

Προσέγγιση στη διάγνωση από το επίχρισμα του περιφερικού αίματος

Γιάννης Χρ. Μελέτης
Παθολόγος-Αιματολόγος
Αναπληρωτής Καθηγητής,
Α' Παθολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών
Νοσοκομείο "Γενικό Λαϊκό"

ΚΥΡΙΑ ΣΗΜΕΙΑ

- Η παρατήρηση του χρωσμένου επιχρίσματος του περιφερικού αίματος είναι πάντα απαραίτητο και αναγκαίο συμπλήρωμα της γενικής εξέτασης αίματος.
- Οι ερυθροκυτταρικοί δείκτες (μέσος όγκος ερυθρών, μέση πυκνότητα και μέση ποσότητα αιμοσφαιρίνης) είναι μέσες τιμές και έτσι με την παρατήρηση του επιχρίσματος θα έχουμε περισσότερες πληροφορίες, τόσο για το μέγεθος των ερυθρών, όσο και για την περιεκτικότητά τους σε αιμοσφαιρίνη, που έχουν σημαντική βοήθεια για τη διαγνωστική προσέγγιση.
- Η παρατήρηση ορισμένων μορφολογικά παθολογικών ερυθρών (σφαιροκύτταρα, ελλειπτοκύτταρα, δρεπανοκύτταρα, στοχοκύτταρα, ακανθοκύτταρα κλπ) βοηθά σημαντικά στην διαγνωστική προσέγγιση, ενώ από την κλασική γενική αίματος και τους ερυθροκυτταρικούς δείκτες η προσέγγιση θα ήταν μάλλον δύσκολη ή και αδύνατη.
- Επίσης με την καλή παρατήρηση του επιχρίσματος όσον αφορά τα λευκά, τον λευκοκυτταρικό τύπο και τα αιμοπετάλια, παρέχονται πληροφορίες για την φυσιολογική ή παθολογική μορφολογία των αιμοποιητικών κυττάρων, που συχνά θέτουν και τη διάγνωση, γεγονός που δεν το εξασφαλίζει πάντα η έκφραση του λευκοκυτταρικού τύπου ακόμα και με τους πιο τέλειους αυτόματους αναλυτές.
- Σημαντικά είναι η τεχνικά πολύ καλή επίστρωση, η κατάλληλη μονιμοποίηση και χρώση καθώς και η επιλογή των περιοχών παρατήρησης, για την αναλυτικότερη και πιο αντιπροσωπευτική μορφολογία των εμμόρφων στοιχείων του αίματος.

1. ΕΠΙΧΡΙΣΜΑ ΤΟΥ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

Όπως ήδη περιγράφηκε, μια μικρή σταγόνα αίματος τίθεται στην άκρη της αντικειμενοφόρου πλάκας και επιστρώνεται απαλά, ενώ ακολουθεί απαλή μετακίνηση της επίστρωσης, ώστε να επιτευχθεί ξήρανση της και στη συνέχεια η επίστρωση παραμένει για αρκετό χρόνο σε καθαρό περιβάλλον δωματίου, ώστε να αποξηρανθεί πλήρως για να αποφευχθούν έτσι οι διαταραχές του σχήματος των ερυθρών από τη μονιμοποίηση κατά την φάση της χρώσης. Κριτήρια καλής επίστρωσης είναι να έχει αυτή μια ομαλή λεπτή όψη, χωρίς την εμφάνιση πηγμάτων, κυματώσεων, κενών ή προεξοχών. Τα παραπάνω επιτυγχάνονται με ταχεία μετακίνηση της αντικειμενοφόρου πλάκας ή καλυπτρίδας μόνο υπό το βάρος τους και χωρίς εφαρμογή πίεσης κατά την επίστρωση. Η επίστρωση δεν θα πρέπει να εκτείνεται από το ένα άκρο της πλάκας στο άλλο και καλύτερα είναι να καταλαμβάνει όχι πάνω από το μισό του μήκους της αντικειμενοφόρου πλάκας. Με αυτόν τον τρόπο τα λευκά αιμοσφαίρια συνήθως διασπείρονται ομοιόμορφα σε όλη την έκταση της επίστρωσης και τα ερυθρά αιμοσφαίρια δεν επικαλύπτονται το ένα το άλλο και έτσι είναι δυνατή η καλή εκτίμηση της μορφολογίας τους. Όλα τα παραπάνω επιτυγχάνονται με την κατάλληλη πρακτική εξάσκηση και όταν η επίστρωση γίνει αμέσως μετά την επίθεση της σταγόνας του αίματος στην αντικειμενοφόρο πλάκα και πριν αρχίσει να ξηραίνεται ή να πήζει. Επίσης απαιτείται προσοχή ώστε η επίστρωση να μην αφήνεται πλησίον κάποιας πηγής θερμότητας, που θα έχει σαν αποτέλεσμα την ρίκνωση ή και την αιμόλυση των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Μετά την απαραίτητη ξήρανση της επίστρωσης, για να είναι άριστα τα αποτελέσματα της χρώσης του επιχρίσματος, θα πρέπει η διαδικασία της να αρχίσει τουλάχιστον μια ώρα μετά την τέλεση της επίστρωσης [1, 2].

1.1 Πηγές λάθους [1,2]

Αν η σταγόνα του αίματος για την επίστρωση είναι πολύ μεγάλη, τότε τα ερυθρά είναι δύσκολο να τοποθετηθούν το ένα δίπλα στο άλλο και συνήθως επικαλύπτονται, με αποτέλεσμα δυσκολία στην καλή εκτίμηση του μεγέθους τους, του σχήματος και της χρώσης τους, που είναι ουσιαστικές παράμετροι για την ορθή αξιολόγησή της. Αν η επίστρωση γίνει με εξάσκηση ικανής πίεσης διαταράσσεται η φυσιολογική μορφολογία τόσο των ερυθρών όσο και των λευκών αιμοσφαιρίων, ενώ μπορεί να διαταραχθεί και η κατανομή των λευκών και των αιμοπεταλίων στο επίχρισμα με συνάθροιση τους στο τέλος της επίστρωσης και ικανή διαταραχή της μορφολογίας τους.

Η χρήση ακάθαρτων πλακιδίων έχει σαν αποτέλεσμα την παραγωγή υβώσεων και αυλακώσεων στην επίστρωση, την μη καλή κατανομή των κυττάρων στην επίστρωση και την όχι καλή χρώση λόγω καθίζησης της χρωστικής.

Μετά την τέλεση της επίστρωσης θα πρέπει να αναγράφεται αμέσως το όνομα του αρρώστου, ο θάλαμος και η ημερομηνία τέλεσης, με μολύβι στο παχύ μέρος της επίστρωσης ή στην κατάλληλη για τούτο θέση ορισμένων πλακαδίων.

Θα πρέπει να αποφεύγεται η επίστρωση αίματος που έχει ήδη τεθεί σε αντιπηκτικό, επειδή πολλά αντιπηκτικά όπως κυρίως τα οξαλικά έχουν σαν αποτέλεσμα την εμφάνιση σημαντικών διαταραχών τόσο της μορφολογίας, όσο και της ποιότητας χρώσης. Το καλά ξηρανθέν επίχρισμα χρωματίζεται στη συνέχεια με χρωστικές Wright και πιο συχνά με την χρώση May-Grunwald-Giemsa με διάλυση τους σε ειδικά διαλύματα με ουδέτερο pH, που δίνει στις χρωστικές ένα πολύ ευρύ φάσμα χρωμάτων, με το οποίο αποδίδονται ακόμα και πολύ μικρές διαφορές χρώματος. Η χρώση γίνεται μετά κατάλληλη εφαρμογή των αλληπάλληλων διαλυμάτων χρωστικών με εμβάπτιση σε διάλυμα της χρωστικής ή με εφαρμογή της σε όλη την επιφάνεια του πλακαδίου, απόρριψή της και στη συνέχεια εφαρμογή στη δεύτερης χρωστικής. Η χρώση τελειώνει με το καλό πλύσιμο των πλακαδίων με απεσταγμένο νερό και σκούπισμα στη επιφάνειάς που δεν έχει τεθεί η επίστρωση και στη συνέχεια παραμονή των πλακαδίων σε επικλινή θέση και σε καθαρό περιβάλλον για ξήρανση. Τα παραπάνω μέτρα βοηθούν στην απομάκρυνση των παραμενόντων ιζημάτων και χρωστικής. Αν παρόλα αυτά στην πίσω πλευρά του πλακαδίου παραμένουν ακόμα υπολείμματα χρωστικής, απομακρύνονται μετά την ξήρανση με απαλό καθαρισμό του πλακαδίου με αλκοόλη σε καθαρό πανί.

1.2 Μονιμοποίηση [1, 2]

Συνήθως η μονιμοποίηση είναι μέρος της διαδικασίας χρώσης, επειδή η μεθυλική αλκοόλη είναι ο συνήθης διαλύτης τόσο της χρώσης Wright όσο και των άλλων χρώσεων. Αυτή γίνεται κατά τα πρώτα 60 sec της αυτούσιας χρωστικής που τίθεται στο πλακίδιο. Αν η μεθυλική αλκοόλη δεν αποτελεί μέρος της χρώσης, η χημική μονιμοποίηση μπορεί να γίνει με απόλυτη μεθυλική ή αιθυλική αλκοόλη για 1-2 min. Άλλα μονιμοποιητικά μπορεί να είναι 1% φορμόλη σε αιθυλική αλκοόλη, διάλυμα ίσων μερών αλκοόλης και αιθέρα ή 1% διάλυμα HgCl₂ [1-3].

1.3 Τύποι χρώσης [1,2]

Συνήθως χρησιμοποιούνται χρωστικές ανιλίνης. Οι οξύφιλες χρωστικές όπως η ηωσίνη χρωματίζουν κυρίως το πρωτόπλασμα και διάφορα οργανίλια του κυττάρου. Η χρώση Giemsa είναι ένα καλό παράδειγμα τέτοιας χρώσης και είναι η καλύτερη μέθοδος για την ανάδειξη παρασίτων του αίματος. Οι βασεόφιλες χρωστικές χρωματίζουν κυρίως τον πυρήνα και μερικά άλλα οργανίλια του κυττάρου και η συνθέστερα χρησιμοποιούμενη χρωστική είναι η αιματοξυλίνη. Οι πολυχρωματόφιλες χρώσεις είναι συνήθως διαλύματα σε μεθανόλη μιας όξινης και μιας βασικής χρωστικής, με τις οποίες παράγεται μια ποικιλία αποχρώσεων. Τέτοιες είναι η χρώση May-Grunwald-Giemsa και η χρώση Wright. Για την καλή ποιότητα χρώσης το διάλυμα της χρωστικής δεν πρέπει να περιέχει ιζήματα, γεγονός που αποφεύγεται με την κατάλληλη διήθηση της χρωστικής πριν τη χρήση της, την χρησιμοποίηση καθαρών πλακαδίων, με το καλό πλύσιμο των πλακαδίων στο τέλος της χρώσης, και την πρόνοια για την αποφυγή παρουσίας σκόνης στο περιβάλλον και στο επίχρισμα. Σε μια καλή χρώση η μακροσκοπική παρουσία του πλακαδίου είναι ροδέρυθρη και στο μικροσκόπιο τα ερυθρά έχουν ροδέρυθρη απόχρωση, ο πυρήνας των πολυμορφοπυρήνων είναι έντονα, τα ουδετερόφιλα κοκκία ερυθρωπά, τα ηωσινόφιλα κοκκία έντονα ερυθρά μέχρι πορτοκαλί και τα βασεόφιλα κοκκία βαθιά γαλαζωπά. Η βασεόφιλη και όξινη χρωματίνη του πυρήνα διαφορίζεται καθαρά και τα αιμοπετάλια έχουν ερυθρωπό προς γαλάζιο χρώμα. Το πρωτόπλασμα των λεμφοκυττάρων χρωματίζεται γαλάζιο, το πρωτόπλασμα των μονοκυττάρων γκριζογάλανο και το πρωτόπλασμα των παρασίτων ελονοσίας θαλασσί με ερυθρωπή χρωματίνη [1-5].

1.3.1 Πηγές λάθους [1, 2]

Συχνά στις χρωματισμένες επιστρώσεις μπορεί να εμφανιστούν λάθη. Η επίστρωση μπορεί να είναι πολύ ερυθρωπή, επί εφαρμογής συνήθως πολύ όξινης χρωστικής λόγω του pH του buffer ή του νερού. Σ' αυτή την περίπτωση η χρωματίνη του πυρήνα χρωματίζεται αμυδρά γαλάζια αντί λαμπερή γαλάζια, τα ερυθρά αιμοσφαίρια έντονα ερυθρά αντί ροδέρυθρα και τα ηωσινόφιλα κοκκία έντονα ερυθρά αντί πορτοκαλιέρυθρα. Το πρόβλημα διορθώνεται με χρησιμοποίηση νέας χρωστικής με ρύθμιση του pH του διαλύματος. Αν η χρώση είναι πολύ ωχρή, τούτο οφείλεται πιθανόν σε πολύ έντονο πλύσιμο ή σε λιγότερο χρόνο επίδρασης της χρωστικής, γεγονότα που διορθώνονται με λιγότερο πλύσιμο ή αύξηση του χρόνου χρώσης.

Η χρώση μπορεί να είναι πολύ μπλε και η χρωματίνη των πυρήνων πιθανόν να χρωματίζεται πολύ έντονα, τα ερυθρά αιμοσφαίρια φαίνονται μπλε ή πρασινωπά, το πρωτόπλασμα των λεμφοκυττάρων γκριζωπό, τα ουδετερόφιλα κοκκία έντονα και μεγαλύτερα από τα φυσιολογικά, ενώ τα ηωσινόφιλα κοκκία γίνονται έντονα γκριζωπά ή μπλε. Τούτο συνήθως οφείλεται στο ότι η επίστρωση είναι πολύ παχιά, σε ανεπαρκές πλύσιμο, πολύ μεγάλη διάρκεια της χρώσης ή πολύ αλκαλικά διαλύματα της χρωστικής. Η χρώση βελτιώνεται με χρησιμοποίηση αραιότερης χρωστικής, μείωση του χρόνου χρώσης ή αύξηση του χρόνου πλυσίματος και παρασκευή καινούργιας χρωστικής με κατάλληλο buffer και μη παραμονή της σε υπερβολικό φως, θερμότητα ή ψύχος.

1.4 Εξέταση του επιχρίσματος [2-7]

Από τη μελέτη του χρωσμένου επιχρίσματος του περιφερικού αίματος μπορεί να ληφθούν διάφορες πληροφορίες από την παρατήρηση των ερυθρών, όπως διαταραχές του μεγέθους (ανισοκυττάρωση), του σχήματος (ποικιλοκυττάρωση), της έντασης της χρώσης των ερυθρών και εύκολα μπορεί να διακριθεί, μετά την απόκτηση εμπειρίας, αν τα ερυθρά είναι μακροκυτταρικά (πάνω από 9 μ), ορθοκυτταρικά (7.5 μ) ή μικροκυτταρικά (κάτω από 6 μ). Ο βαθμός της ανισοκυττάρωσης θα πρέπει να εκτιμηθεί σαν 0-4+. Οι διακυμάνσεις του φυσιολογικού αμφίκιουλο σχήματος (ποικιλοκυττάρωση) μπορεί να είναι εμφανείς, και τα ερυθρά μπορεί να είναι σφαιροκύτταρα ή ωκύτταρα ή μπορεί να παίρνουν την μορφή στοχοκυττάρου ή δρεπανοκυττάρου ή άλλα σχήματα (ακανθοκύτταρα, εχνοκύτταρα κλπ). Αυτή η παρατήρηση έχει συχνά μεγάλη διαγνωστική σημασία και θα πρέπει να αξιολογείται σαν 0-4+. Η διακύμανση της συγκέντρωσης αιμοσφαιρίνης, δηλαδή το κατά πόσο τα ερυθρά αιμοσφαίρια είναι ορθόχρωμα, υπόχρωμα ή υπέρχρωμα, καθορίζεται από την εκτίμηση της έντασης του χρώματος των ερυθρών και το μέγεθος της κεντρικής ωχρής περιοχής, που μπορεί να προσεγγίζει την εκτίμηση της MCHC και μπορεί να αξιολογείται επίσης σαν 0-4+.

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια μπορεί να εμφανίζουν διάφορες παθολογικές μορφολογίες και ποιότητα χρώσης. Η εμφάνιση πολυχρωματοφιλίας χαρακτηρίζεται από μια πιο γαλαζωπή εμφάνιση των συνήθως μακροκυτταρικών ερυθρών, με απουσία της φυσιολογικής κεντρικής ωχρής περιοχής. Το ερυθροκύανο χρώμα είναι αποτέλεσμα μίγματος του παραμένου RNA και της αιμοσφαιρίνης και κυρίως παρατηρείται στα δικτυοερυθροκύτταρα (ΔΕΚ). Η βασεόφιλη στίξη των ερυθρών, χαρακτηρίζεται από την παρουσία ακανόνιστων σκοτεινών κυανών κοκκίων στα ερυθρά, λόγω εκφυλιστικών αλλοιώσεων στο RNA. Χαρακτηρίζει την έκθεση σε μόλυβδο, αλλά μπορεί να εμφανιστεί και σε αρκετές περιπτώσεις αιμολυτικών αναιμιών. Οι δακτύλιοι του Cabot είναι ερυθρωποί, κοκκαώδεις σχηματισμοί που συχνά έχουν τη μορφή βρόγχου ή σαν οκτώ, οι οποίοι δείχνουν ελλειμματική δραστηριότητα αναγέννησης των κυττάρων της ερυθράς σειράς. Όταν εμφανίζονται στο περιφερικό αίμα εμπύρνα ερυθρά ή ώριμοι οξύφιλοι ερυθροβλάστες, ανταναικλούν την παρουσία έντονων αναγκών στα αιμοποιητικά όργανα και είναι μια ένδειξη αύξησης της λειτουργίας του μυελού σαν αντίδραση σε κάποια νόσο. Τα ερυθρά με παρασίτωση από παράσιτα ελονοσίας χαρακτηρίζονται από την παρουσία ερυθρωπών κοκκίων του Schuffner με ή χωρίς παρουσία δακτυλοειδών ενδοκυττάρων μορφών στα συνήθως μακροκυτταρικά ερυθρά. Η παρουσία rouleaux οφείλεται στην προσκόλληση των ερυθρών μεταξύ τους σαν στήλη νομισμάτων. Εμφανίζεται κυρίως όταν ο ορός περιέχει αυξημένα ποσά ινωδογόνου και σφαιρινών. Επιπλέον, η μείωση της επιφάνειας των ερυθρών με επίδραση νευραμινιδάσης έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση της συγκόλλησης των ερυθρών παρουσία δεξτράνων μικρής μοριακής αλύσου. Αυτό ενισχύει τα πειραματικά δεδομένα, ότι η σταθερότητα της συγκόλλησης των ερυθρών εξαρτάται από την ισορροπία μεταξύ μιας μακρομοριακής δύναμης γεφύρωσης και μιας ηλεκτροστατικής δύναμης και οι μεταβολές της φόρτισης της επιφάνειας των ερυθρών μπορεί να επηρεάζει με αυτόν τον τρόπο την συνάθροιση των ερυθρών και τη γλοιότητα του αίματος. Είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί, ότι αυξημένη συγκολλητικότητα δεν επηρεάζει τον φυσιολογικό χρόνο ζωής των ερυθρών, αλλά μπορεί να ευθύνεται για την εμφάνιση αγγειοαποφρακτικών φαινομένων. Τα σωμάτια Heinz είναι στρόγγυλα ή ακανόνιστα, έντονα ερυθρά, σωμάτια μετά χρώση με methyl violet. Συνήθως βρίσκονται κοντά στην περιφέρεια του ερυθρού και αναδεικνύονται σαν γαλαζωπά κοκκία μετά έμβια χρώση με brilliant cresyl blue. Η παρουσία τους δείχνει την ύπαρξη αιμολυτικής αναιμίας με παρουσία ερυθρών που έχουν ένα ασταθές σύστημα γλουταθιόνης, ιδιαίτερα μετά σπληνεκτομή ή όταν τα ερυθρά εκτεθούν σε μερικά φάρμακα. Έγκλειστα των ερυθρών είναι και τα σιδηροκύτταρα (επιμήκη ή στρόγγυλα σωμάτια που εμφανίζονται μετά σπληνεκτομή ή στον μυελό αρρώστων με αιμολυτική αναιμία απροσδιόριστης αιτιολογίας). Παριστούν σίδηρο των ερυθρών που δεν έχει ακόμα ενσωματωθεί στην αιμοσφαιρίνη και αναδεικνύονται με την χρώση Prussian bleu.

Στο επίχρισμα του περιφερικού αίματος μπορεί να γίνει μια εκτίμηση του αριθμού των αιμοπεταλίων με παρατήρηση σε χαμηλή μεγέθυνση, υπό την προϋπόθεση ότι τα αιμοπετάλια έχουν ομαλή

κατανομή στην επίστρωση και δεν συναθροίζονται σε μερικές περιοχές. Στη συνέχεια μελετώνται αρκετά πεδία του επιχρίσματος με καταδυτικό φακό και εκτιμάται αν τα αιμοπετάλια είναι φυσιολογικά σε αριθμό, αυξημένα ή ελαττωμένα ή εμφανίζουν φυσιολογική ή παθολογική μορφολογία και φυσιολογικά ή παθολογικά κοκκία, πάντα βέβαια σε σύγκριση με το φυσιολογικό επίχρισμα αίματος. Τα φυσιολογικά αιμοπετάλια έχουν διάμετρο 2-5 μ και εμφανίζουν κοκκίωση.

Ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων μπορεί να εκτιμηθεί αρχικά με παρατήρηση της επίστρωσης, σε χαμηλή μεγέθυνση και μετά με καταδυτικό φακό, για να καθοριστεί αν ο αριθμός τους είναι φυσιολογικός, χαμηλός ή αυξημένος σε σύγκριση με το φυσιολογικό αίμα. Συγχρόνως με την εξαγωγή του λευκοκυτταρικού τύπου βρίσκεται η επικρατούσα μορφή κυττάρων και παρατηρούνται οι τυχόν μορφολογικές ανωμαλίες. Η λευκοκυτταρικός τύπος καλό είναι, παρά τον μεγαλύτερο απαιτούμενο χρόνο, να γίνεται με καταδυτικό φακό, με μετακίνηση της τράπεζας συστηματικά ώστε να μην γίνεται δύο φορές μέτρηση του ίδιου κυττάρου. Έτσι το πλακίδιο κινείται από δεξιά προς τ'αριστερά, στη συνέχεια μετακίνηση προς τα άνω ή προς τα κάτω, κατά ένα οπτικό πεδίο και στη συνέχεια από αριστερά προς τα δεξιά κ.ο.κ. Η παρατήρηση γίνεται τόσο σε αραιά, όσο και σε πυκνή περιοχή της επίστρωσης, επειδή μπορεί να υπάρχουν διαφορές λόγω διαφορετικής κατανομής των κυττάρων. Πάντοτε θα πρέπει να γίνεται καταμέτρηση τουλάχιστον 100 κυττάρων. Τα μη ταξινομούμενα ή μη αναγνωριζόμενα λευκά θα πρέπει να καταμετρώνται ξεχωριστά. Ο απόλυτος αριθμός για κάθε τύπο κυττάρου θα πρέπει να υπολογίζεται πάντοτε, ώστε να γίνεται διαγνωστική προσέγγιση ανάλογα με την αύξηση ή μείωση του απόλυτου αριθμού τους και όχι ανάλογα με το ποσοστό τους, που πιθανόν να μας παρασύρει σε εσφαλμένες διαγνωστικές σκέψεις.

Πριν καταλήξει κανείς στην αξιολόγηση των ευρημάτων του χρωματισμένου επιχρίσματος, θα πρέπει να έχει υπόψιν του τις φυσιολογικές τιμές των λευκών, όσο και των επιμέρους διακυμάνσεων των φυσιολογικών απόλυτων τιμών των διαφόρων κατηγοριών τους. Σημασία επίσης έχει η αναγνώριση της παθολογικής μορφολογίας των λευκών, η ύπαρξη τοξικής κοκκίωσης και η παρουσία π.χ. "στροφής προς τα δεξιά ή "στροφής προς τ'αριστερά, ευρήματα που έχουν σημαντική κλινική σημασία.

Η στροφή προς τ'αριστερά χαρακτηρίζεται συνήθως από αυξημένο αριθμό λευκών, λόγω αύξησης της παραγωγής τους, σαν απάντηση κάποιας οξείας ανάγκης στην περιφέρεια πριν ολοκληρωθεί η φυσιολογική ανάπτυξη και διαφοροποίηση τους όπως π.χ. σε μια οξεία λοίμωξη όπως σκληροκοειδίτις ή σηψαιμία. Στροφή προς τ'αριστερά μπορεί να φανεί ακόμα και με χαμηλό αριθμό λευκών, συνήθως λόγω καταστολής της κοκκιάδους σειράς π.χ. από τη δράση τοξινών με αποτέλεσμα διαταραχές στο μέγεθος και στη εμφάνιση των κυκλοφορούντων κυττάρων όπως π.χ. στην φυματίωση και τυφοειδή πυρετό.

Τα νεαρότερα πολυμορφοπύρνα έχουν ακόμα έναν μη καλά λοβωμένο πυρήνα (5%), ενώ αργότερα έχουν δύο λοβούς (35%), τρεις λοβούς (41%), τέσσερους λοβούς (17%) και 5 ή περισσότερους λοβούς (πιο ώριμα κύτταρα, 2%). Μια στροφή προς τα αριστερά δείχνει αύξηση των νεαρότερων κυττάρων όπως στη διάρκεια μιας λοίμωξης, η στροφή προς τα δεξιά (αυξημένος αριθμός γηραιότερων κυττάρων) εμφανίζεται συχνότερα στη μεγαλοβλαστική αναιμία.

Σημασία επίσης έχει η παρουσία λευκοερυθροβλαστικής αντίδρασης, στροφής προς τ'αριστερά και κυκλοφορία ερυθροβλαστών στο περιφερικό αίμα, όπως επί έντονης διέγερσης της αιμοποίησης, σε κατάληψη του μυελού από νεοπλασματικά κύτταρα ή και σε εξωμυελική αιμοποίηση.

2. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΕΡΥΘΡΩΝ [1, 3-12]

Οι τιμές των ερυθροκυτταρικών δεικτών είναι μέσες τιμές. Κατά συνέπεια, όταν υπάρχουν διαφορετικοί πληθυσμοί ερυθρών ως προς το μέγεθος (μεγάλα και μικρά ερυθρά) ή ως προς την περιεκτικότητα σε αιμοσφαιρίνη (φυσιολογική ή μειωμένη περιεκτικότητα σε αιμοσφαιρίνη), οι ερυθροκυτταρικοί δείκτες δεν επαρκούν για την διάγνωση. Εξ' άλλου, με τους ερυθροκυτταρικούς δείκτες δεν λαμβάνονται πληροφορίες για τις διαταραχές του σχήματος και του χρώματος των ερυθρών. Αν και οι πληροφορίες αυτές μπορούν να δοθούν με τις καμπύλες κατανομής των επί μέρους παραμέτρων που αποδίδονται με τους νεώτερους ηλεκτρονικούς αναλυτές, συχνά οι σχετικές πληροφορίες που δίνονται με την παρατήρηση του επιχρίσματος είναι εξ' ίσου επαρκείς. Η παρατήρηση του επιχρίσματος του περιφερικού αίματος έχει ιδιαίτερη αξία, επειδή οι λαμβανόμενες πληροφορίες είναι ουσιαστικές, μοναδικές και αναντικατάστατες, έτσι ώστε ο προσεκτικός και έμπειρος παρατηρητής μπορεί, και μόνον από το επίχρισμα, να προσεγγίσει διαγνωστικά, τόσο τις διάφορες αναιμίες, όσο και τις πιθανές διαταραχές της ερυθροποίησης και της αιμοσφαιρινοποίησης

χωρίς την παρουσία αναιμίας. Η παρατήρηση, όπως ήδη αναφέρθηκε, θα πρέπει να γίνεται σε άμεση επίστρωση αίματος (χωρίς το αίμα να υποστεί την δράση του αντιπηκτικού), κανονική ξήρανση, κατάλληλη χρώση (May-Grunwald-Giemsa) και επιλογή της κατάλληλης για παρατήρηση περιοχής σε μεγάλη μεγέθυνση στο κοινό μικροσκόπιο.

2.1 Διακύμανση στο σχήμα-περιεκτικότητα σε αιμοσφαιρίνη [3-5, 7-12]

Όταν τα ερυθροκύτταρα εμφανίζουν μορφολογικές διαφορές από τα φυσιολογικά είναι ανάγκη να σημειωθεί τόσο ο βαθμός όσο και ο τύπος της διαφοράς. Στο χρωματισμένο παρασκεύασμα τα ερυθρά λόγω του αμφίκιουλου σχήματός τους εμφανίζουν έναν περιφερικό δακτύλιο ερυθρού χρώματος και μια κεντρική ωχρή περιοχή, που φυσιολογικά καλύπτει το 1/3 περίπου της διαμέτρου του ερυθρού. Οι μεταβολές στο μέγεθος της κεντρικής ωχρής περιοχής σχετίζονται με την περιεκτικότητα του ερυθρού σε αιμοσφαιρίνη. Αύξηση της διαμέτρου δείχνει ότι το ερυθρό είναι πιο λεπτό και έχει μικρότερη περιεκτικότητα σε αιμοσφαιρίνη (υπόχρωμο ερυθρό). Η ανεπαρκής πλήρωση του ερυθρού με αιμοσφαιρίνη μπορεί να οφείλεται σε έλλειψη σιδήρου, σε ανεπαρκή σύνθεση αλύσων αιμοσφαιρίνης ή σύνθεση παθολογικής αιμοσφαιρίνης, ή σε κακή χρησιμοποίηση του υπάρχοντος σιδήρου λόγω αναστολής διαφόρων ενζυματικών μηχανισμών σύνθεσης αίμης όπως π.χ. μετά λήψη ορισμένων φαρμάκων, δηλητηρίαση με μόλυβδο ή συγγενώς. Αν η περιεκτικότητα ενός ερυθρού σε αιμοσφαιρίνη είναι φυσιολογική, αλλά το ερυθρό είναι μεγαλύτερο σε μέγεθος, τότε αυτό εμφανίζεται σαν υπόχρωμο λεπτοκύτταρο, που μερικές φορές παίρνει τη μορφή στοχοκυττάρου. Άλλες αλλοιώσεις που δεν μπορεί να φανούν με τους ερυθροκυτταρικούς δείκτες, ενώ είναι σαφείς στο επίχρισμα, είναι η ανισοκυττάρωση (έντονη ποικιλία όσον αφορά το μέγεθος των ερυθρών), η ανισοχρωμία (άνιση πλήρωση των ερυθρών με αιμοσφαιρίνη), η ποικιλοκυττάρωση (ανεύρεση ερυθρών διαφορετικής μορφολογίας) και διάφορες ανωμαλίες του σχήματος των ερυθρών όπως η σφαιροκυττάρωση και η ελλειπτοκυττάρωση (απώλεια του φυσιολογικού αμφίκιουλου σχήματος των ερυθρών), καθώς και η παρουσία διαφόρων ενδοερυθροκυτταρικών σχηματισμών όπως η βασεόφιλη στίξη, πυρηνορρηξίες (σωμάτια Howell-Jolly), παρουσία νεαρών ερυθρών με αυξημένη περιεκτικότητα RNA (πολυχρωματοφιλία) κ.α.

Οι μορφολογικές αλλοιώσεις των ερυθρών εκφράζονται ποσοτικά από + μέχρι +++, ο χαρακτηρισμός όμως αυτός είναι αρκετά υποκειμενικός.

Η μείωση της διαμέτρου της κεντρικής ωχρής περιοχής του ερυθρού δείχνει ότι το ερυθρό έχει αρχίσει να γίνεται πιο σφαιρικό. Όταν η κεντρική ωχρή περιοχή απουσιάζει, ενώ το κύτταρο είναι μικρότερο, τότε αυτό ονομάζεται σφαιροκύτταρο. Ο όρος αυτός έχει αντικαταστήσει τον όρο υπέρχρωμο ερυθρό, γιατί ο όρος υπερχρωμία φυσιολογικά δεν είναι δόκιμος, αφού η αιμοσφαιρίνη στα φυσιολογικά ερυθρά βρίσκεται σε σχεδόν κεκορεσμένο διάλυμα (36 g/dl), οπότε η περιεκτικότητά της είναι δύσκολο να αυξηθεί. Η "υπερχρωμία" που διαπιστώνεται στην σφαιροκυττάρωση είναι αποτέλεσμα της μείωσης του όγκου του ερυθρού σε σχέση με την περιεχόμενη ποσότητα αιμοσφαιρίνης λόγω απώλειας μεμβράνης. Η μικρή διακύμανση της ποσότητας και της συγκέντρωσης της αιμοσφαιρίνης που παρατηρείται στο φυσιολογικό επίχρισμα, οφείλεται στο γεγονός ότι τα γηρασμένα ερυθρά είναι μικρότερα από τα νεαρά ερυθρά και έχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης.

Η διακύμανση στο σχήμα των ερυθρών αιμοσφαιρίων (ποικιλοκυττάρωση) αντανακλά συνήθως διαταραχές της ωρίμανσης της ερυθράς σειράς, όπως έντονη ερυθροποίηση, κατακερματισμό των ερυθρών αιμοσφαιρίων ή συνδυασμό των παραπάνω παραγόντων, τόσο στον μυελό όσο και στην κυκλοφορία.

Ερυθρά με οδοντωτή παρυφή ή κύτταρα με αρκετές λεπτές σε κανονικά διαστήματα προσεκβολές της μεμβράνης (εχνοκύτταρα), εμφανίζονται σε διαταραχές ώσμωσης λόγω απώλειας ενδοκυτταρίου ύδατος ή σε περιπτώσεις νεφρικής ή ηπατικής ανεπάρκειας. Τα κύτταρα αυτά πρέπει να διακρίνονται από παθολογικά ερυθρά που εμφανίζουν παρόμοια μορφολογία, τα ακανθοκύτταρα. Αυτά παρουσιάζουν λίγες, αλλά μακρές προσεκβολές, σε ακανόνιστα διαστήματα στην επιφάνειά τους και παρατηρούνται σε διάφορες μεταβολικές διαταραχές όπως η μείωση μιας β-λιποπρωτεΐνης η οποία αποτελεί ένα σημαντικό συστατικό της ερυθροκυτταρικής μεμβράνης (α-βήτα-λιποπρωτεΐναιμία).

Τα ερυθρά που παρουσιάζουν μια ή περισσότερες οξείες προσεκβολές της μεμβράνης (burr cells, κρानοκύτταρα, κερατοκύτταρα κλπ) διαφέρουν από τα εχνοκύτταρα. Οι προσεκβολές εμφανίζονται σε ένα σημείο, ενώ στα εχνοκύτταρα οι προσεκβολές είναι σε όλη την έκταση της μεμβράνης, σε κανονικά διαστήματα και μικρότερες σε μέγεθος. Ο μηχανισμός του σχηματισμού τους, π.χ. σε αρρώστους με αιμορραγία πεπτικού έλκους ή νεφρική ανεπάρκεια, δεν έχει ακόμα βρεθεί.

Πυκνοκύτταρα (πολύ μικρού μεγέθους ερυθρά, με μεγάλη συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης σε σχέση με το μέγεθος τους) παρατηρούνται φυσιολογικά κατά το πρώτο τρίμηνο μετά τη γέννηση.

Τα στοχοκύτταρα παρουσιάζονται στο επίχρισμα σαν ερυθρά με μορφή στόχου ή κονκάρδας, έχοντας μια πρόσθετη περιοχή αιμοσφαιρίνης μέσα στον ανοιχτόχρωμο κεντρικό δακτύλιο. Τα στοχοκύτταρα έχουν λεπτότερη από την φυσιολογική μεμβράνη και μειωμένη οσμωτική ευθραυστότητα. Εμφανίζονται πιο συχνά σε αιμοσφαιρινοπάθειες και στα μεσογειακά σύνδρομα, σε ηπατικά νοσήματα και μετά σπληνεκτομή. Ο σχηματισμός τους υποδηλώνει αυξημένο εμβαδόν μεμβράνης σε σχέση με το περιεχόμενο (υπόχρωμα λεπτοκύτταρα).

Δρεπανοκύτταρα ανευρίσκονται στο επίχρισμα του περιφερικού αίματος ατόμων με δρεπανοκυτταρική αναιμία και, ανάλογα με το βαθμό και την ένταση της παραμόρφωσης, μπορεί να διακριθούν σε αναστρέψιμα ή μη αναστρέψιμα. Τα δρεπανοκύτταρα πρέπει να διακρίνονται από μερικά ελλειπτοκύτταρα, που όμως έχουν αποστρογγυλεμένα άκρα και λιγότερο δρεπανοειδές σχήμα.

Ελλειπτοκύτταρα είναι ερυθρά με ελλειπτοειδές ή ωοειδές σχήμα (μεγαλύτερη επιμήκης διάμετρος) που παρατηρούνται στην κληρονομική ελλειπτοκυττάρωση (πάνω από τα μισά ή και όλα τα ερυθρά εμφανίζουν αυτό το σχήμα), και σε μικρότερο αριθμό, σε αρρώστους με διάφορα άλλα αιματολογικά νοσήματα (μεγαλοβλαστική αναιμία, σιδηροπενία, μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα ή μεσογειακή αναιμία).

Σχιστοκύτταρα είναι τμήματα ερυθρών ποικίλου μεγέθους και σχήματος, που παράγονται στον σπλήνα ή και από την ύπαρξη ενδοαγγειακών εναποθέσεων θρόμβων ινώδους. Ο κατακερματισμός των ερυθρών οφείλεται σε βλάβες της μεμβράνης, που επέρχονται είτε εξωγενώς (ενδοαγγειακή πήξη, μικροαγγειοπάθεια, δράση τοξικών ουσιών), είτε ενδογενώς (ενδοκυττάρια κατακρήμνιση αιμοσφαιρίνης, ενζυμοπάθειες).

Δακρυοκύτταρα ή σταγονοειδή ερυθρά παρατηρούνται στα μυελοϋπερπλαστικά σύνδρομα, στις αναιμίες με ύπαρξη εξωμυελικής αιμοποίησης, στις μυελοφθισικές αναιμίες (κατάληψη του μυελού από μεταστάσεις, κοκκιωματώδεις νόσους, ίνωση) ή στην σπληνομεγαλία.

2.2 Διακύμανση στο μέγεθος (ανισοκυττάρωση) [3, 6, 8, 10, 13-15]

Στο φυσιολογικό επίχρισμα, η διακύμανση του μεγέθους των ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι πολύ μικρή. Νορμοκύτταρα (ορθοκύτταρα) είναι ερυθρά φυσιολογικού σχήματος και μεγέθους με διάμετρο περί τα 7.5 nm. Τα μικροκύτταρα είναι ώριμα ερυθρά με διάμετρο σαφώς μικρότερη από εκείνη των φυσιολογικών (<6 nm), που προέρχονται από ερυθροβλάστες με κακή πλήρωση με αιμοσφαιρίνη. Παρατηρούνται κυρίως στη β-μεσογειακή αναιμία, τη σιδηροπενική αναιμία, τη σιδηροβλαστική αναιμία κλπ. Σε αντίθεση με τα υπόχρωμα μικροκύτταρα, τα σφαιροκύτταρα είναι μικρά ερυθρά γεμάτα με αιμοσφαιρίνη με σύγχρονη εξαφάνιση της κεντρικής ωχρής περιοχής. Τα έντονα χρωματισμένα, μικρά αυτά κύτταρα, παρατηρούνται σταθερά στο επίχρισμα των αρρώστων με κληρονομική σφαιροκυττάρωση (μονότονα σφαιροκυτταρικός πληθυσμός στο επίχρισμα) και, σε ποικίλο ποσοστό στο επίχρισμα αρρώστων με αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία. Σφαιροκύτταρα μπορούν να παρατηρηθούν και σαν αποτέλεσμα σχιστοκυττάρωσης (θραύση του ερυθρού σε δύο κομμάτια, που συχνά παίρνουν μορφή σφαιροκυττάρου). Σφαιροκύτταρα γίνονται και τα μεταγγιζόμενα ερυθρά, ιδιαίτερα περί το τέλος της επιβίωσής τους.

Τα μακροκύτταρα είναι ερυθρά με μέγεθος μεγαλύτερο από τα φυσιολογικά (>9 nm), που παρατηρούνται σε περιπτώσεις ανεπάρκειας ενός ή περισσότερων ερυθροποιητικών παραγόντων, όπως η βιταμίνη B12 ή το φυλλικό οξύ, καθώς και σε περιπτώσεις δυσερυθροποίησης. Μακροκύτταρα είναι επίσης τα νεαρά ερυθρά (μακροκυττάρωση σε περιπτώσεις μεγάλης δικτυοερυθροκυττάρωσης). Προέρχονται από μακροκυτταρικά πρόδρομα κύτταρα λόγω διαταραχών της σύνθεσης DNA (ανεπάρκεια σύνθεσης πουρίνης και πυριμιδίνης), που επιφέρουν καθυστέρηση της ωρίμανσης και της εξαφάνισης του πυρήνα, καθώς και βραδύτερη αιμοσφαιρινοποίηση (τα ερυθρά αιμοσφαίρια γίνονται μεγαλύτερα και η ποσότητα της αιμοσφαιρίνης ανά ερυθρό αιμοσφαίριο αυξάνει).

2.3 Διαταραχές ποιότητας χρώσης [3, 6, 8, 10, 12-15]

Στο σωστά χρωματισμένο επίχρισμα, η ένταση του χρώματος των φυσιολογικών ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι σχεδόν ίδια. Όταν άλλα ερυθρά αιμοσφαίρια εμφανίζουν φυσιολογική και άλλα

αμυδρότερη ή εντονότερη χρώση, η εικόνα χαρακτηρίζεται σαν ανισοχρωμία. Η ανισοχρωμία υποδηλώνει διαφορετική περιεκτικότητα των ερυθρών σε αιμοσφαιρίνη. Πολυχρωματοφιλία παρατηρείται όταν μερικά ερυθρά εμφανίζουν διάχυτη κυανή χρώση (λόγω αυξημένης περιεκτικότητας σε RNA). Τα πολυχρωματοφιλά αυτά ερυθρά είναι συνήθως μεγαλύτερα από το φυσιολογικό (μακροκύτταρα) και αντιπροσωπεύουν δικτυοερυθροκύτταρα, θέτοντας την υποψία ταχείας παραγωγής ερυθρών, ήδη στο κοινό επίχρισμα του περιφερικού αίματος.

2.4 Ερυθροκυτταρικά έγκλειστα [3, 6, 8, 10, 12-15]

Βασεόφιλη στίξη: Διακρίνονται δύο τύποι: (α) Διάχυτη λεπτή και (β) αδρή εντονότερη βασεόφιλη στίξη. Η διάχυτη λεπτή βασεόφιλη στίξη φαίνεται σαν σκόνη από λεπτά γκριζωπά κοκκία που γεμίζουν το ερυθρό. Παρατηρείται κυρίως στα πολυχρωματοφιλά ερυθρά, και η ανεύρεσή της δεν είναι πάντα εύκολη, εκτός αν την αναζητήσει κανείς με ιδιαίτερη προσοχή. Η αδρή βασεόφιλη στίξη διακρίνεται χωρίς δυσκολία, γιατί τα κοκκία είναι συνήθως μεγαλύτερα. Παρατηρείται στη μολυβδίαση και σε βαριές χρόνιες αιμολυτικές αναιμίες, όπως στα μεσογειακά σύνδρομα ή στη δρεπανοκυτταρική αναιμία. Τα όρατα κυανωπά κοκκία είναι συνήθως σίδηρος, RNA και μιτοχόνδρια.

Σωμάτια Howell-Jolly: Είναι μικρά στρογγύλα ενδοερυθροκυτταρικά σωμάτια μεγέθους μικρότερου του 1 nm, που παρουσιάζουν έντονα ερυθρό χρώμα. Αποτελούν τεμάχια του πυρήνα (πυρηνορρηξίες), είναι συνήθως μονήρη και εντοπίζονται στην περιφέρεια του ερυθρού κοντά στην μεμβράνη. Σωμάτια H-J υπάρχουν στα φυσιολογικά νεαρά ερυθρά, κατακρατούνται όμως από τα μακροφάγα στα κολποειδή του σπληνός και δεν διαπιστώνονται στο αίμα, εκτός από τις περιπτώσεις σπληνεκτομής. Σωμάτια H-J μπορεί να παρατηρηθούν επίσης σε περιπτώσεις μεγαλοβλαστικής αναιμίας και σε καταστάσεις δυσερυθροποίησης με διαταραχές DNA.

Κοκκία σιδήρου (σωμάτια Pappenheimer): Στο επίχρισμα του περιφερικού αίματος μπορεί να παρατηρηθούν ερυθρά με κοκκία σιδήρου (σιδηροκύτταρα) στο περιφερικό αίμα, που μπορεί να συγχέονται με τα σωμάτια Howell-Jolly. Τα κοκκία σιδήρου είναι συνήθως μικρότερα από τα σωμάτια Howell-Jolly και αναγνωρίζονται μετά ειδική χρώση σιδήρου. Παρατηρούνται στις σιδηροβλαστικές αναιμίες, σε απουσία ή μείωση της λειτουργίας του σπλήνα ή στις χρόνιες αιμολυτικές αναιμίες.

Σωμάτια Heinz: Δεν φαίνονται στις κοινές χρώσεις και η αναζήτησή τους απαιτεί έμβιο χρώση (methyl violet). Είναι μετουσιωμένη αιμοσφαιρίνη που κατακρημνίζεται ενδοκυττάρια μετά έκθεση των ερυθρών σε τοξικές ουσίες (σουλφοναμίδες, φαινυλδραζίνη, πριμακίνη κλπ) και παρατηρούνται σε κληρονομικές αιμολυτικές αναιμίες (ανεπάρκεια G6PD), στα μεσογειακά σύνδρομα (αιμοσφαιρινοπάθεια H), σε ασταθείς αιμοσφαιρίνες, μετά σπληνεκτομή ή στα φυσιολογικά νεογνά.

Δικτυοερυθροκύτταρα (ΔΕΚ): Είναι νεαρά ερυθρά που φυσιολογικά κυκλοφορούν στο περιφερικό αίμα. Όταν η παραγωγή τους είναι φυσιολογική ή ελαττωμένη δεν φαίνονται συνήθως με τις κοινές χρώσεις, ενώ όταν το ποσοστό τους αυξάνεται, το επίχρισμα δείχνει πολυχρωματοφιλία. Η αναζήτησή τους γίνεται μετά έμβιο χρώση με new methylene blue, οπότε τα δικτυοερυθροκύτταρα εμφανίζουν διάσπαρτα κοκκία ή δίκτυο στο πρωτόπλασμα. Οι σχηματισμοί αυτοί αποτελούν υπολείμματα του ενδοπλασματικού δικτύου, που καθιζάνουν και βάζονται με τη δράση της χρωστικής. Ο αριθμός των δικτυοερυθροκυττάρων στο περιφερικό αίμα είναι σημαντικός διαγνωστικός δείκτης. Το φυσιολογικό ποσοστό είναι 1-2%, που, στον φυσιολογικό ενήλικο, αντιστοιχεί σε 20-75x10⁹/l ΔΕΚ.

Τονίζεται για μια ακόμα φορά, ότι η παρατήρηση των μορφολογικών διαταραχών των ερυθρών αιμοσφαιρίων θα πρέπει να γίνεται σε επίχρισμα περιφερικού αίματος μετά από άμεση επίστρωση (διαταραχή της μορφολογίας των ερυθρών όταν το αίμα μπει σε αντιπηκτικό), απόρριψη των πρώτων σταγόνων από τη βελόνα, καλό καθαρισμό της ράγας του δακτύλου (η παραμονή οιοσπνεύματος συρρικνώνει τα κύτταρα), κατασκευή λεπτής επίστρωσης, καλή ξήρανση της επίστρωσης, χρώση με May-Grunwald-Giemsa και επιλογή αντιπροσωπευτικού πεδίου για παρατήρηση στο επίχρισμα όπου με καταδυτικό φακό παρατηρείται η μορφολογία των ερυθρών αιμοσφαιρίων (απαιτείται προσοχή, συστηματική παρατήρηση και ικανή εμπειρία για την ορθή αξιολόγηση και την εξαγωγή συμπερασμάτων).

3. ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΤΗΣ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΤΩΝ ΕΡΥΘΡΩΝ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΩΝ ΣΤΟ ΕΠΙΧΡΙΣΜΑ ΤΟΥ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ [3, 6, 8]

- 1. Ακανθοκυττάρωση:** Τα ακανθοκύτταρα είναι μικρά ερυθρά με ακανόνιστο σχήμα που η επιφάνειά τους χαρακτηρίζεται από βαθιές ακανόνιστες εσοχές και εξοχές (5-10 προσεκβολές, πιο έντονες από ότι στα εχινοκύτταρα). Υπάρχει αυξημένη σχέση χοληστερίνης προς λεκαθίνη στα ερυθρά, όταν συνοδεύεται με ηπατική νόσο (διορθώνεται σε φυσιολογική μορφολογία με επίδραση μη ιοντικών απορρυπαντικών). Παρατηρούνται στην α-βήτα-λιποπρωτεΐναιμία (κληρονομική ακανθοκυττάρωση ή νόσος των Bassen-Kornzweidz), στην ανεπάρκεια πυρρικής κινάσης ή σε ηπατική νόσο με αιμολυτική αναιμία και σπάνια μετά σπληνεκτομή.
- 2. Ανισοκυττάρωση:** Παθολογική διακύμανση του μεγέθους των ερυθρών αιμοσφαιρίων (φυσιολογική διάμετρος των ερυθρών = 7-8 μm). Παρατηρείται σε οποιαδήποτε βαριά αναιμία π.χ. σιδηροπενική αναιμία, μεγαλοβλαστική αναιμία (στα φυσιολογικά άτομα υπάρχει μια μικρή διακύμανση του μεγέθους των ερυθρών αιμοσφαιρίων στο επίχρισμα).
- 3. Ανισοχρωμία:** Ερυθρά αιμοσφαίρια με διαφορετική περιεκτικότητα σε αιμοσφαιρίνη (διαφορά έντασης χρώσης των ερυθρών στο επίχρισμα). Παρατηρείται στη φάση αποκατάστασης μετά την έναρξη θεραπείας π.χ. μιας σιδηροπενικής αναιμίας, στη σιδηροβλαστική αναιμία ή στη συνδυασμένη ανεπάρκεια σιδήρου και βιταμίνης B₁₂ ή φυλλικό οξύ.
- 4. Δακρυοκυττάρωση:** Τα δακρυοκύτταρα ονομάζονται λόγω του σχήματός τους και ρακετοκύτταρα, αποειδή ή σταγονοειδή ερυθρά αιμοσφαίρια (συνήθως μικροκύτταρα και υπόχρωμα). Παρατηρούνται στα μυελοϋπερπλαστικά σύνδρομα, στην μυελοφθισική αναιμία, (μεταστάσεις, κοκκιωματώδεις νόσοι, ίνωση του μυελού), στις αναιμίες με ύπαρξη εξωμυελικής αιμοποίησης, στην μη αποδοτική ερυθροποίηση ή στη σπληνομεγαλία κλπ.
- 5. Δακτύλιοι Cabot:** Ενδοερυθροκυτταρικοί δακτυλιοειδείς σχηματισμοί που είναι υπολείμματα της πυρρικής ατράκτου κατά τη διαίρεση του κυττάρου. Παρατηρούνται στη μεγαλοβλαστική αναιμία ή στη μολυβδίαση.
- 6. Δικτυοερυθροκυττάρωση:** (Υπαρξη κυανού δικτύου από RNA στα ερυθρά μετά έμβια χρώση με new methylene blue). Παρουσιάζεται στο επίχρισμα σαν μακροκυττάρωση με διάχυτη βασεοφιλία (πολυχρωματοφιλία) ή λεπτή **βασεόφιλη στίξη** στις χρώσεις Wright. Δικτυοερυθροκυττάρωση και πολυχρωματοφιλία παρατηρείται στις αιμολυτικές αναιμίες, στην απώλεια αίματος, μετά τη χορήγηση θεραπείας σε σιδηροπενική ή μεγαλοβλαστική αναιμία ή στις ανθεκτικές αναιμίες με μη αποδοτική ερυθροποίηση. Βασεόφιλη στίξη (λεπτή) εμφανίζεται στις παραπάνω καταστάσεις και (πιο αδρή και παχιά) στην μολυβδίαση (μιτοχονδριακό RNA και σίδηρος) και στην ανεπάρκεια πυριμιδινό-5-νουκλεοτιδάσης.
- 7. Δρεπανοκυττάρωση:** Τα ερυθρά έχουν σχήμα δρέπανου (αναστρέψιμα ή μη αναστρέψιμα) που χαρακτηρίζουν τη δρεπανοκυτταρική αναιμία (SS, SA, SC) (οξυαιχμα άκρα που τα διαφορίζουν από μερικά ελλειπτοκύτταρα, σύνηθες in vitro, ενώ in vivo τα δρεπανοκύτταρα είναι άτυπα), στην αιμοσφαιρινοπάθεια I, αιμοσφαιρινοπάθεια C_{Capetown} κλπ.
- 8. Ελλειπτοκυττάρωση:** Τα ερυθρά αιμοσφαίρια έχουν ελλειπτοειδές σχήμα (η επιμήκης διάμετρος μεγαλύτερη από την κάθετη, αποστρογγυλεμένα άκρα, ερυθρά σχήματος πούρου) και συχνά δεν είναι υπόχρωμα κύτταρα. Είναι αποτέλεσμα κληρονομικής ή επίκτητης διαταραχής. Παρατηρείται στην κληρονομική ελλειπτοκυττάρωση, στη σιδηροπενική αναιμία, στα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα ή στη μεγαλοβλαστική αναιμία και στην κληρονομική πυροποικιλοκυττάρωση.
- 9. Εμπύρνα ερυθρά:** Ερυθρά αιμοσφαίρια που περιέχουν ακόμα τον πυρήνα τους (ερυθροβλάστες που μπορεί να είναι ορθοβλαστικοί, μεγαλοβλαστικοί ή δυσερυθροποιητικοί). Παρατηρούνται στις αιμολυτικές αναιμίες, τις λευχαιμίες, τα μυελοϋπερπλαστικά ή μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα, στην ιδιοπαθή ερυθραιμία, στις μυελοφθισικές αναιμίες, στο μυέλωμα, στην εξωμυελική αιμοποίηση, μεγαλοβλαστική αναιμία, σπληνεκτομή ή σε οποιαδήποτε βαριά ή οξεία αναιμία καθώς και στην κατάληψη του μυελού από μεταστάσεις.
- 10. Ερυθρά με κενोटόπια:** Παρατηρούνται στις δυσερυθροποιήσεις και είναι ενδεικτικά υποσπληνισμού.
- 11. Εχينوκυττάρωση:** Τα ερυθρά εμφανίζουν ανώμαλη επιφάνεια με λεπτές ακανθώδεις προσεκβολές (συνήθως 10-30 σε κανονικά διαστήματα), που δίνουν στην μεμβράνη του ερυθρού πριονωτή όψη. Είναι συνήθως αποτέλεσμα αλλοιώσεων του ενδοερυθροκυττάρου και

εξωκυττάριου περιβάλλοντος (συγκέντρωση λιπαρών οξέων ή/και λυσολεκθίνης στην επιφάνεια των ερυθρών λόγω διαταραχών του πλάσματος ή του μεταβολισμού των ερυθρών). Παρατηρούνται στις αιμολυτικές αναιμίες, σε ηπατική νόσο, ουραιμία, διάχυτη ενδαγγειακή πήξη, θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα, ανεπάρκεια πυρρικής κινάσης (ιδιαίτερα μετά σπληνεκτομή), ανεπάρκεια φωσφογλυκερινικής κινάσης, σε γενικευμένο καρκίνο και φυσιολογικά στα νεογνά και στην παιδική ηλικία. Προσοχή γιατί αρκετές φορές οφείλονται σε ταχεία και κακή μονιμοποίηση της επίστρωσης ή στη δράση οινόπνεύματος στο μη καλά ξηραμένο επίχρισμα.

12. **Κρανοκύτταρα:** Αποτελούν ένα τύπο σχιστοκυττάρων, που παίρνουν τη μορφή κράνους. Παρατηρείται σε όλες τις παραπάνω αναφερόμενες περιπτώσεις όπου παρατηρείται σχιστοκυττάρωση.
13. **Κωδωνοκύτταρα, κατελοκύτταρα, αστροκύτταρα, κνιζοκύτταρα, κερατοκύτταρα** κλπ: (Ανάλογα με το σχήμα των ερυθρών στο οπτικό ή σε άλλα μικροσκόπια).
14. **Λεπτοκυττάρωση:** Τα ερυθρά εμφανίζονται λεπτά και υπόχρωμα, έχουν φυσιολογική διάμετρος και μειωμένο MCV. Παρατηρείται κυρίως στη μεσογειακή αναιμία.
15. **Μακροκυττάρωση:** Διάμετρος των ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι μεγαλύτερη από 8-8.5 μm (MCV μεγαλύτερος από 100 fl) εμφανίζουν καλή πλήρωση με αιμοσφαιρίνη (νεαρά ερυθρά, πρώιμη απώλεια του πυρήνα, διαταραχή σύνθεσης DNA με μεγαλοβλαστική ωρίμανση). Παρατηρείται σε αυξημένη ερυθροποίηση, στη μεγαλοβλαστική αναιμία, σε ηπατική νόσο, υποθυρεοειδισμό, στις αιμολυτικές αναιμίες (δικτυοερυθροκυττάρωση), στο μυέλωμα, στην τριχωτή λευχαιμία, μυελόφθοση, στον αλκοολισμό, στη σπληνεκτομή και φυσιολογικά στα νεογνά. Μακροκυττάρωση και λεπτοκυττάρωση (αυξημένη διάμετρος αλλά φυσιολογικός MCV) με συνοδό υποχρωμία (στοχοκυττάρωση) παρατηρείται σε ηπατικά νοσήματα και μετά σπληνεκτομή.
16. **Μακροκυττάρωση με ωσειδές σχήμα των ερυθρών:** Μεγάλα (διάμετρος μεγαλύτερη από 8 μm) και ωσειδή ερυθρά αιμοσφαίρια. Παρατηρείται κυρίως στη μεγαλοβλαστική αναιμία.
17. **Μικροκυττάρωση:** Διάμετρος ερυθρών αιμοσφαιρίων μικρότερη από 6-7 μm (MCV κάτω από 80 fl). Παρατηρείται στη σιδηροπενική αναιμία, σιδηροβλαστική αναιμία, ομόζυγη και ετερόζυγη μεσογειακή αναιμία, μολυβδίαση, αναιμία των χρόνιων νοσημάτων, στον υπερθυρεοειδισμού και φυσιολογικά στα παιδιά.
18. **Ξηροκύτταρα:** Πυκνά, αφυδατωμένα ακανόνιστου σχήματος ερυθρά, ενώ συχνά εμφανίζεται καθίζηση της αιμοσφαιρίνης στην περιφέρεια. Είναι συχνά αποτέλεσμα αφυδάτωσης και παρατηρούνται στην κληρονομική ξηροκυττάρωση.
19. **Ποικιλοκυττάρωση:** Παθολογική διακύμανση του σχήματος των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Κυκλοφορία ερυθρών με διάφορα παθολογικά σχήματα. Παρατηρείται σε οποιαδήποτε βαριά αναιμία όπως π.χ. στη μεγαλοβλαστική αναιμία, σιδηροπενική αναιμία, στα μυελοδυσπλαστικά ή μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα, στις αιμολυτικές αναιμίες και μερικά σχήματα των ερυθρών είναι διαγνωστικά των υποκείμενων νόσων.
20. **Παράσιτα** (ελονοσία, μπαμπεσίωση): Χαρακτηριστική ύπαρξη ενδοερυθροκυτταρικών παρασίτων ή και εξωκυτταρική παρουσία γαμετών.
21. **Rouleaux** (ερυθρά σε διάταξη σαν στήλη νομισμάτων): Συναθροίσεις ερυθρών που διατάσσονται κανονικά το ένα πάνω στο άλλο. Παρατηρούνται στο μυέλωμα, στην μακροσφαιριναιμία Waldenstrom, στο αίμα του ομφάλιου λώρου, στην κύηση, σε κάθε αύξηση των γ-σφαιρινών, νόσο ψυχροσυγκολλητινών, σε νοσήματα από ιούς ή σε κακοήθη νοσήματα. Προσοχή για τη διάκριση τους από την κακή επίστρωση, ιδιαίτερα σε άτομα με ψηλό αιματοκρίτη.
22. **Σιδηροκύτταρα** (σώματα Pappenheimer): Ερυθρά αιμοσφαίρια που περιέχουν κοκκία σιδήρου, τα οποία χρωματίζονται κυανοπράσινα μετά από χρώση Wright ή Prussian blue. Παρατηρούνται στις σιδηροβλαστικές αναιμίες, στον υποσπληνισμό ή στις χρόνιες αιμολυτικές αναιμίες.
23. **Στοματοκυττάρωση:** Τα ερυθρά έχουν κεντρική ωχρή περιοχή, που δεν είναι στρογγυλή αλλά σχισμοειδής. Είναι μια κληρονομική ή επίκτητη διαταραχή των ερυθρών (διαταραχή κατασκευής ή λειτουργίας μεμβράνης με αποτέλεσμα παθολογική διαβατότητα). Παρατηρείται στην κληρονομική στοματοκυττάρωση και σε άλλες κληρονομικές αιμολυτικές αναιμίες, στη μεσογειακή αναιμία, στα εγκαύματα, στον συστηματικό ερυθματώδη λύκο, στη μολυβδίαση, σε ηπατική νόσο (αλκοολική κίρρωση), σε Rhesus-null γονότυπο ή στην κακή μονιμοποίηση του επιχρίσματος (artefact), σε κασθήθειες καθώς και στον οξύ αλκοολισμό.

24. **Στοχοκυττάρωση:** Υπόχρωμα ερυθρά που εμφανίζουν στο επίχρισμα μορφή στόχου (πυκνή κεντρική και περιφερική περιοχή με μια ενδιάμεση ωχρή περιοχή σαν κονκάρδα, αυξημένη σχέση επιφάνειας προς όγκο). Οφείλεται συνήθως σε μείωση ρυθμού και του βαθμού απώλειας λιπιδίων από τα ΔΕΚ μετά τη σπληνεκτομή, αύξηση της συγκέντρωσης χοληστερόλης και φωσφολιπιδίων στα ερυθρά καθώς και σε κληρονομικά αίτια. Παρατηρείται σε ηπατική νόσο, αποφρακτικό ίκτερο, στη μεσογειακή αναιμία, σε αιμοσφαιρινοπάθειες (S, C, D, E, SC, μικροδρεπανοκυτταρική αναιμία), ανεπάρκεια λεκιθίνο-χοληστερολ-ακυλ-τρανσφεράσης (LCAT), μετά σπληνεκτομή και σε όλα τα αίτια βαριάς υποχρωμίας
25. **Σφαιροκυττάρωση:** Ερυθρά αιμοσφαίρια σφαιρικού σχήματος με εξαφάνιση της κεντρικής ωχρής περιοχής και συχνά μικρότερου μεγέθους από τα φυσιολογικά ερυθρά (μικροσφαιροκύτταρα), μη υπόχρωμα κύτταρα, σχέση επιφάνειας προς όγκο μειωμένη. Διαταραχές μεμβράνης ερυθρών, τμήματα ερυθρών μετά απώλεια (ρήξη λόγω δικτύου ινικής, παθολογική επιφάνεια αγγείων, τεχνητές βαλβίδες, μοσχεύματα). Παρατηρείται στην κληρονομική σφαιροκυττάρωση (ομοιόμορφος πληθυσμός), στην αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία (με θετική την άμεση αντίδραση Coombs), αιμοσφαιρινοπάθεια CC, ενώ μικρό ποσοστό μπορεί να εμφανίζεται σε όλες τις αιμολυτικές αναιμίες καθώς και σε εγκύματα ή μετά από μετάγγιση συντηρημένου αίματος.
26. **Σχιστοκυττάρωση:** Κομμάτια ερυθρών αιμοσφαιρίων με ακανόνιστο σχήμα και μέγεθος (έντονη ποικιλοκυττάρωση και ανισοκυττάρωση). Παρατηρείται στην ουραιμία, στο ουραιμικό-αιμολυτικό σύνδρομο, στη διάχυτη ενδαγγειακή πήξη, μικροαγγειοπαθητική αιμολυτική αναιμία, στα εγκύματα, στη θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα, στην τοξική δράση ουσιών, στα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα και στην κακοήθη υπέρταση.
27. **Σωμάτια Howell-Jolly:** Σφαιρικά ερυθροκύτταρα χρώματος ενδοερυθροκυτταρικά σωμάτια (με χρώση Wright), που είναι κομμάτια από τον πυρήνα (πυρηνορρηξίες, θετική χρώση για DNA, Feulgen). Παρατηρούνται στον υποσπληνισμό ή στην κακοήθη αναιμία.
28. **Σωμάτια Heinz:** Μικρά στρογγυλά έγκλειστα, που φαίνονται στο μικροσκόπιο αντιθέσεως φάσεων ή μετά από έμβια χρώση στο κοινό μικροσκόπιο (χρώση με methyl violet ή new methylen blue). Παρατηρούνται σε κληρονομικές αιμολυτικές αναιμίες (π.χ. ανεπάρκεια G6PD), στις δευτερογενείς αιμολυτικές αναιμίες λόγω φαρμάκων (δαψώνη, φαινακετίνη κλπ), στα μεσογειακά σύνδρομα (αιμοσφαιρινοπάθεια H), σε μερικές αιμοσφαιρινοπάθειες (αιμοσφαιρίνη Zurich, Köln, Ube, I κλπ) ή σε ασταθείς αιμοσφαιρίνες.
29. **Τοιμημένα ερυθρά:** Ερυθρά αιμοσφαίρια με μικρό, σαν αποσπασμένο με την κορυφή λαβίδας, τμήμα. Παρατηρούνται στα ερυθρά που περιέχουν έγκλειστο (κατακράτησή του από τον σπλήνα) όπως π.χ. στην έλλειψη G6PD.
30. **Υπερχρωμία:** Δεν είναι δυνατή φυσιολογικά, αλλά είναι επγενές φαινόμενο (ελάττωση του μεγέθους των ερυθρών συγκριτικά με την περιεκτικότητά τους σε αιμοσφαιρίνη). Σφαιροκύτταρα στην αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία, πυκνοκύτταρα στα εκτεταμένα εγκύματα κλπ. Αυξημένο MCHC στην σφαιροκυττάρωση, στην ενδαγγειακή αιμόλυση, σε υψηλούς τίτλους ψυχορροσυγκολυτινών, σε βαριά υπερλιπιδαιμία και σε πολύ βαρείς καπνιστές (σπάνια).
31. **Υποχρωμία:** Ελάττωση της έντασης του χρώματος των ερυθρών αιμοσφαιρίων, αύξηση της κεντρικής ωχρής περιοχής (φυσιολογικά το 1/3 της διαμέτρου του ερυθρού) και μείωση της πυκνότητας της αιμοσφαιρίνης κατά ερυθρό αιμοσφαίριο (MCHC μικρότερη από 30 g/dl, MCH μικρότερη από 27 pg). Οφείλεται σε σιδηροπενία, ανεπαρκή σύνθεση αλύσων αιμοσφαιρίνης και ανεπάρκεια σύνθεσης πορφυρίνης. Παρατηρείται στη σιδηροπενική αναιμία, σιδηροβλαστική αναιμία, μεσογειακή αναιμία, αιμοσφαιρινοπάθειες (C και E), μολυβδίαση, ανεπάρκεια της τρανσφερίνης, αναιμία χρόνιων νοσημάτων (π.χ. νοσήματα κολλαγόνου, κακοήθη νοσήματα κλπ).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Bessis M. Blood smears peinterpreted. Springer International, 1977, New York
2. Chamarin I (editor). Laboratoiry haematology. An account of laboratory technoques. Churchill Livingstone, London 1989.
3. Μελέτης Ι. Από το Αιματολογικό Εύρημα στη Διάγνωση. Εκδόσεις "Νηρέας", Αθήνα, 1996.
4. Williams WJ, Beutler E, Erslex AJ, Lichtman MA. Hematology, McGray-Hill Publishing Company, 4th Edition, New York, 1990.
5. Wintrobe MM. Clinical Hematology, 8th ed. Lea and Febinger, New York, 1991.
6. Μελέτης Ι. Αιμοποιητικό σύστημα-Ερυθροκύτταρα. Στο: Αξιολόγηση των εργαστηριακών εξετάσεων. Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, Αθήνα 1997, σελ 19-43.
7. Hoffbrand AV, Pettit JE. Essential Haematology.(3rd ed) Blackwell Scientific Publ. London, 1993.
8. Μελέτης Ι, Μελέτης Χρ., Σαμάρκος Μ, Γιαταγάνας Ξ, Λουκόπουλος Δ. CD-ROM Ατλας Αιματολογίας, Εκδόσεις "Νηρέας", Αθήνα 1996.
9. Ηλιόπουλος Γ. Φυσιολογία και φυσιοπαθολογία του αίματος και των αιμοποιητικών οργάνων. Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, Αθήνα, 1989.
10. Φερτάκης Α. Αιματολογία. Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, Αθήνα 1992
11. Dreyfus B. Hematologie, Flammarion, Paris 1987.
12. Σταυρίδης Ι. Βασική και διαγνωστική αιματολογία. Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, Αθήνα 1993.
13. Mufti GJ, Flandrin G, Schaefer HE, Sandberg AA, Kanfer EJ . Atlas of Malignant Haematology. Cytology, Histology and cytogenetics. Martin Dunitz, 1006, United Kingtom
14. Zucker-Franklin D, Greaves MF, Grossi CE, Marmont AM. Atlas of blood cells. Function and pathology Lea and Febinger PHILADELPHIA, 1981
15. Hoffbrand AV, Pettit JE. Sandoz Atlas. Klinical haematology, 2nd Edition, Mosby-Wolfe, London, 1994.