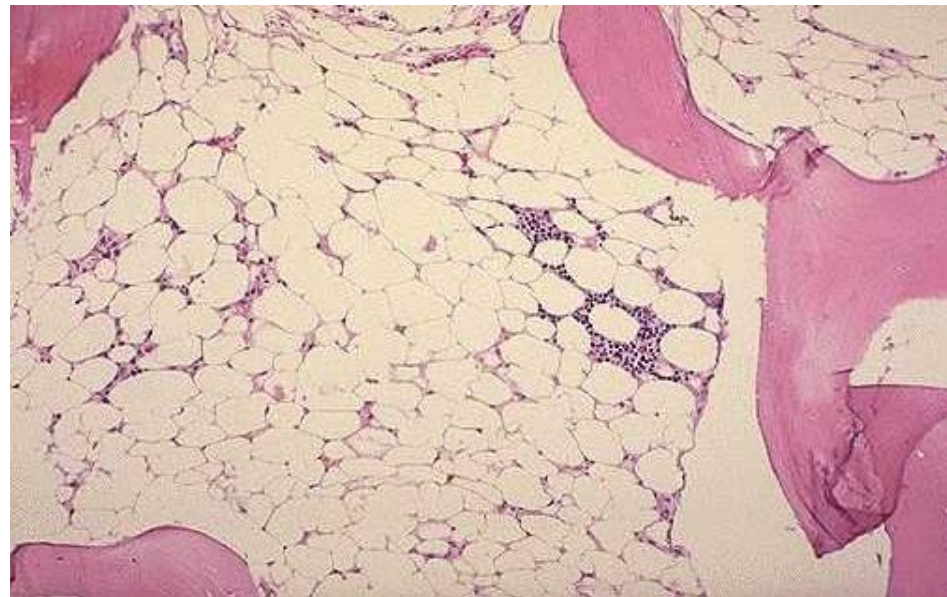
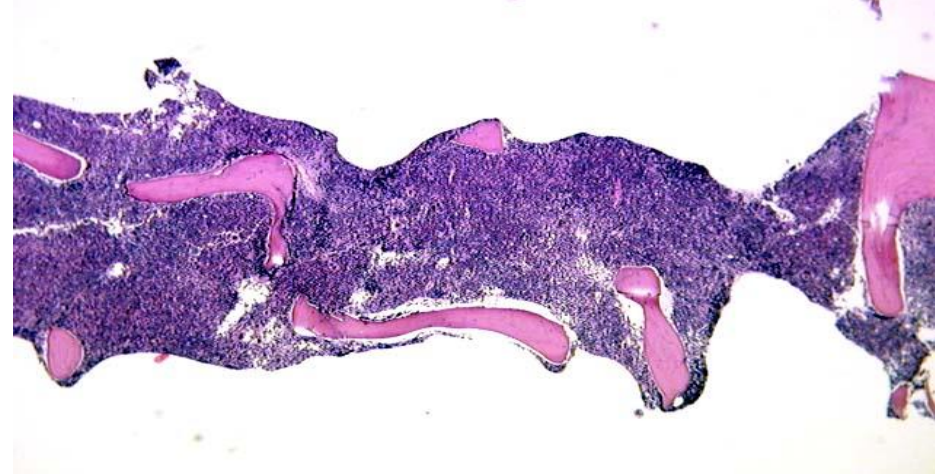
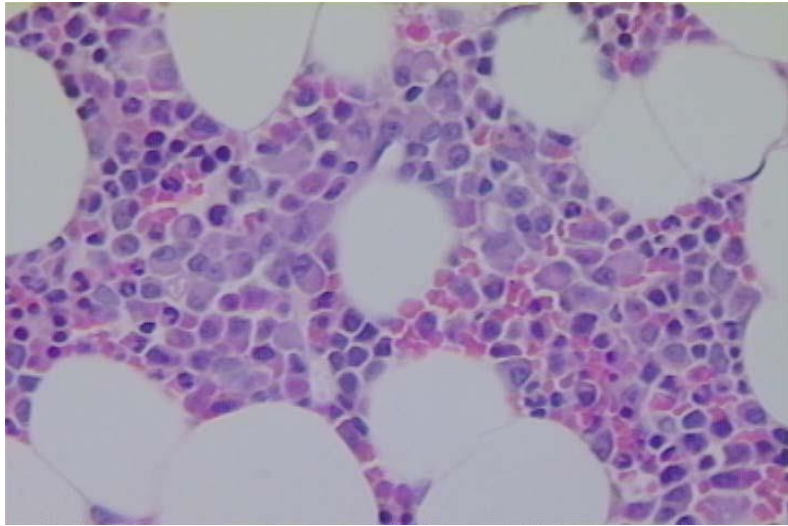
Bone Marrow Aspiration and Biopsy



Ενδείξεις εξέτασης μυελού

- διερεύνηση αναιμίας με χαμηλά ΔΕΚ
- διερεύνηση >1 κυτταροπενιών
- διερεύνηση ασθενών με παθολογικά κύτταρα στο περιφερικό αίμα
- Λήψη καλλιεργείων, αναζήτηση παρασίτων
- Σταδιοποίηση λεμφοϋπερπλασιών
- Παρουσία παραπρωτεΐνης στον ορό

Μυελόγραμμα και οστεομυελική βιοψία: κυτταροβρίθεια του μυελού



Μυελόγραμμα

Περιγραφική αναλυτική έκθεση των ευρημάτων από ένα επίχρισμα μυελού. Περιγράφονται:

- Ο λόγος πραγματοποίησης του μυελού, η ημερομηνία λήψης, η ευκολία / δυσκολία αναρρόφησης και τι άλλες εξετάσεις πραγματοποιήθηκαν από τον ίδιο μυελό την ίδια χρονική στιγμή.
- Η κυτταροβρίθεια του μυελού.
- Η εκατοστιαία αναλογία της ερυθράς και της κοκκιοκυτταρικής σειράς, και η μορφολογία των κυττάρων κάθε βαθμίδας ωρίμανσης.
- Το ποσοστό βλαστών του μυελού.
- Η μορφολογία και η ωρίμανση της μεγακαρυοκυτταρικής σειράς.
- Η αναλογία και η μορφολογία λεμφοκυττάρων, πλασματοκυττάρων, ηωσινοφίλων, βασεοφίλων, μαστοκυττάρων και μακροφάγων.
- Η τυχόν παρουσία εξωμυελικών κυττάρων ή παρασίτων.
- Η ποσότητα και η κατανομή του σιδήρου στην ειδική χρώση Fe μυελού.