

WESTFÄLISCHE
WILHELMS-UNIVERSITÄT
MÜNSTER



Anämiediagnostik

Dr. med. Bernhard Schlüter
Zentrale Einrichtung UKM Labor

Epidemiologie der Anämie

- **WHO: ca. 2 Milliarden Menschen betroffen**
- **Davon 80 % Eisenmangelanämie**
- **Entwicklungsländer Asien/Afrika hohe Prävalenz**
- **Europäische Länder 5-10 % Prävalenz**
- **Besonders betroffen:**
 - Säuglinge, Kleinkinder, prämenopausale Frauen**
 - Schwangere, Ältere**
 - Patienten: CED, Dialyse, Herz-Kreislauf**

Definition der Anämie

Verminderung der Hämoglobin-Konzentration unter die jeweilige Norm

Hb-Werte	Normal	Milde Anämie	Moderate Anämie	Schwere Anämie
Frauen	$\geq 12,0$	11,0–11,9	8,0–10,9	$< 8,0$
Männer	$\geq 13,0$	11,0–12,9	8,0–10,9	$< 8,0$
Gravide	$\geq 11,0$	10,0–10,9	7,0–9,9	$< 7,0$

Klinische Zeichen der Anämie

- Leistungsabfall
- Schwindel
- Ohrensausen
- Schlaflosigkeit
- Blässe
- Tachykardie
- Belastungsdyspnoe

Plus variable klinische Zeichen abhängig von der zugrunde liegenden Erkrankung

Diagnostisches Prozedere

Differenzialblutbild (Blick auf alle Zellreihen)

- Blasten ?
- Leukozyten $> 25.000/\mu\text{l}$ bei Fehlen anderer offensichtlicher Ursachen einer Leukozytose ?
- Thrombozytenzahlen $> 500.000/\mu\text{l}$ (-> myeloproliferative Neoplasie, DD reaktiv) ?
- Bei solchen Hinweisen für hämatologische Grunderkrankung Überweisung zum Hämatologen

Bei isolierter Anämie Orientierung an Erythrozytenindizes (MCH, MCV) und Retikulozyten

Erythrozytenindizes

- **MCV**

$$\text{MCV (fL)} = \frac{\text{HKT}}{\text{RBC}}$$

80 – 96 fl

- **MCH**

$$\text{MCH (pg)} = \frac{\text{HGB}}{\text{RBC}}$$

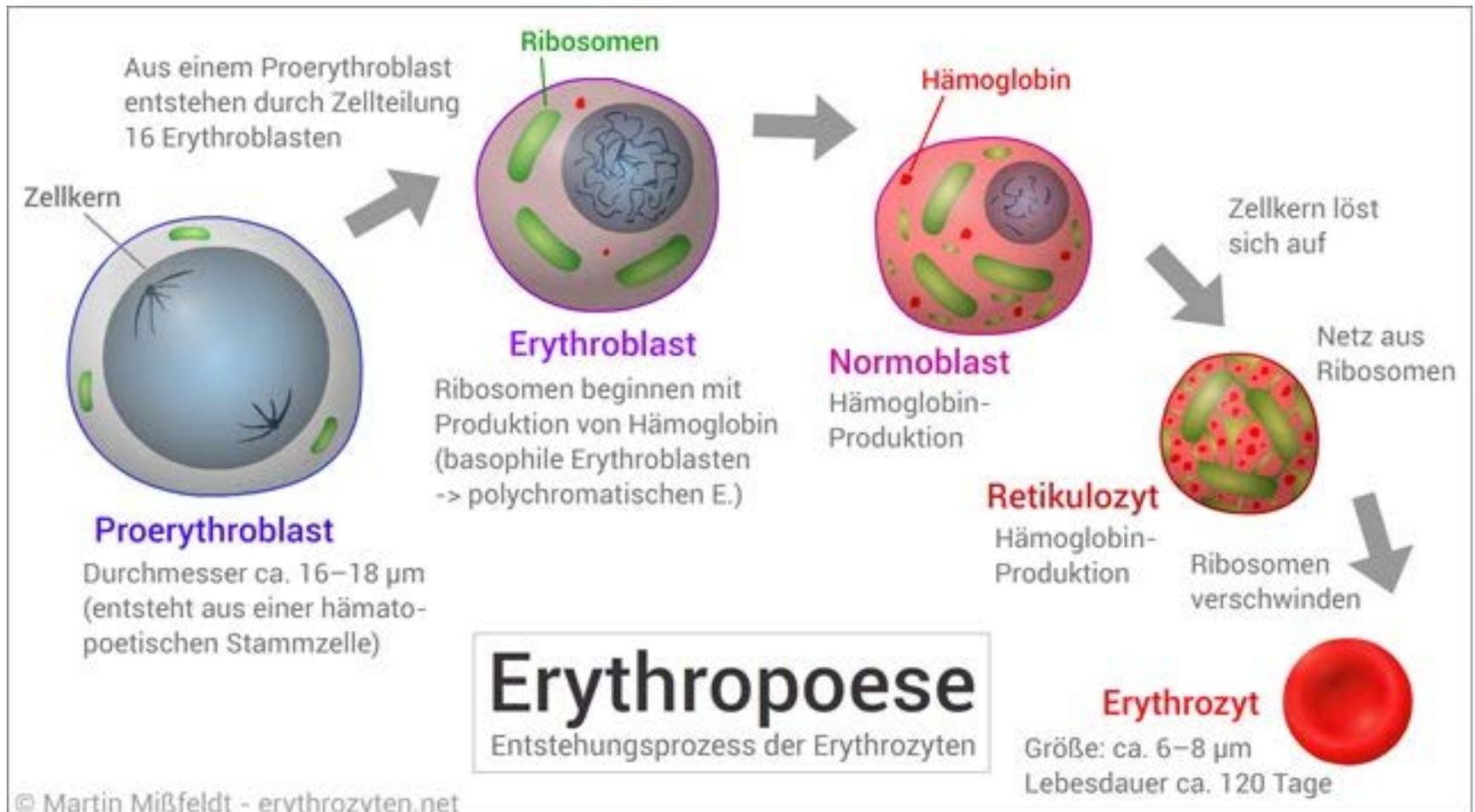
28 – 33 pg

- **MCHC**

$$\text{MCHC (g/dL)} = \frac{\text{HGB}}{\text{HKT}}$$

32 – 35 g/dl

Erythropoese



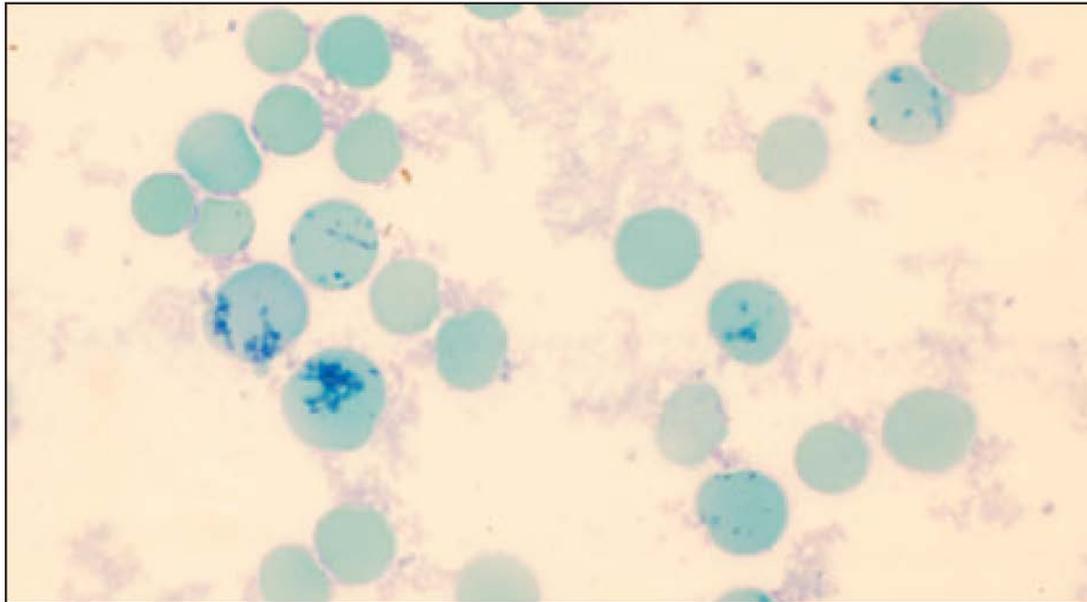
Indikationen zur Retikulozytenzählung

- **Basisdiagnostik bei allen Anämien**
- **Therapiekontrolle bei Substitution von Eisen, Vitamin B12, Folsäure**
- **Therapiekontrolle unter Erythropoetin**
- **Monitoring bei Stammzelltransplantation**

- **Untersuchungsmaterial: EDTA-Blut**

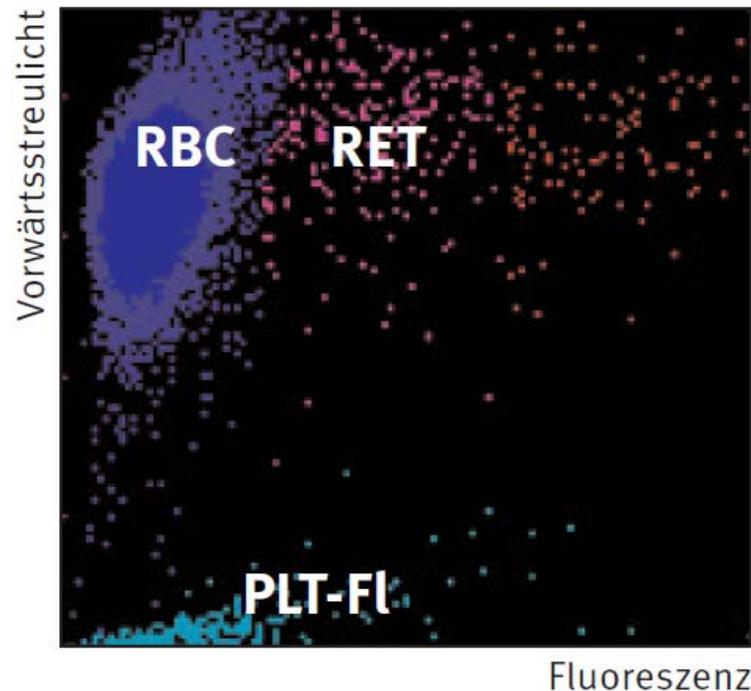
Manuelle Retikulozytenzählung

- Blutausstrich, Färbung mit Supravitalfarbstoff (Brilliantkresylblau)
- Auszählung von mindestens 1.000 Erythrozyten, ca. 5 Gesichtsfelder
- Angabe in Prozent oder in Promille
- Hohe Impräzision bei niedrigen Retikulozytenzahlen



Automatisierte Retikulozytenzählung

- Färbung von Retikulozyten (und Thrombozyten) mit RNA-bindendem Fluoreszenzfarbstoff
- Auszählung von 10.000 – 30.000 Erythrozyten im Reti-Kanal (Fluoreszenz-Durchflusszytometrie)
- Objektive Messung mit hoher Präzision



Retikulozytenparameter

▪ Aussage über die Aktivität der Erythropoese

Relative Angabe (Retikulozyten ‰, %) → Lebensdauer der Erythrozyten
Zellkonzentration (Retikulozyten / μ l) → Leistungsfähigkeit der Erythropoese

▪ Referenzbereiche

Retikulozyten relativ: w 0,54 – 2,02 %
m 0,48 – 1,64 %

Retikulozyten-Konzentration: w 0,025 – 0,102 $10^6/\mu$ l
m 0,026 – 0,078 $10^6/\mu$ l

Retikulozytenproduktionsindex RPI

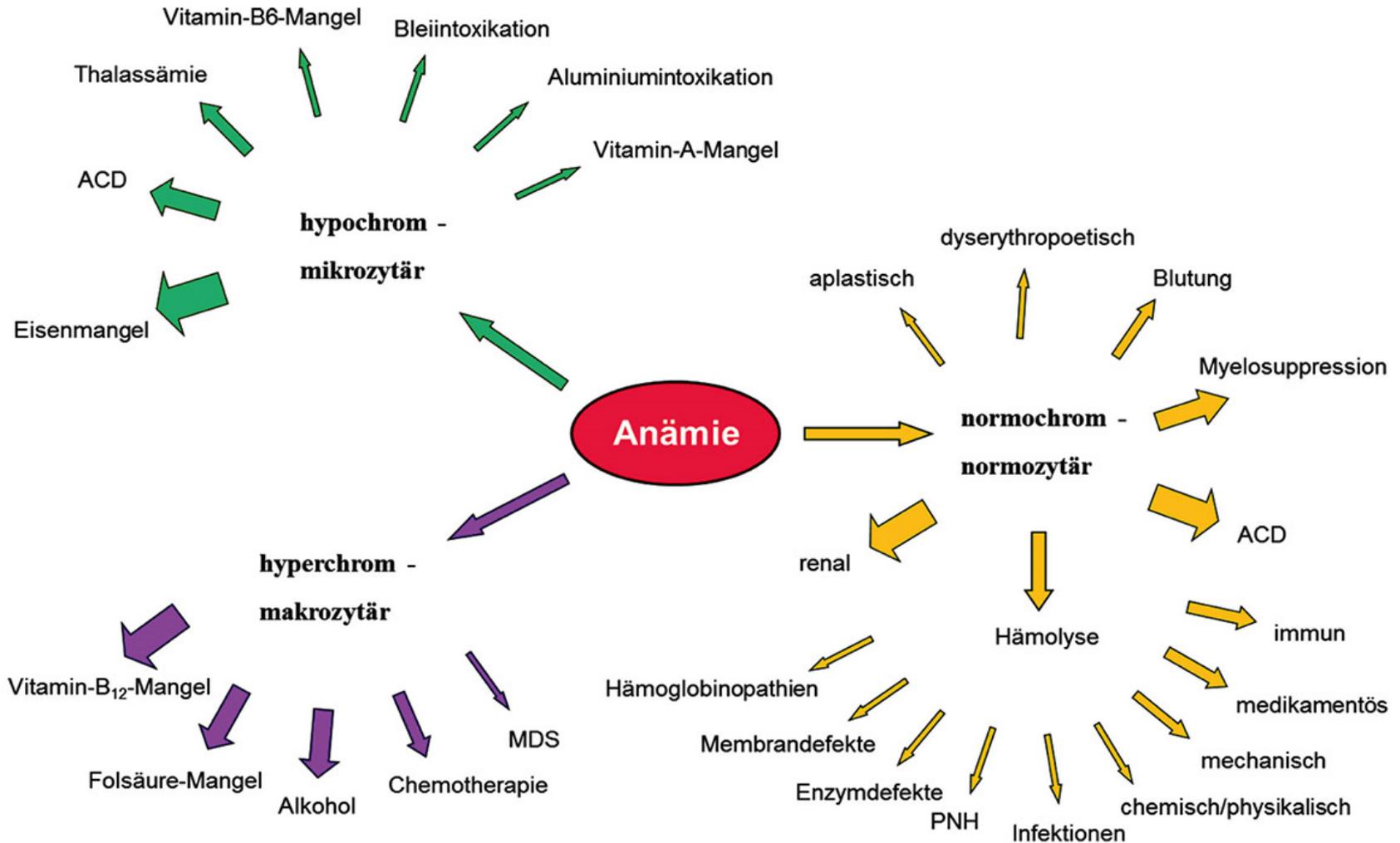
- **Aussage über die Effektivität der Erythropoese**
- **Berücksichtigung des Retikulozytenshifts bei vermehrter Erythropoese**
- **Reifungszeit im Blut umgekehrt proportional zum HK**

Hämatokrit	Reti-Verweildauer im Blut
45% bzw. 0,450 l/l	1 Tag
35% 0,350 l/l	1,5 Tage
25% 0,250 l/l	2 Tage
15% 0,150 l/l	2,5 Tage

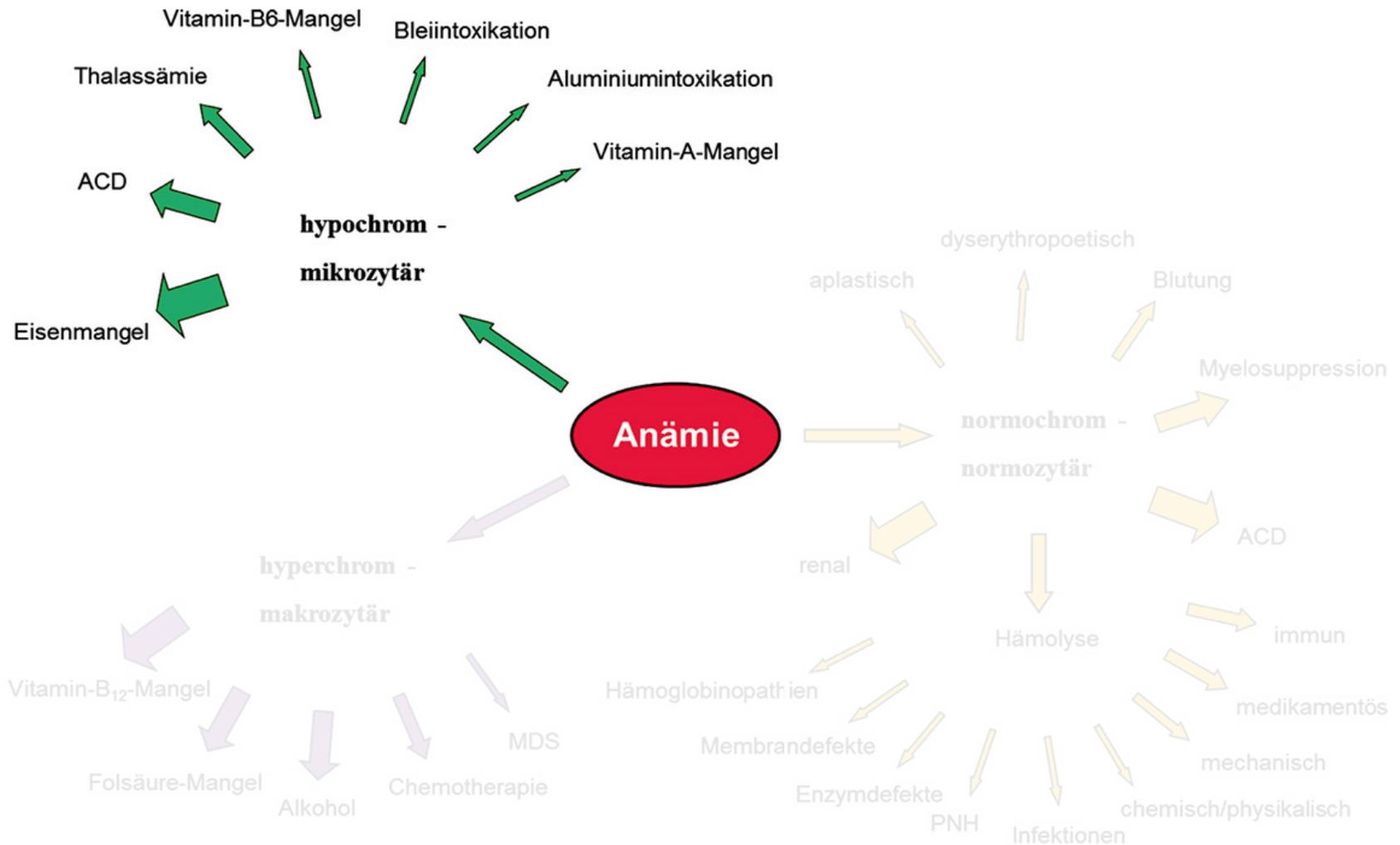
$$RPI = \frac{RET [\%]}{RET\text{-Reifungszeit im Blut in Tagen}} \times \frac{Hkt [l/l] (Patient)}{0,45 (Standard\text{-}Hkt)}$$

Normalfall	1
Anämie mit adäquater Regeneration	> 2
Anämie mit inadäquater Regeneration	< 2

Anämien Übersicht



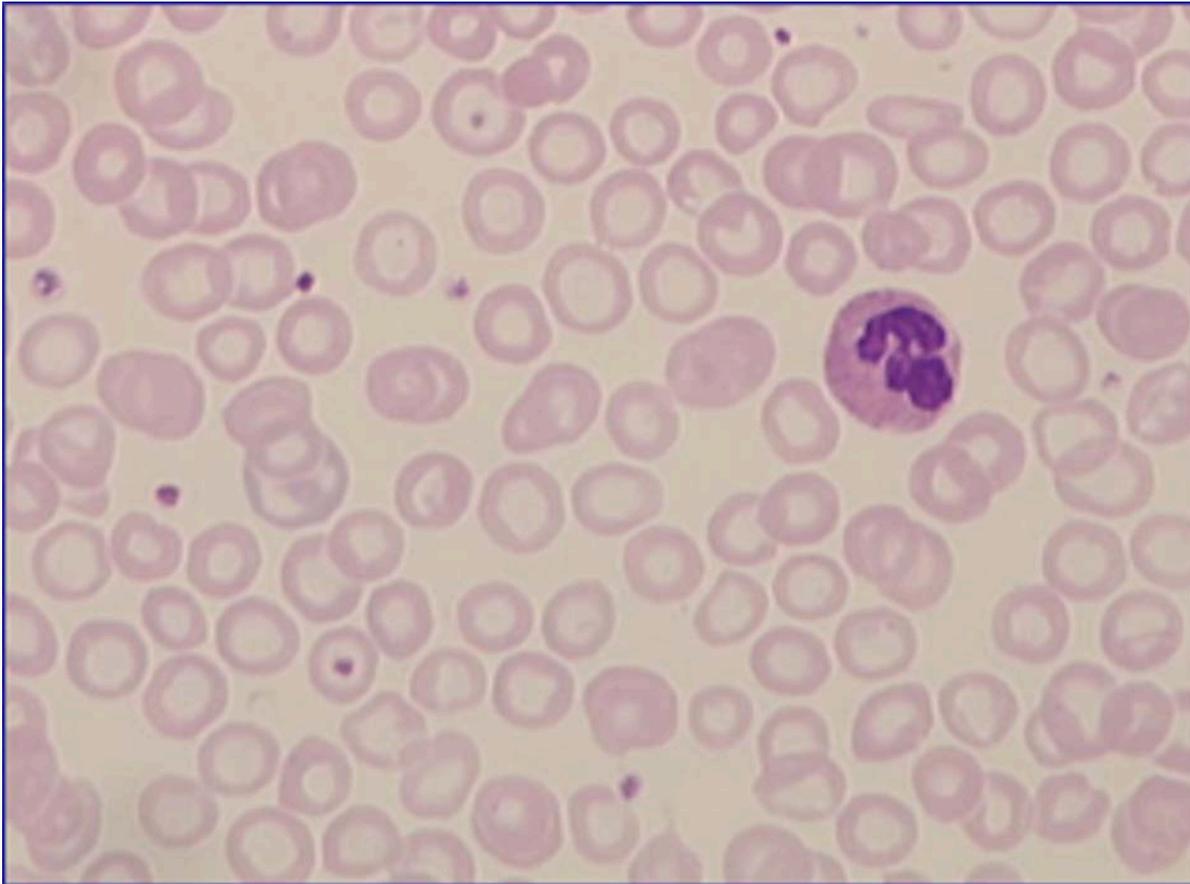
Anämien Übersicht



Mikrozytäre Anämie

MCV < 80 fl

Blutausstrich bei mikrozytärer Anämie



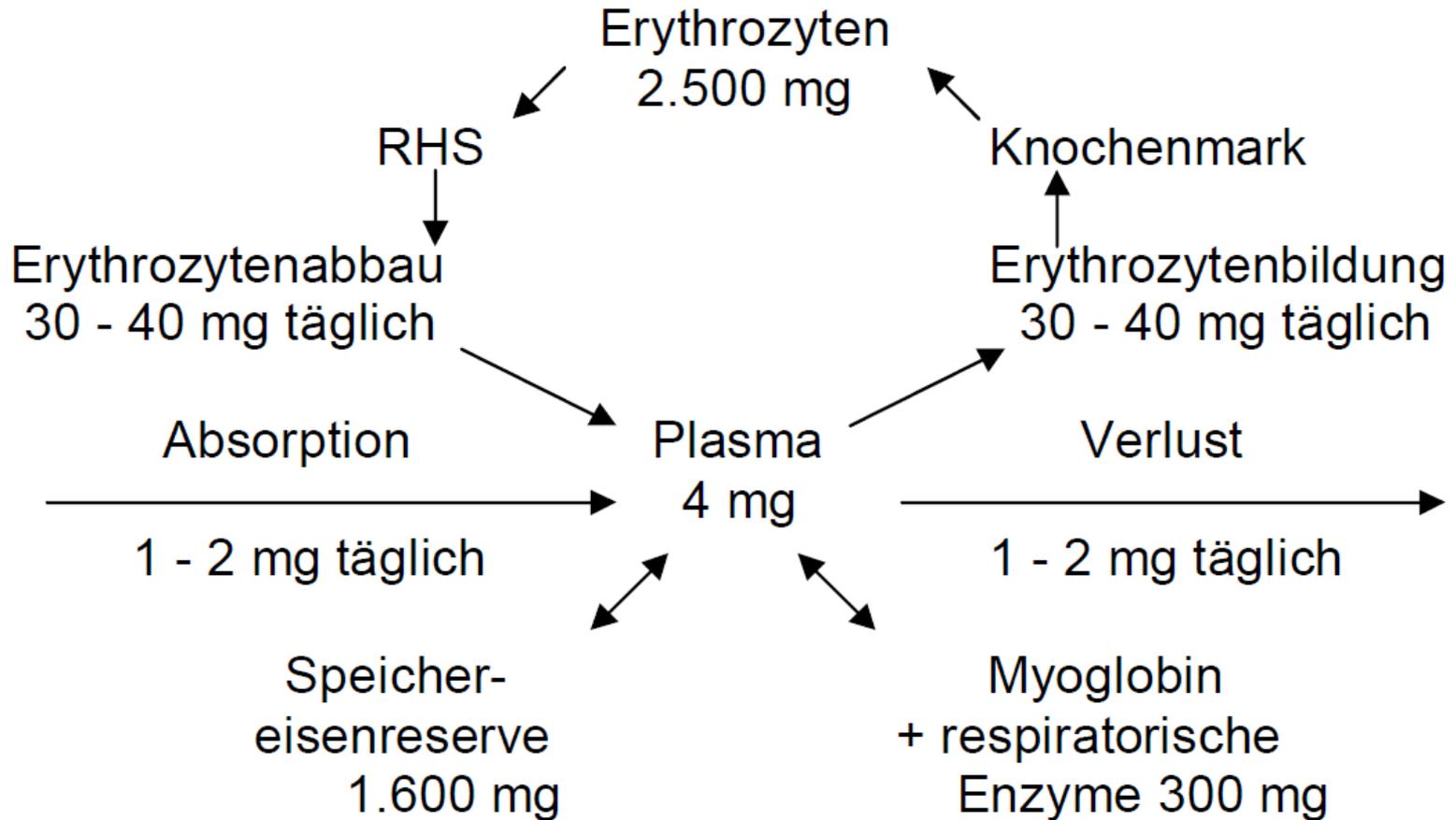
Bildquelle: <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/eisenmangel-und-eisenmangelanaemie/@@guideline/html/index.html>

Häufigste DD bei mikrozytärer Anämie

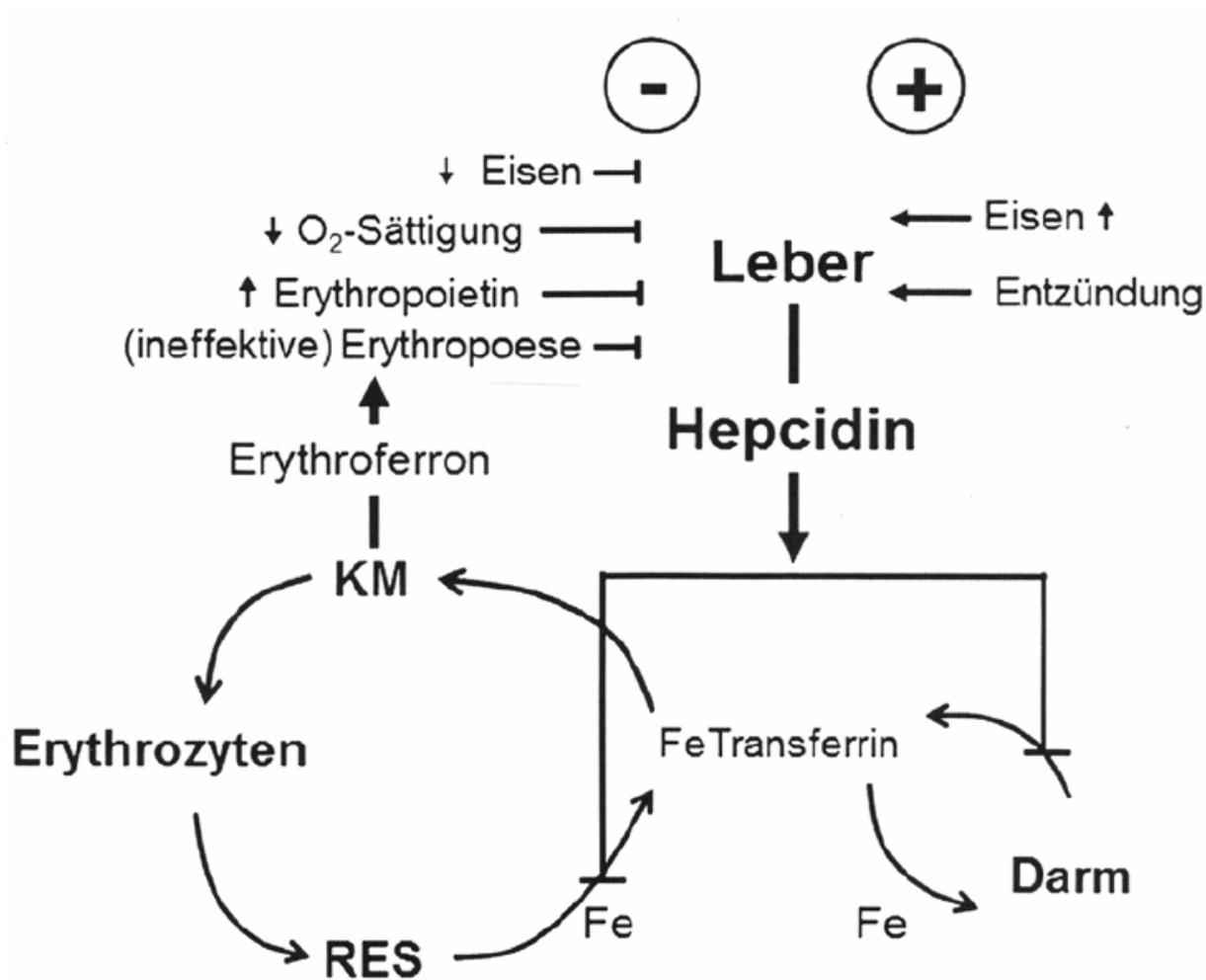
- **Eisenmangelanämie**
- **Anämie der chronischen Erkrankung (ACD)**
 - Meist normozytär, aber auch mikrozytär
- **Gemeinsames Kennzeichen: hyporegenerativ**

- **Thalassämie**
 - Genetische Erkrankung mit verminderter Produktion von alpha- oder beta-Globinketten, ineffektiver Erythropoese und intramedullärer Hämolyse
 - Ethnischer Hintergrund (Mittelmeerraum, Südostasien, Afrika)
 - Diagnose: Hb-Elektrophorese, Genetik

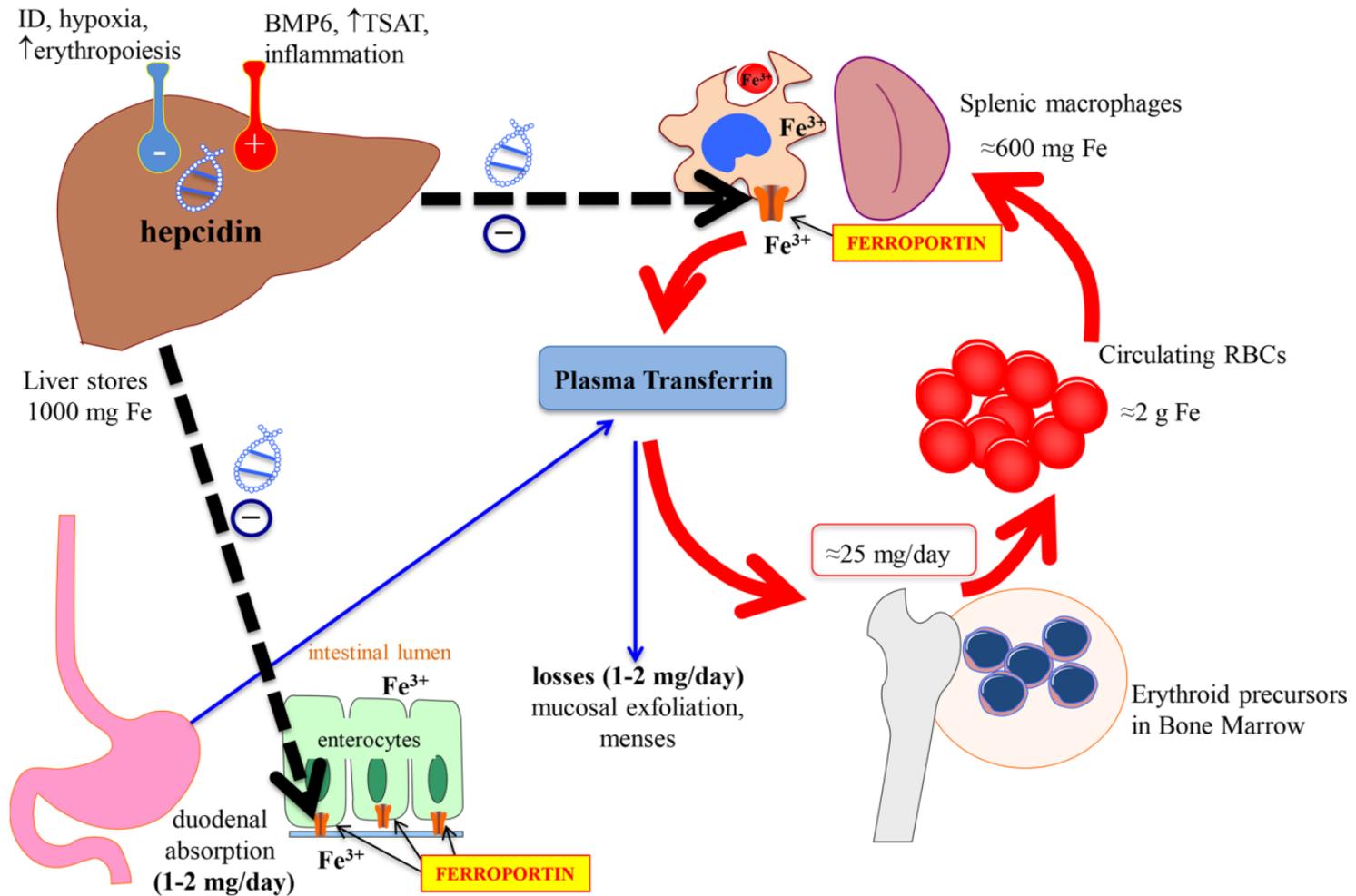
Eisenverteilung im Organismus



Eisenstoffwechsel



Eisenstoffwechsel



Ursachen des Eisenmangels

Missverhältnis zwischen Aufnahme und Bedarf

- Refluxösophagitis, Hernien, Ulcera, Polypen,
- Karzinome, chronische Entzündung, Angiodysplasien, M. Osler, u.a.
- Menstruation
- Blutspenden
- Dialyse
- pulmonale Häm siderose

Verlust durch Blutung

- Schwangerschaft
- Wachstum
- Hochleistungssport
- chronische intravasale Hämolyse

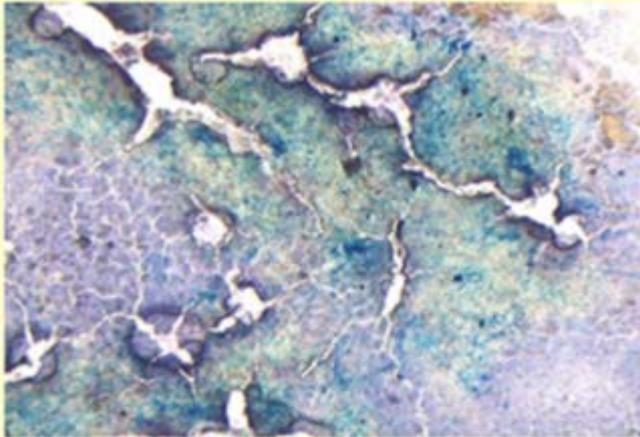
Erhöhter Bedarf

- inadäquate Ernährung
- atrophische Gastritis, Achlorhydrie, Magenresektion, bariatrische OP
- Malabsorption, Zöliakie, M. Whipple
- chronisch-entzündliche Darmerkrankungen

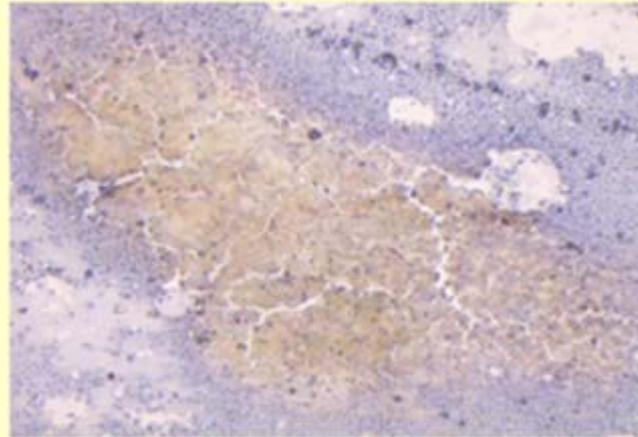
Verminderte Aufnahme

Morphologische Parameter zur Beurteilung des Eisenstatus

- Mikroskopisches Blutbild
- Knochenmarksausstrich



Eisenspeicher gefüllt



Eisenspeicher entleert

Ferritin

- Marker für das **Speichereisen**
- 1 µg/ml Serum-Ferritin entspricht bei Gesunden in etwa 10 mg Speichereisen
- Referenzbereich: 30 – 400 µg/l (M), 15 – 150 µg/l (F)
- Empfindlichster Parameter eines Speichereisenmangels (< 12 µg/l)
- Diagnostischer Nachteil: Akutphaseprotein
- Erhöhung bei Entzündungen/Tumoren, Lebererkrankungen, dann Maskierung eines Speichereisenmangels möglich

Eisen

- **Diagnostisch obsolet als Einzelparameter** zur Beurteilung des Eisenstatus
- Nur in Verbindung mit weiteren Parametern zu interpretieren (-> Transferrinsättigung)
- Ausgeprägte zirkadiane Schwankungen
- Bei Akutphase und Eisenmangel niedrig

Transferrinsättigung

- Marker für das zur Verfügung stehende Funktionseisen
- Berechnung aus Serum-Eisen und Transferrin:
Transferrinsättigung [%] = $\frac{\text{Serumeisen } [\mu\text{g/dl}]}{\text{Transferrin } [\text{mg/dl}]} \times 71$
- Referenzbereich: 16-45 %
- $\leq 15\%$ Hinweis auf eisendefizitäre Erythropoese
- Nachteil: Zirkadiane Schwankungen wie Eisen
- Bei Akutphasereaktion kann die Tf-Sättigung trotz normaler Eisenspeicher erniedrigt sein

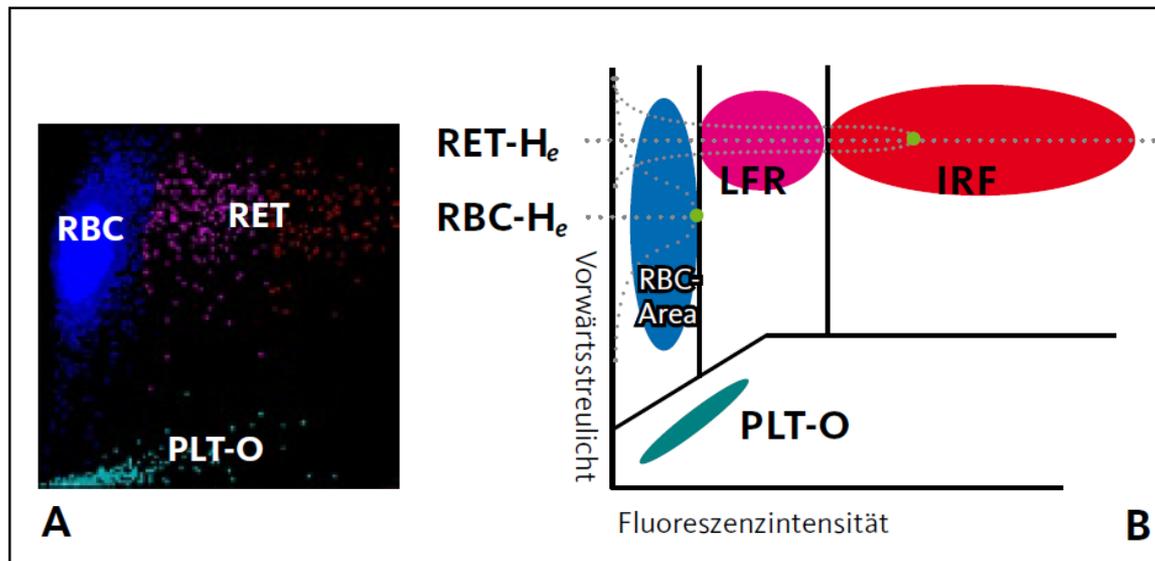
Löslicher Transferrinrezeptor (sTfR)

- Abspaltung der extrazellulären Domäne zellulärer TfR
- Serumkonzentration abhängig von 2 Faktoren
 1. Aktivität der Erythropoese
 2. Eisenstatus
- sTfR erhöht bei Hämolyse, Thalassämie, Polyzythämie und bei Eisenmangel
- Referenzbereich methodenabhängig, Immunoassay
- Nützlich in der DD der eisendefizienten Erythropoese:

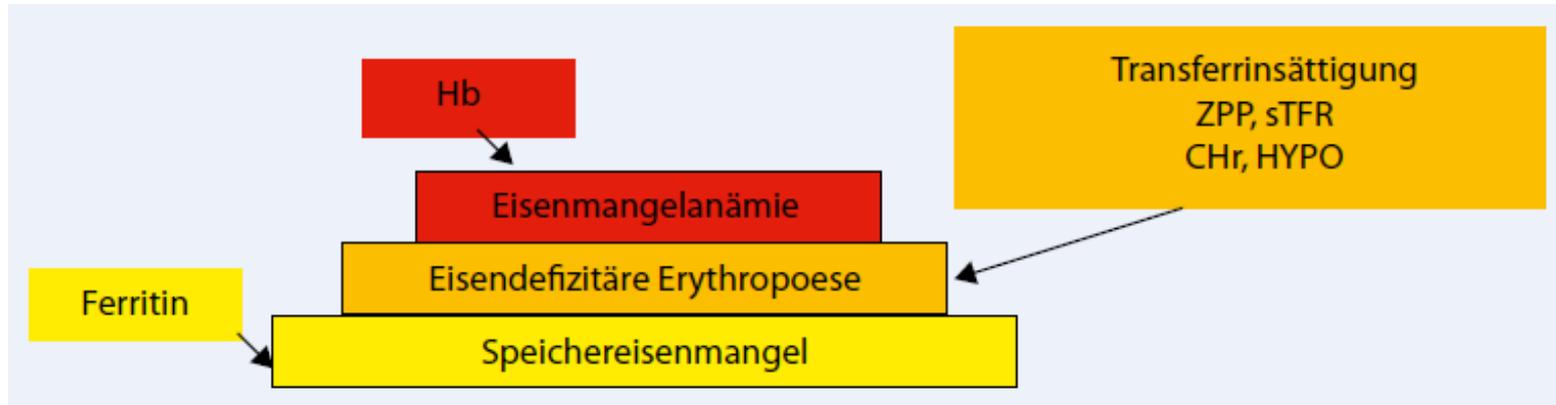
Absoluter Eisenmangel – sTfR erhöht
Funktioneller Eisenmangel (ACD) – sTfR normal

Retikulozyten-Hämoglobin: CHr oder RET-H_e

- Maß für den Hb-Gehalt neu gebildeter Erythrozyten
- Referenzbereich: 28 – 35 pg
- Frühzeitige Erkennung einer eisendefizitären Erythropoese
- < 26 pg beweisend für eisendefiziente Erythropoese
- Einsatz zum Monitoring bei Eisen- und EPO-Therapie
- Keine Beeinflussung durch Akutphase



Stadien des Eisenmangels



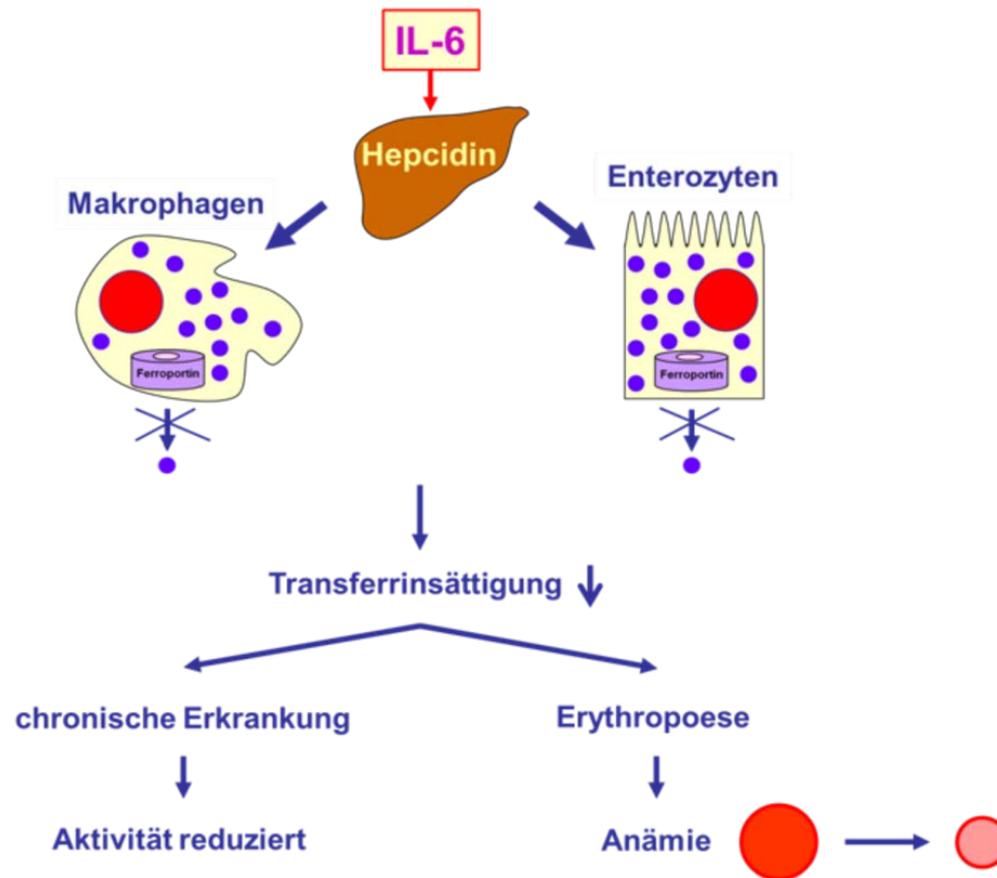
	Stadium I (Speichereisenmangel)	Stadium II (eisendefizitäre Erythropoese)	Stadium III (Eisenmangelanämie)
<i>Ferritin</i>	↓	↓	↓
<i>Transferrinsättigung</i>	n	↓	↓
CHr	n	↓	↓
HYPO	n	↑	↑
ZPP	n	↑	↑
sTFR	n	↑	↑
<i>Hämoglobin</i>	n	n	↓

Stadium-II-Test: Transferrinsättigung, CHr, HYPO, ZPP, sTFR. **CHr** „Content of hemoglobin in reticulocytes“ (Hämoglobingehalt der Retikulozyten); **HYPO** hypochrome Erythrozyten; **n** normal; **sTFR** „soluble transferrin receptor“ (löslicher Transferrinrezeptor); **ZPP** Zinkprotoporphyrin.

Ursachen der Anämie chronischer Erkrankungen (ACD)

Krankheit		Prävalenz der ACD
Infektion	Viral, bakteriell, parasitär, fungal	18–95%
Malignome	Solide Tumoren Hämatologisch	30–77%
Chronische Nierenerkrankungen		23–50%
Autoimmunerkrankungen	Rheumatoide Arthritis Systemischer Lupus erythematodes Vaskulitis Sarkoidose Bowel disease	30–77%
Chronische Herzerkrankungen		

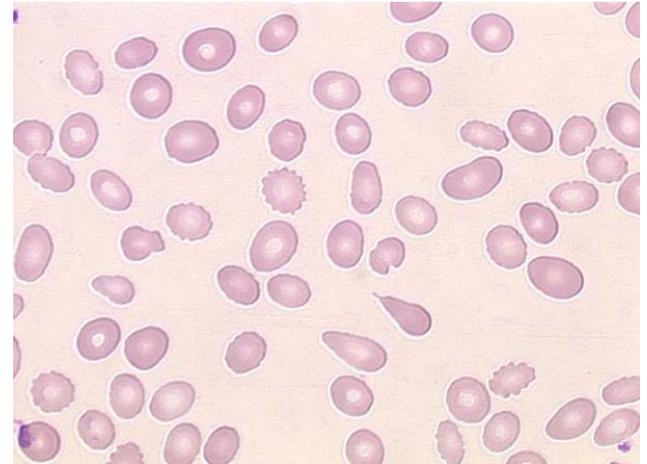
Anämie chronischer Erkrankungen (ACD)



Inflammatorische Zytokine induzieren in der Leber Hepcidin:
Blockade der Eisenfreisetzung aus Darmepithel und RES
Gestörte Progenitorproliferation, reduzierte EPO-Produktion
Eisenverwertungsstörung trotz voller Eisenspeicher!

Laborbefunde bei ACD

- Meist normozytäre, normochrome Anämie
- Mikrozytäre, hypochrome Form möglich
- Hyporegenatorisch (Retikulozyten niedrig oder N)
- Erythrozyten mit Anisozytose, Poikilozytose
- Tf-Sättigung niedrig, Akutphaseproteine erhöht
- EPO-Spiegel noch normwertig, für Anämie jedoch inadäquat!



ACD kann mit Eisenmangel kombiniert sein!

DD Eisenmangelanämie vs. ACD

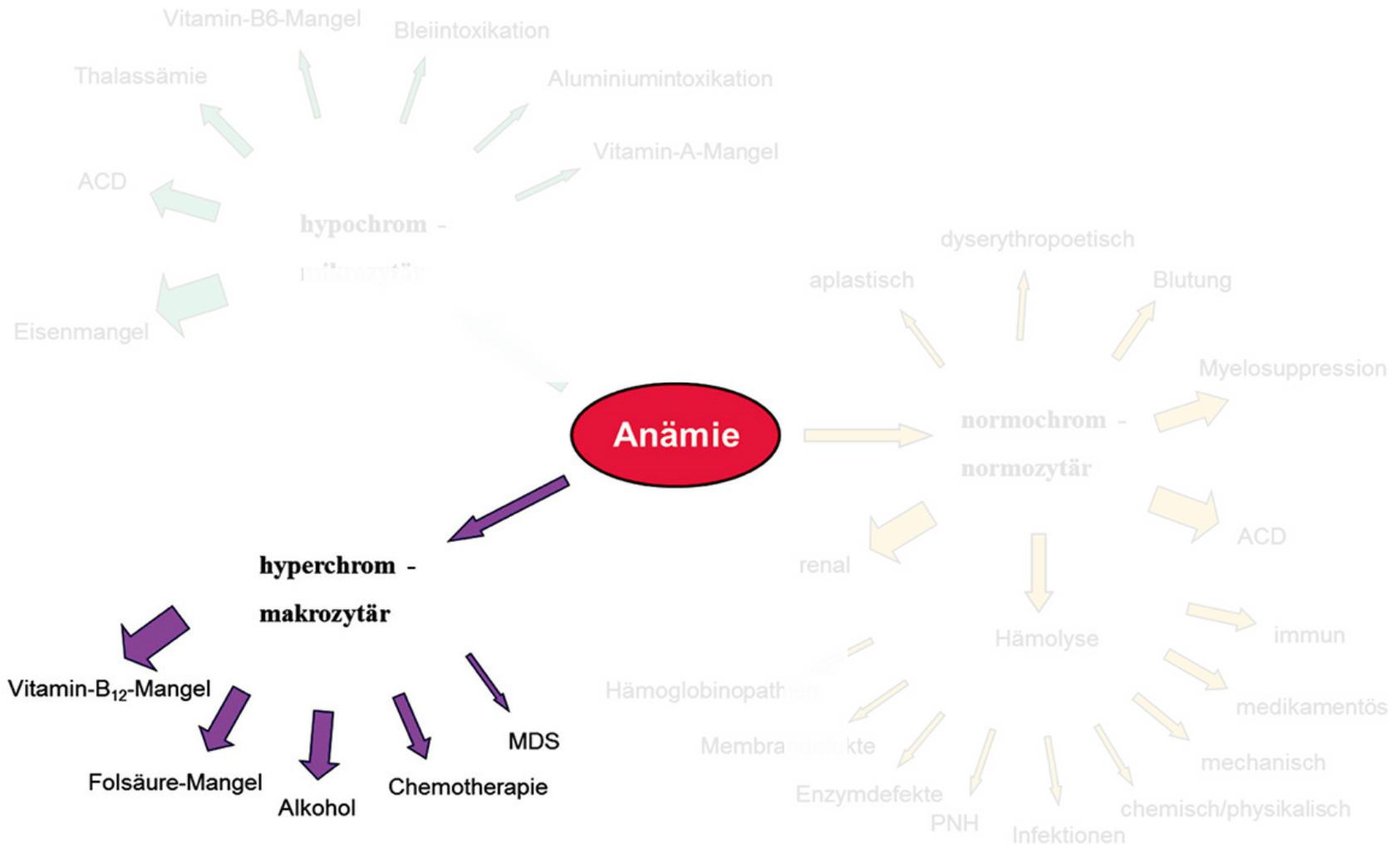
Parameter	Eisenmangelanämie	ACD	ACD mit Eisenmangel
Ferritin	↓	↑	↑ /n
Transferrinsättigung	↓	↓	↓
CHr	↓	n/↓	↓
HYPO	↑	n/↑	↑
ZPP	↑	↑	↑
sTFR	↑	n	↑
Hepcidin	↓	↑	↑

ACD „Anemia of chronic disorders“ (Anämie der chronischen Erkrankungen); *CHr* „content of hemoglobin in reticulocytes“ (Hämoglobingehalt der Retikulozyten); *HYPO* hypochrome Erythrozyten; *n* normal; *sTFR* „soluble transferrin receptor“ (löslicher Transferrinrezeptor); *ZPP* Zinkprotoporphyrin.

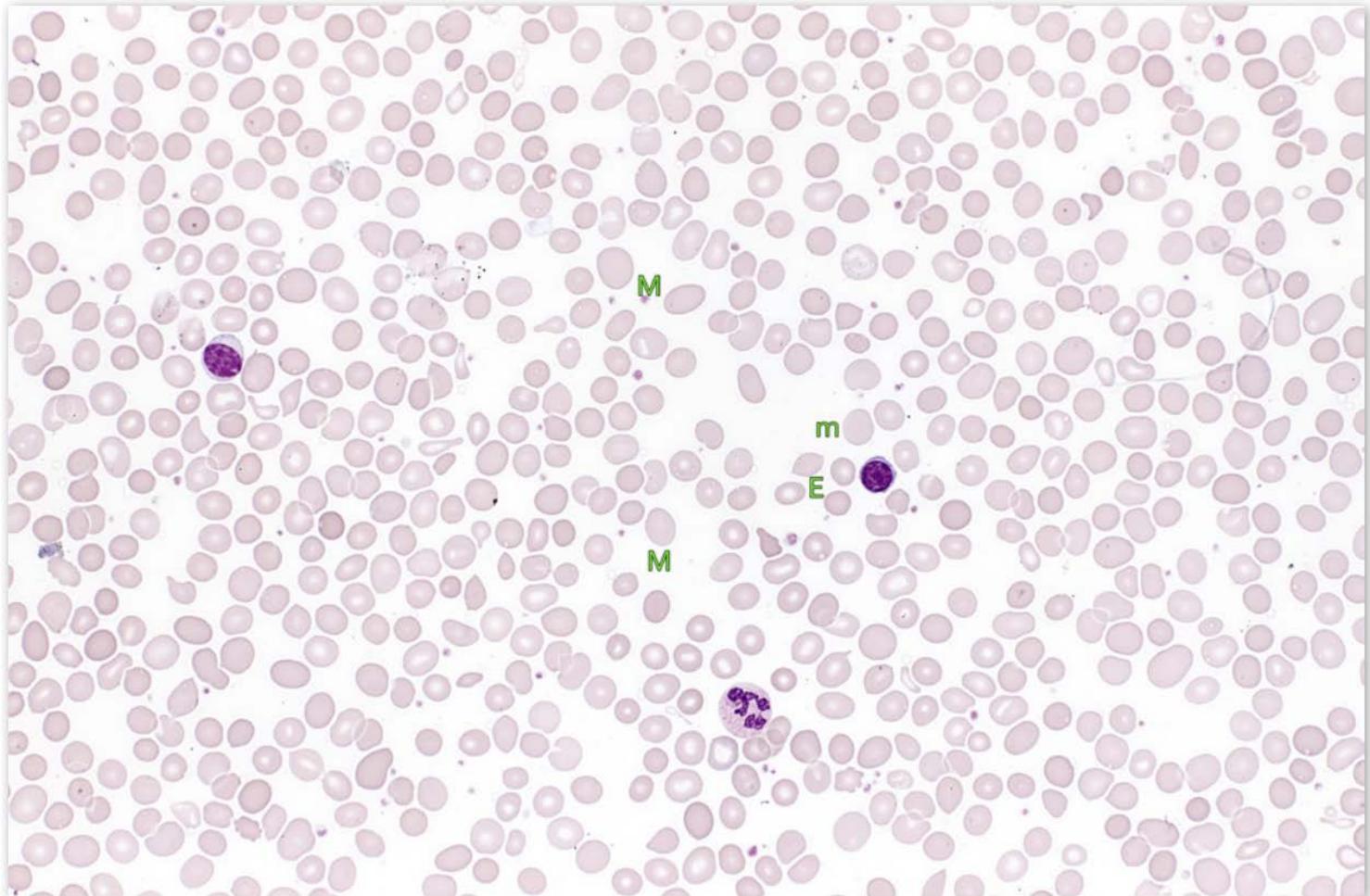
Makrozytäre Anämie

MCV > 100 fl

Anämien Übersicht



Blutausstrich bei megaloblastärer Anämie



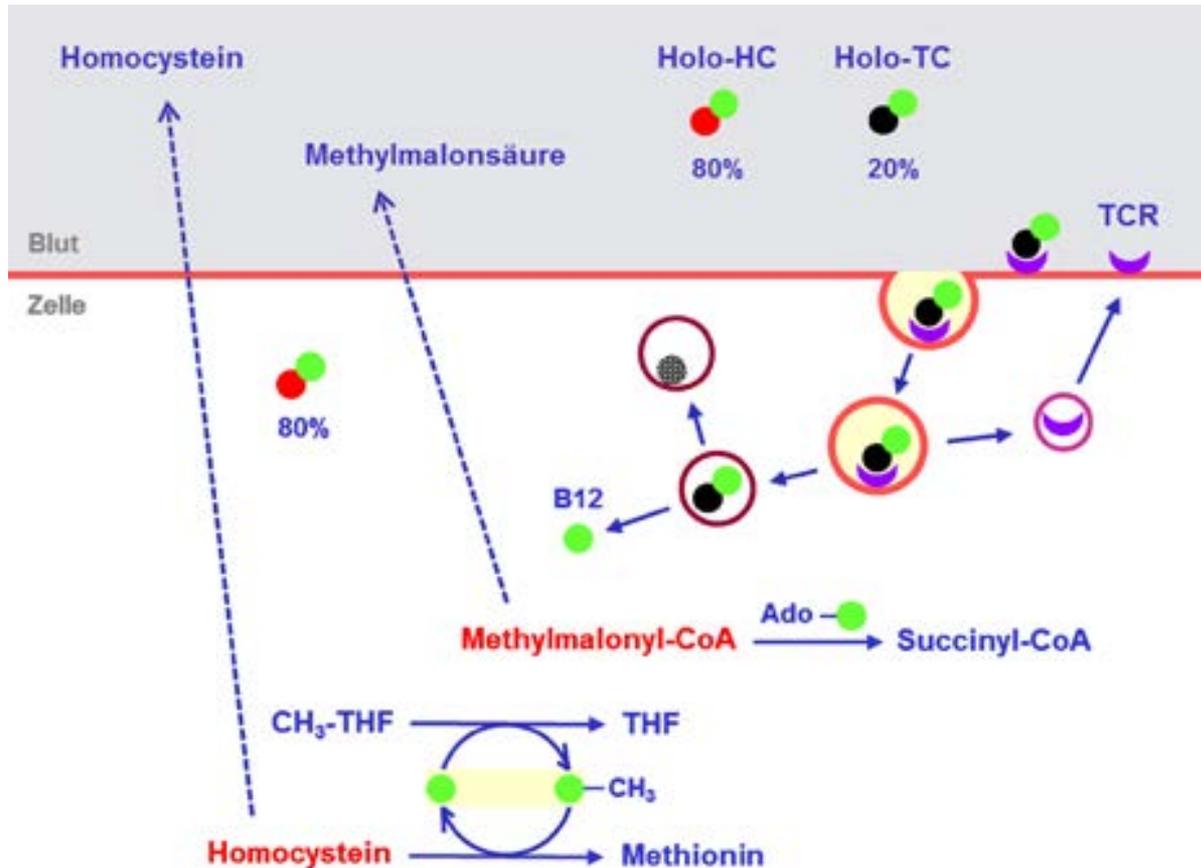
Bildquelle: Th. Binder

Peripherer Blutausstrich E: normale Erythrozyten; m: Makrozyt; M: ovale Megalozyten; ein Segmentkerniger mit sehr schlankem hypersegmentiertem Kern

Ursachen für Vit.B12- oder Folsäuremangel

Mechanismus	Beispiele
GIT-Resorptionsstörungen	Vit. B12: Perniziosa (Autoimmun-gastritis mit AAK gegen Parietalzellen und Intrinsic factor), Pancreasinsuffizienz, Magen/Darmresektion, Fischbandwurm, Crohn, Sprue, ZES
Unzureichende Zufuhr	Alkohol, Fehlernährung
Erhöhter Bedarf	Schwangerschaft, Hämolyse, NPL
Medikamente	Gestörte Resorption (Vit. B12) oder gestörter Metabolismus (FS)
Angeborene Störungen	Enzymdefekte (FS), TCII-Mangel, u.a. (selten)

Vitamin B12- und Folsäurestoffwechsel



Bei Vit.B12-und Folsäuremangel gestörte DNS-Synthese mit Auswirkung auf die Hämatopoese (+ neurologische Störungen bei Vit.B12 Mangel)

Labordiagnostik des Vit.B12/Folsäuremangels

- Bestimmung von Vit.B12/Folsäure im Plasma

	Normal	I. Frühe negative B12-Balance	II. Entleerung der Vitamin B12-Speicher	III. B12-Mangel der Erythropoese	IV. B12-Mangel-Anämie
HoloTC (pg/ml)	> 50	< 40	< 40	< 40	< 40
HoloHC (pg/ml)	> 180	> 180	< 150	< 100	< 100
Homocystein *)	Normal	Normal	Normal	↑	↑
MMA	Normal	Normal	Normal	↑	↑
Hypersegmentation	Nein	Nein	Nein	Ja	Ja
Erythrozyten	Normal	Normal	Normal	Normal	Megalozyten
MCV	Normal	Normal	Normal	Normal	↑
Hämoglobin	Normal	Normal	Normal	Normal	↓
Myelinschädigung	Nein	Nein	Nein	(Ja)	Ja

HoloHC = Holohaptocorrin, HoloTC = Holotranscobalamin, MMA = Methylmalonsäure

*) Anm.: Homocystein ist auch bei Folat- oder Vitamin B6-Mangel erhöht.

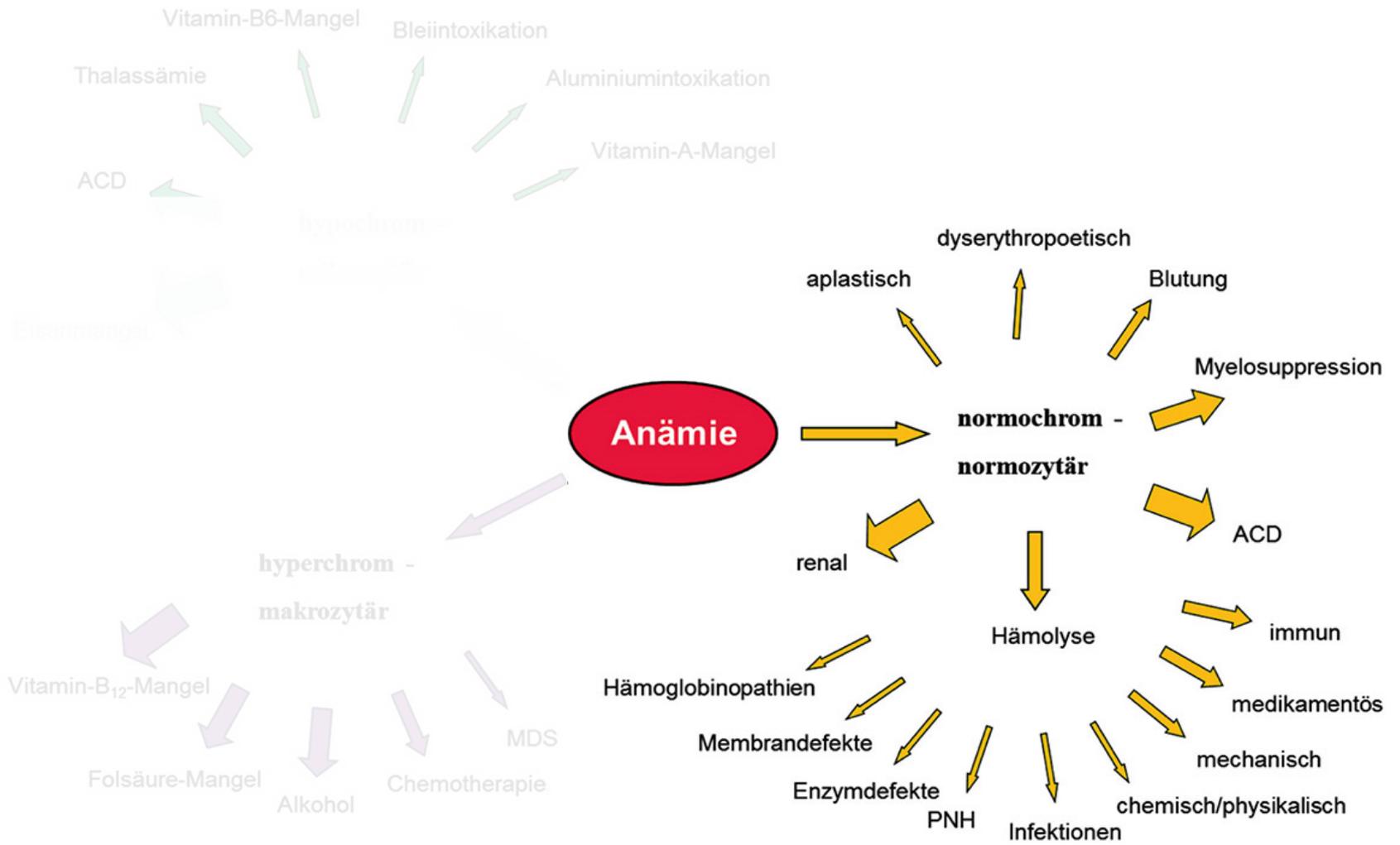
Herold, Innere Medizin 2020

Frühzeitige Erkennung eines Vit.B12-Mangels durch niedriges Holo-TC sowie erhöhtes Homocystein/MMA

Normozytäre Anämie

MCV > 80 fl und < 100 fl

Anämien Übersicht

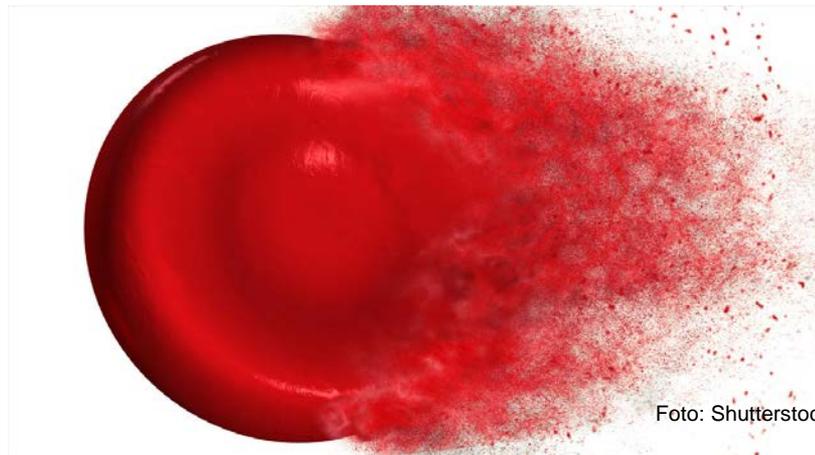


Häufige DD bei normozytärer Anämie

	Retikulozyten	Weitere Befunde
Renale Anämie	niedrig	Kreatinin, Erythropoetin
Verdrängung (Leukämie, Lymphome, Karzinosen)	niedrig	Manuelles Diff.-BB, Knochenmarkpunktion
Aplastische Anämie	niedrig	Knochenmarkpunktion
Blutung	Normal oder erhöht	Klinische Untersuchung
Hämolyse	erhöht	Hämolyseparameter, Coombstest

Hämolytische Anämien

- **Definition: verkürzte Erythrozytenlebenszeit (auf < 100 Tage)**
- **Intravaskuläre/extravaskuläre Hämolyse**
 - Nur bei intravaskulärer Hämolyse sichtliche Verfärbung von Serum und Urin (freies Hb, Hämoglobinurie)
- **kompensierte Hämolyse bei gesteigerter Erythropoese und normalem Hb**
- **LDH, Haptoglobin, Bilirubin, Retikulozyten**
- **Coombs-Test**



Einteilung hämolytischer Anämien

Korpuskulär

Angeboren:

- Membrandefekte (*Sphärozytose*)
- Enzymdefekte (*G6PD, PK*)
- Hämoglobinopathien
(*Thalassämie, anomale Hb*)

Erworben:

- **PNH**
Paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie
erworbener klonaler Gendefekt (PIG-A
Gen) hämatopoetischer Stammzellen
Fehlen komplementinaktivierender
Proteine auf der Zelloberfläche

Extrakorpuskulär

Immunologisch

(Coombstest-positiv)

- **Alloimmun** (*Transfusionsreaktion,*
MHN mit Rh-Imkompatibilität)
- **Autoimmun** (*Wärme-AK, Kälte-AK*
Medikamenten-induziert, Donath-
Landsteiner Typ)

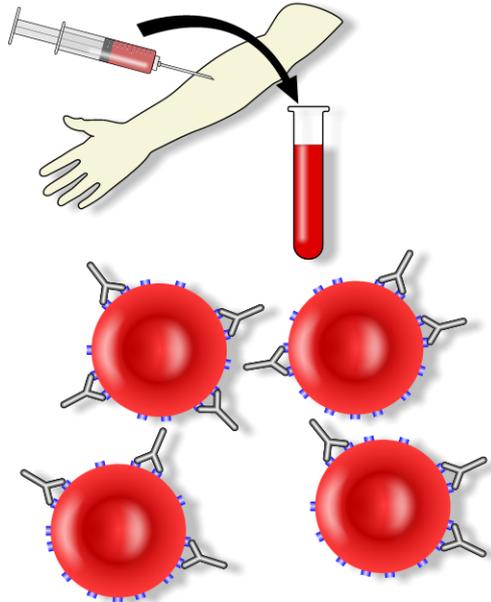
Infektion (*Malaria*)

Exogene Noxen

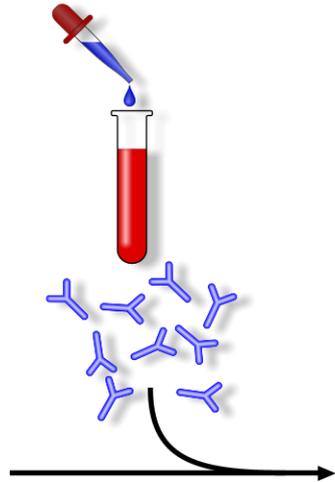
(*mechanisch/thermisch/chemisch, z.B.*
Schlangengift, Blei, Arsen)

Mikroangiopathisch (*HUS, TTP*)

Direkter Coombs Test

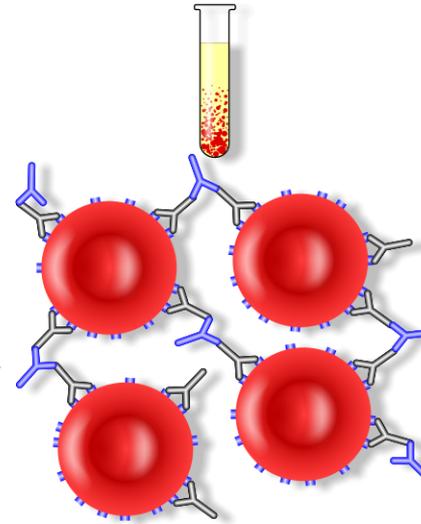


Blutprobe eines Patienten mit immunvermittelter hämolytischer Anämie: Die Oberfläche der roten Blutkörperchen ist mit Antikörpern besetzt.



Gewaschene rote Blutkörperchen des Patienten werden mit Anti-Humanantikörpern (Coombs-Serum) inkubiert

Positives Testergebnis



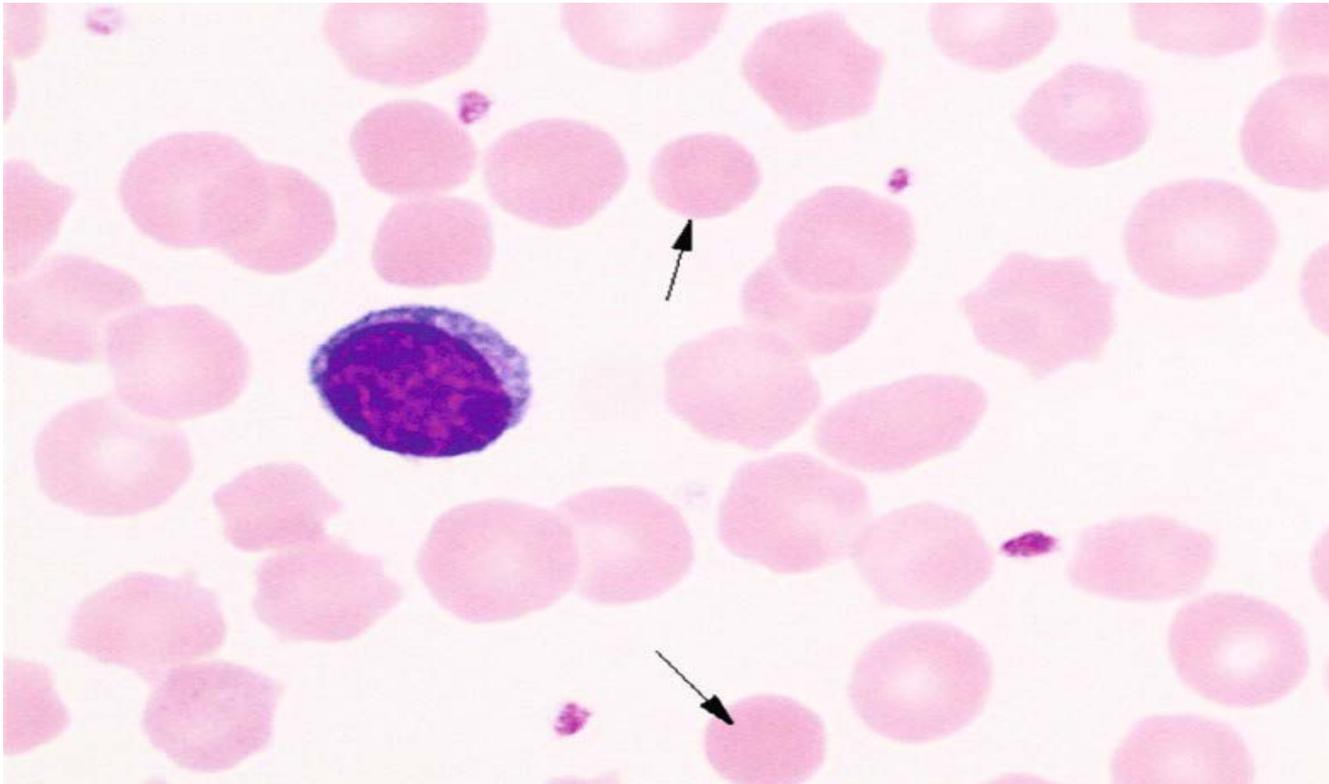
Die roten Blutkörperchen verklumpen: Die Anti-Humanantikörper vernetzen die roten Blutkörperchen, indem sie die auf der Oberfläche gebundenen Antikörper binden.

Legende	
	Oberflächenantigene der roten Blutkörperchen
	menschlicher Antikörper gegen rote Blutkörperchen
	Antikörper gegen menschliche AK (Coombs-Serum)

Agglutination im DAT = Beweis für die Präsenz von an Ery's gebundenen Antikörpern



Sphärozytose

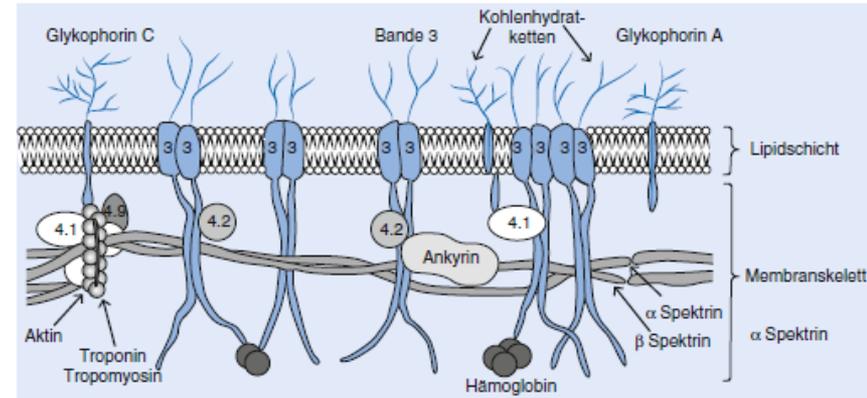


Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik, 2020

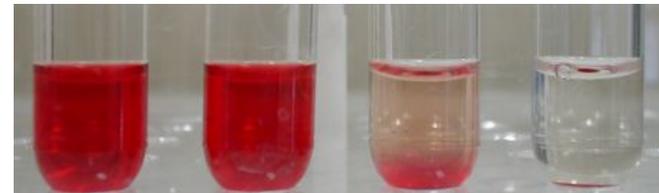
Häufigste angeborene hämolytische Anämie in Nordeuropa, Prävalenz 1:5000

Sphärozytose

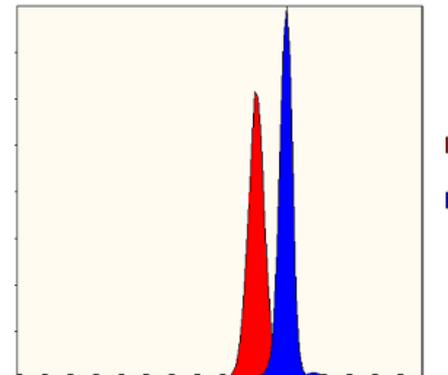
- Genetischer Membrandefekt der Erys -> gestörte Ionenpermeabilität -> Aufkuglung der Erys -> erhöhter Abbau der Sphärozyten in der Milz -> evtl. hämolytische Krisen
- Labor: MCHC erhöht, Sphärozyten im BB



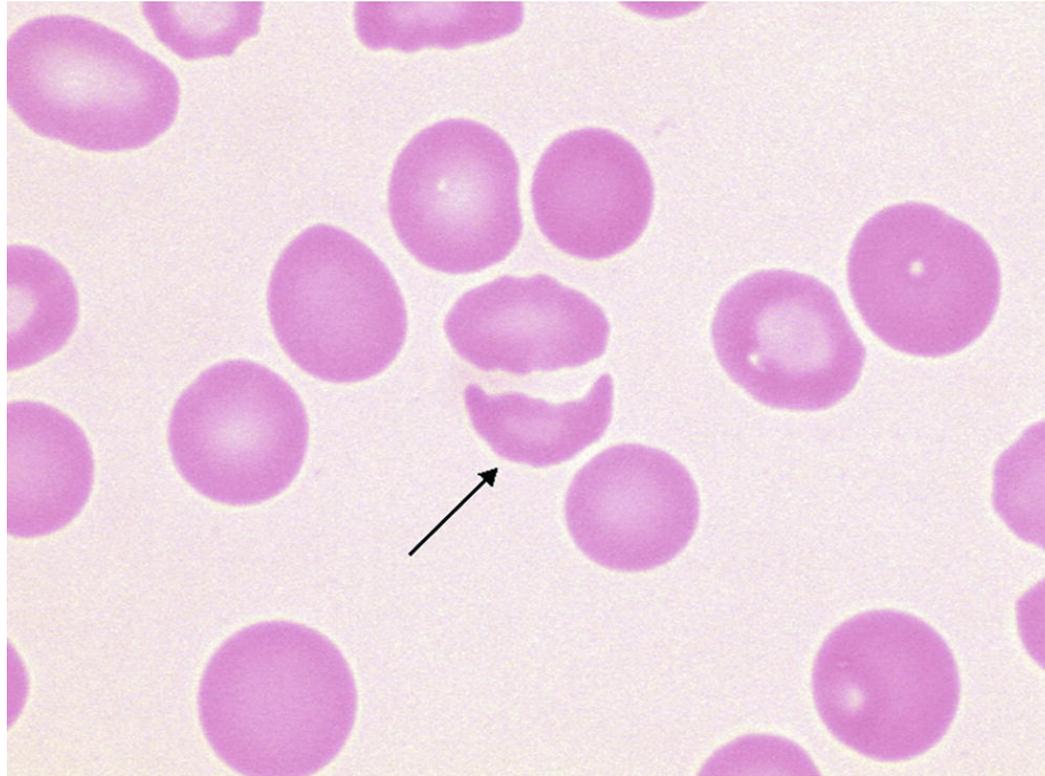
verminderte osmotische Resistenz
Referenzbereich: 0,30 % - 0,46 %



EMA-Test positiv (hohe Sensivität/Spezifität)
Eosin-5-Maleimid-Bindung an defekte Membranproteine reduziert



Thrombotisch-Thrombozytopenische Purpura (TTP)



Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik, 2020

**Seltene Form einer thrombotischen Mikroangiopathie
mit hämolytischer Anämie als internistischer Notfall**

Thrombotisch-Thrombozytopenische Purpura (TTP)

- Angeborene oder erworbene Minderfunktion von ADAMTS-13, der von-Willebrand Faktor-spaltenden Protease
- Anhäufung ultralanger vWF-Multimere -> Mikrothromben und Minderperfusion betroffener Organe (Niere, ZNS)
- Internistischer Notfall
- Labor:
Coombs-negative Hämolyse, schwere Thrombopenie, Niereninsuffizienz, **Fragmentozyten**, Gerinnungstests Quick und aPTT unauffällig
spezifisch: ADAMTS-13 Aktivität erniedrigt
- Indikation zur Notfall-Plasmapherese

