

Anämiediagnostik

Dr. med. Bernhard Schlüter
Zentrale Einrichtung UKM Labor

Wintersemester 2021/22

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	≥ 12,0	11,0–11,9	8,0–10,9	< 8,0
Männer	≥ 13,0	11,0–12,9	8,0–10,9	< 8,0
Gravide	≥ 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 andere Zellreihen)

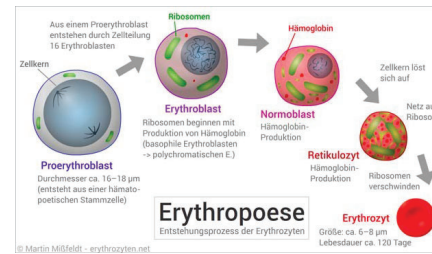
- Blasten
- Leukozyten > 25.000/µl bei Fehlen anderer offensichtlicher Ursachen einer Leukozytose
- Thrombozytenzahlen > 500.000/µl (-> myeloproliferative Neoplasie, DD reaktiv)
- Bei solchen Hinweisen für hämatologische Grunderkrankung Überweisung zum Hämatologen

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

Erythrozytenindizes

- MCV $\frac{HKT}{RBC}$ 80 – 96 fl
- MCH $\frac{HGB}{RBC}$ 28 – 33 pg
- MCHC $\frac{HGB}{HKT}$ 32 – 35 g/dl

Erythropese

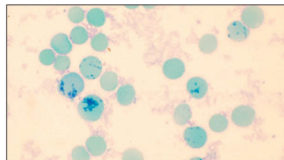


Indikationen zur Retikulozytenzählung

- Basisdiagnostik bei allen Anämien
- Therapiekontrolle bei Substitution von Eisen, Vitamin B12, Folsäure
- Therapiekontrolle unter Erythropoetin
- Monitoring bei Stammzelltransplantation
- Untersuchungsmaterial: EDTA-Blut

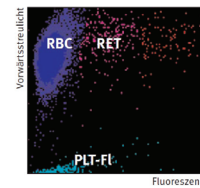
Manuelle Retikulozytenzählung

- 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 Erythropese
 - Relative Angabe (Retikulozyten %, %) → Lebensdauer der Erythrozyten
 - Zellkonzentration (Retikulozyten /µl) → Leistungsfähigkeit der Erythropese
 - Referenzbereiche
- | | |
|------------------------------|-------------------------------------|
| Retikulozyten relativ: | w 0,54 – 2,02 % |
| | m 0,48 – 1,64 % |
| Retikulozyten-Konzentration: | w 0,025 – 0,102 10 ⁹ /µl |
| | m 0,026 – 0,078 10 ⁹ /µl |

Retikulozytenproduktionsindex RPI

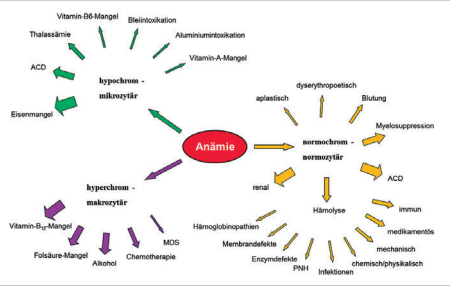
- Aussage über die Effektivität der Erythropese
- Berücksichtigung des Retikulozytenshifts bei vermehrter Erythropese
- Reifungszeit im Blut umgekehrt proportional zum HK

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

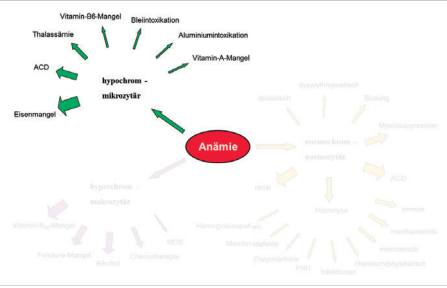
$$RPI = \frac{RET [\%]}{RET\text{-Reifungszeit im Blut in Tagen}} \times \frac{Hkt [l/l] (Patient)}{0,45 (Standard-Hkt)}$$

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

Anämien Übersicht



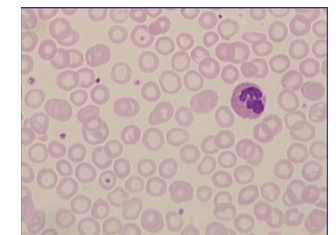
Anämien Übersicht



Mikrozytäre Anämie

MCV < 80 fl

Blutausstrich bei mikrozytärer Anämie

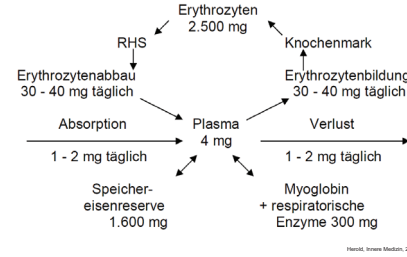


Bildquelle: <https://www.stgk.de/wordpress/wp-content/uploads/2014/04/Blutausstrich-mikrozytäre-Anämie.jpg>

Häufigste DD bei mikrozytärer Anämie

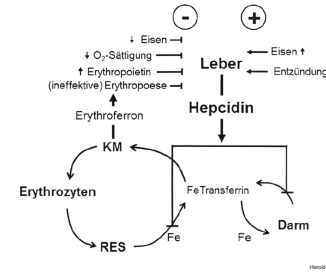
- Eisenmangelanämie
- Anämie der chronischen Erkrankung (ACD)
 - Meist normozytär, aber auch mikrozytär
- Gemeinsames Kennzeichen: hyporegenerativ
- Thalassämie
 - Genetische Erkrankung mit verminderter Produktion von alpha- oder beta-Globinketten, ineffektiver Erythropoese und intramedullärer Hämolyse
 - Ethnischer Hintergrund (Mittelmeerraum, Südostasien, Afrika)
 - Diagnose: Hb-Elektrophorese, Genetik

Eisenverteilung im Organismus



Herold, Intern Med. 2010

Eisenstoffwechsel



Herold, Intern Med. 2010

Ursachen des Eisenmangels

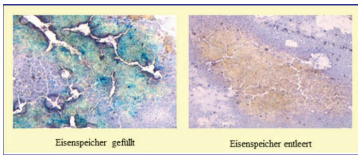
Eisenmangel entsteht durch ein Missverhältnis zwischen Aufnahme und Bedarf.

- Verlust durch Blutung
 - Refluxösophagitis, Hernien, Ulcera, Polypen
 - Karzinome, chronische Entzündung, Angiodysplasien, M. Osler, u.a.
- Miktionation
- Blutpenden
- Dialyse
- palmare Hämorrhoidose
- erhöhter Bedarf
 - Schwangerschaft
 - Wachstum
 - Hochleistungsport
 - chronische intravasale Hämolyse
- verminderte Aufnahme
 - inadäquate Ernährung
 - atrophische Gastritis, Achlorhydrie, Magenresektion, barstarische OP
 - Malabsorption: Zöliakie, M. Whipple
 - chronisch-entzündliche Darmerkrankungen

J. Heilka, G. Metzgeroth, N. Gellermann, Osteopedia Latente Eisenmangel 2018

Morphologische Parameter zur Beurteilung des Eisenstatus

- Mikroskopisches Blutbild
- Knochenmarksausstrich



J. Heilka, G. Metzgeroth, N. Gellermann, Osteopedia Latente Eisenmangel 2018

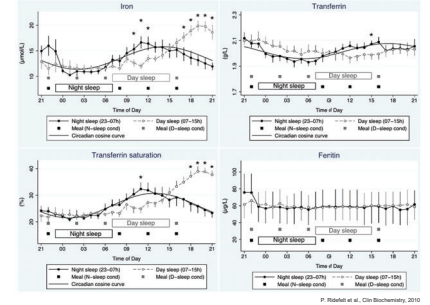
Ferritin

- 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

Zirkadianer Rhythmus von Eisenstoffwechselfparametern



P. Rasmussen et al., Clin Biochemistry 2010

Transferrinsättigung

- Marker für das zur Verfügung stehende Funktionseisen
- Berechnung aus Serum-Eisen und Transferrin: Transferrinsättigung [%] = Serum-Eisen (µg/dl) / Transferrin (mg/dl) x 11
- Referenzbereich: 16-45 %
- ≤ 15% Hinweis auf eisendefizitäre Erythropoese
- Nachteil: Zirkadiane Schwankungen wie Eisen
- Bei Akutphasereaktion kann die Tf-Sättigung trotz normaler Eisenspeicher erniedrigt sein

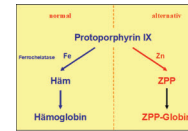
Löslicher Transferrinrezeptor (sTfR)

- Abspaltung der extrazellulären Domäne zellulärer TfR
- Serumkonzentration abhängig von 2 Faktoren
 - Aktivität der Erythropoese
 - 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

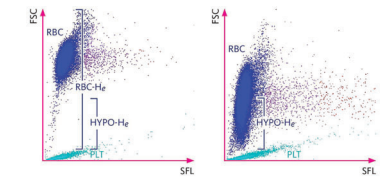
Zinkprotoporphyrin (ZPP)

- Bei eisendefizitärer Erythropoese Einbau von Zink anstelle Eisen in den PP-Ring
- Intraerythrozytäres ZPP steigt an bei Eisenmangel, ACD, MDS und Bleivergiftung
- Antwort auf die Frage: Hat die Anämie etwas mit Eisen zu tun?
- Derzeit noch wenig genutzt



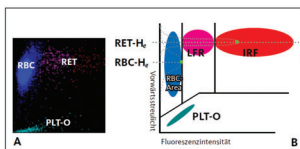
Anteil hypochromer Erythrozyten

- Anteil hypochromer Erythrozyten (MCH < 28 pg)
- Referenzbereich < 2,5 %
- Werte > 10 % beweisend für eisendefiziente Erythropoese

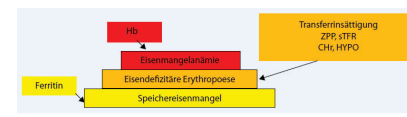


Retikulozyten-Hämoglobin: CHr oder RET-H_a

- 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)
Ferritin	↓	↓	↓
Transferrinsättigung	n	↓	↓
CHr	n	↓	↓
HYPO	n	↑	↑
ZPP	n	↑	↑
sTfR	n	↑	↑
Hämoglobin	n	n	↓

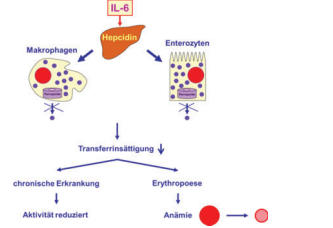
Stadium-II-Test: Transferrinsättigung, CHr, HYPO, ZPP, sTfR, CHr, Content of hemoglobin in reticulocytes (Hämoglobingehalt der Retikulozyten), HYPO hypochrome Erythrozyten, n normal, sTfR soluble transferrin receptor (löslicher Transferrinrezeptor), ZPP Zinkprotoporphyrin.

Metzgeroth & Heilka, Internist 2015

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 erythematoses Vaskulitis Sarkoidose Bowel disease 30-77%
Chronische Herzerkrankungen	

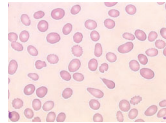
Anämie chronischer Erkrankungen (ACD)



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
- Hyporegeneratorisch (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!

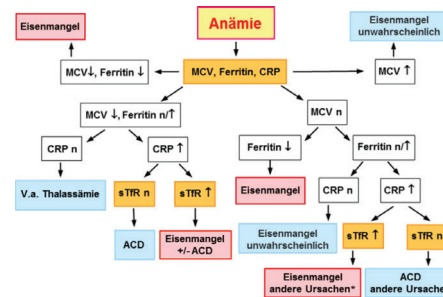
DD Eisenmangelanämie vs. ACD

Parameter	Eisenmangelanämie	ACD	ACD mit Eisenmangel
Ferritin	↓	↑	↑/n
Transferrinsättigung	↓	↓	↓
CHr	↓	n/↓	↓
HYPO	↑	↑	↑
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 Transferrinreceptor); ZPP: Zinkprotoporphyrin.

Mangelsch 8, Haeftle, November 2016

Diagnostischer Algorithmus zur Abklärung eines Eisenmangels



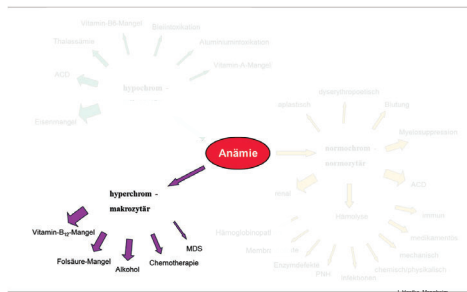
Monitoring der Eisensupplementierung

- Anstieg des Retikulozyten-Hb nach 2-4 Tagen
- Retikulozytenanstieg in der 2. Woche
- Hb-Anstieg nach 4 Wochen um 1-2 g/dl
- Weitere Kontrollen alle 4 Wochen bis Hb normal
- Mindestens 3 Monate Eisen weitergeben nach Normalisierung Hb zur Eisenspeicherfüllung
- 4 Wochen nach letzter Eisengabe Ferritinkontrolle (Ziel 50 – 100 µg/l)
- Weiter Quartalskontrollen im 1. Jahr

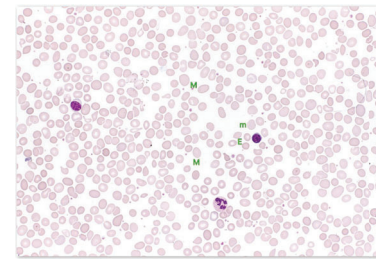
Makrozytäre Anämie

MCV > 100 fl

Anämien Übersicht



Blutausstrich bei megaloblastärer Anämie

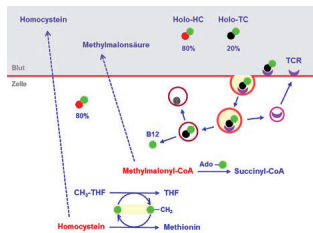


Peripherer Blutausstrich E: normale Erythrozyten; m: Makrozyt; M: ovale Megalozyten; ein Segmentkerniger mit sehr schlankem hypersegmentiertem Kern

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

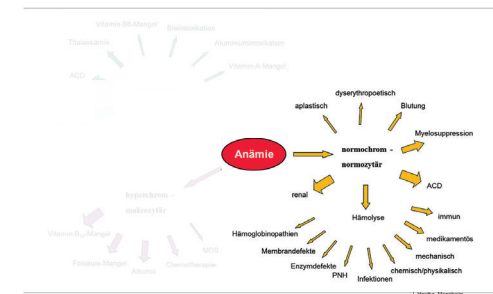
	Normal	I. Frühe negative B12-Balance	II. Entleerung der Vitamin B12-Speicher	III. B12-Mangel der Erythropoese	IV. B12-Mangel-Anämie
HoloTC (pg/ml)	> 50	< 40	< 40	< 40	< 40
HoloHC (pg/ml)	> 180	> 180	< 150	< 100	< 100
Homocystein (µmol/l)	Normal	Normal	Normal	↑	↑
MMA (µmol/l)	Normal	Normal	Normal	↑	↑
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 = Holoaptocorin, HoloTC = Holotranscobalamin, MMA = Methylmalonsäure
 *) Anm.: Homocystein ist auch bei Folat- oder Vitamin B6-Mangel erhöht.

Haeftle, Innere Medizin 2020

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

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, Coombs-Test

nach V. Böhm, Erlangen

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

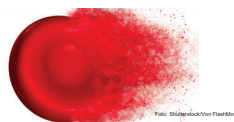


Foto: Stübgen/Novi Plast/Alte

Einteilung hämolytischer Anämien

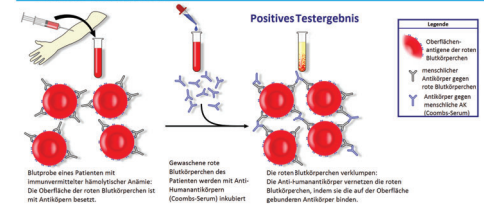
Korpuskulär

- Angeboren:
 - Membrandefekte (Sphärozytose)
 - Enzymdefekte (G6PD, PK)
 - Hämoglobinopathien (Thalassämie, anomale Hb)
- Erworben:
 - PNH

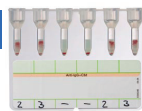
Extrakorpuskulär

- Immunologisch (Coombs-Test-positiv)
 - Alloimmun (Transfusionsreaktion, MTH mit Rh-Inkompatibilität)
 - 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)

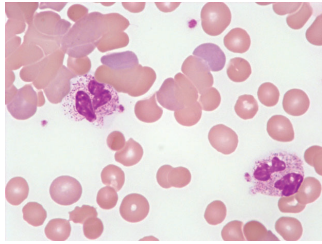
Direkter Coombs Test



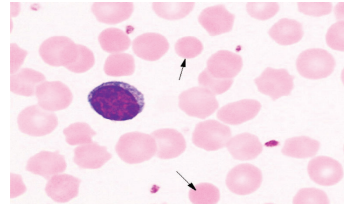
Agglutination im DAT = Beweis für die Präsenz von an Eryz gebundenen Antikörpern



Kälteagglutinine



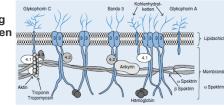
Sphärozytose



Häufigste angeborene hämolytische Anämie in Nordeuropa, Prävalenz 1:5000

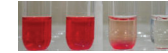
Sphärozytose

Genetischer Membrandefekt der Erys -> gestörte Ionenpermeabilität -> Aufkugelung der Erys -> erhöhter Abbau der Sphärozyten in der Milz -> evtl. hämolytische Krisen

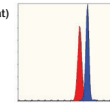


Labor: MCHC erhöht, Sphärozyten im BB

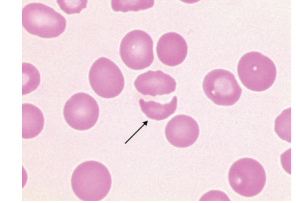
verminderte osmotische Resistenz
Referenzbereich: 0,30 % - 0,46 %



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



Thrombotisch-Thrombozytopenische Purpura (TTP)



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

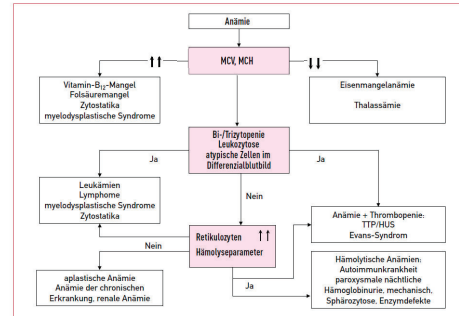
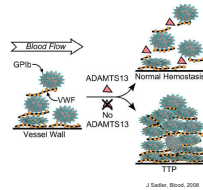


Abbildung: Diagnostischer Algorithmus bei Anämie. Schritt 1: MCV und MCH; Schritt 2: andere Zellreihen (Leukozyten, Thrombozyten) sowie abnormer Zellen; Schritt 3: Reticulocyten und Hämolyseparameter