



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Sciences

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

Rozložení anizocytózy erytrocytů v populaci

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Studijní program: LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA

Autor: Natálie Kubešová

Vedoucí práce: Mgr. Pavla Moudrá

České Budějovice 2023

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem Rozložení anizocytózy erytrocytů v populaci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby bakalářské práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé bakalářské práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 2.5. 2023

podpis

Poděkování

Za pomoc při vypracování této bakalářské práce děkuji především své vedoucí paní Mgr. Pavle Moudré, která byla po celou dobu nejen výborným mentorem, ale i člověkem s velkým pochopením. Dále bych chtěla poděkovat Mgr. Olze Dvořáčkové, Ph.D. za pomoc a rady při statistickém zpracování dat. Rovněž děkuji své rodině za mentální podporu během celého studia.

Rozložení anizocytózy erytrocytů v populaci

Abstrakt

Anizocytóza je stav, kdy jsou erytrocyty nestejně. Samotná anizocytóza je nespecifický termín, protože existuje několik způsobů, jak mohou být buňky nerovnoměrné. Ovlivnit velikost červených krvinek a způsobit tak anizocytózu mohou různé faktory. Je možné ji zjistit při běžném měření tzv. krevního obrazu v laboratoři. Jedná se o screeningové vyšetření, které se provádí u pacientů před operací nebo jako preventivní vyšetření. Krevní obraz hodnotí poměry jednotlivých složek krve. Provádí se obvykle ze žilní krve, která je odebrána do plastové zkumavky s antikoagulačním činidlem. Z krevního obrazu k diagnostice anizocytózy slouží parametr RDW neboli distribuční šíře erytrocytů. Anizocytóza provází většinu anémií a řadu dalších krevních poruch. RDW může poskytnout pohled na podstatu anémií. Zvýšené hodnoty se mohou vyskytnout například u anémie z nedostatku železa nebo makrocytární anémie. Snížené hodnoty pak nacházíme u talasémie.

Na téma anizocytóza a její diagnostika a léčba byla zpracována odborná rešerže.

V praktické části byl kladen důraz na zhodnocení anizocytózy v krevním obraze. Krevní obraz byl proveden u 534 pacientů, kteří k tomuto vyšetření byli indikováni ošetřujícím lékařem. Krevní obrazy se prováděly na oddělení Klinické hematologie v Nemocnici České Budějovice a.s.

Cílem bylo stanovit hodnoty krevního obrazu, zjistit rozložení anizocytózy ve vyšetřované populaci a zhodnotit její výskyt v souvislosti s pohlavím a věkem. Z výsledků výzkumu vyplývá, že anizocytóza se více vyskytuje u starších pacientů, nehledě na to, zda se jedná o muže či ženy. Dále se výzkum zabýval souvislostí anizocytózy a anémie. Statisticky se zde potvrdilo, že pokud byl pacient anemický a měl tedy snížené hodnoty hemoglobinu, tak se u něj hodnoty distribuční šíře erytrocytů zvýšily nad fyziologickou mez.

Klíčová slova

Erytrocyt; krev; anizocytóza; RDW; anémie

Distribution of erythrocyte anisocytosis in the population

Abstract

Anisocytosis is a condition in which the erythrocytes are unequal. Anisocytosis itself is a non-specific term as there are several different ways in which cells can be unequal. Various factors can affect the size of red blood cells and this cause anisocytosis. It can be determined by a complete blood count in the laboratory. It is a screening examination that is performed on patients before surgery or as a preventive examination. The blood count measures several different components of blood. Venous blood, which is collected in a plastic tube containing an anticoagulant, is usually used for this. The blood count is used to diagnose anisocytosis using a measurement called red blood cell (erythrocyte) distribution width (RDW). Anisocytosis is often related to most anaemias and many other blood disorders. RDW can provide an insight into the nature of anaemias. Elevated RDW levels may be a sign of, for example, iron deficiency anaemia or macrocytic anaemia. On contrary, decreased RDW can mean thalassemia.

An expert research on anisocytosis and its diagnosis and treatment has been prepared.

The practical part has been focused on the identification of anisocytosis in the blood count. The blood counts were performed in 534 patients who had been referred for the examination by their attending physicians. The blood counts were performed at the Department of Clinical Haematology, Hospital České Budějovice a.s.

The aim was to determine blood count values, to determine the distribution of anisocytosis in the population examined and to evaluate its age – and gender-related incidence. The results of the research show that anisocytosis is more common in older patients, regardless of whether they are male or female. Furthermore, the research was aimed at the association between anisocytosis and anaemia. It has been statistically confirmed that when the patients were anaemic and therefore had low haemoglobin values, the red cell distribution width values increased above the physiological limit.

Key words

Erythrocyte; blood; anisocytosis; RDW; anemia

Obsah

1	Teoretická část	9
1.1	Krev	9
1.1.1	Plazma	9
1.1.2	Leukocyty	10
1.1.3	Trombocyty	12
1.1.4	Erytrocyty	13
1.2	Erytrocyty	13
1.2.1	Struktura erytrocytu	13
1.2.2	Život a smrt erytrocytu	14
1.3	Základní parametry zjišťované u erytrocytů	15
1.4	Změny v morfologii erytrocytů	17
1.4.1	Změna tvaru erytrocytů	18
1.4.2	Změna velikosti erytrocytů	19
1.5	Anizocytóza	20
1.5.1	Příčiny anizocytózy spojené s anémií	21
1.6	Zhodnocení anizocytózy	25
1.7	Řešení anizocytózy	28
2	Cíle práce a hypotézy	29
2.1	Hypotézy	29
2.2	Cíl práce	29
3	Metodika	30
3.1	Preanalytická fáze	30
3.1.1	Odběr vzorku	30
3.1.2	Transport vzorku	30
3.2	Analytická fáze	30
3.2.1	Příjem vzorku	30
3.2.2	Hematologický analyzátor UniCel® DxH 800 Beckman Coulter	31
3.2.3	Soubor zpracovaných dat	32
3.2.4	Vlastní postup přípravy a vyšetření vzorku	32
4	Výsledky	34
4.1	Výsledky krevního obrazu	34
4.2	Chí kvadrát test	40
4.3	Analýza rozptylu	41

4.4	Hodnota RDW a HGB v závislosti na věku u mužů a žen.....	42
5	Diskuse.....	44
6	Závěr.....	46
7	Seznam použité literatury.....	48
8	Seznam tabulek.....	52
9	Seznam obrázků a příloh.....	53
9.1	Seznam obrázků.....	53
9.2	Seznam příloh.....	53
10	Přílohy.....	54
10.1	Příloha č. 1 – Hematologický analyzátor.....	54
11	Seznam zkratk.....	55

Úvod

Anizocytóza erytrocytů je stav, kdy erytrocyty jsou nestejně veliké. Ovlivnit velikost krvinek a způsobit tak anizocytózu mohou různé faktory.

Pro správnou diagnostiku anizocytózy se používají hodnoty RDW. RDW neboli distribuční šíře červených krvinek je parametr, který reprezentuje rozložení červených krvinek podle jejich objemu. Tento parametr získáme z krevního obrazu. Krevní obraz je celkové vyšetření krve, které zjišťuje poměry jednotlivých složek v krvi vyjma plazmy. Žilní krev je odebrána do zkumavky s antikoagulantem EDTA. informace o hodnotách RDW jsou zjistitelné z krevního obrazu, který se měří na moderních hematologických analyzátoch impedancí nebo optickými metodami.

Anizocytóza je spojována hlavně s anémií. Anémie je nejčastější hematologickou poruchou postihující lidstvo a objevuje se např. u chronických chorobných stavů. Anémie neboli chudokrevnost je chorobný stav, charakterizovaný snížením hemoglobinu pod fyziologickou mez pro daný věk a pohlaví. Příčin vzniku anémie existuje celá řada a podle nich můžeme anémie rozdělit na anémie z poruchy tvorby erytrocytů, anémie z nadměrné ztráty erytrocytů a akutní posthemoragické anémie.

RDW může poskytnout pohled na podstatu anémie, protože určité stavy zvyšují hodnotu RDW a jiné nikoli. Snížené hodnoty RDW bývají pozorovány u pacientů s β -talasémií a zvýšené hodnoty se mohou objevit u pacientů například s anémií z nedostatku železa nebo makrocytární anémií. Další stavy, kdy se hodnoty RDW zvýší, jsou například krevní transfúze nebo chronické onemocnění jater.

Hlavním cílem této bakalářské práce bylo statisticky zhodnotit rozložení anizocytózy erytrocytů v souboru získaných dat. Data byla tříděna podle pohlaví, věku a ne/přítomnosti anizocytózy, takto roztríděná byla následně statisticky zhodnocena.

1 Teoretická část

1.1 Krev

Krev je vysoce specializovaná směs mnoha typů složek s velmi různorodými vlastnostmi a je často označována jako „tekutý orgán“ (Schaller et al., 2008). Je složená z buněčných elementů a extracelulární matrix. Buněčné elementy zahrnují erytrocyty (RBC), leukocyty (WBC) a buněčné fragmenty zvané trombocyty (PLT). Extracelulární matrix neboli plazma, dělá krev jedinečnou mezi pojivovými tkáněmi, protože je tekutá. Jedná se tedy o tekutou tkáň, která neustále odvádí vytvořené látky a umožňuje jim cirkulovat v těle v rámci kardiovaskulárního systému (Betts et al., 2013). Krev je distribuována v celém organismu oběhovým systémem a je hlavní součástí vnitřního prostředí. Nikdy neopouští kardiovaskulární systém, který se skládá ze srdce a krevních cév (tepny, žíly a kapiláry) (Schaller et al., 2008).

Hlavní funkce krve jsou následující:

- transportní systém (přenos kyslíku, oxidu uhličitého, živin a hormonů)
- obranný systém proti nepřátelským patogenům, jako jsou bakterie, viry a houby, čímž udržuje rovnováhu mezi organismem a prostředím
- systém zastavující krvácení a hojení ran, život zachraňující opatření v případě zranění
- rovnováha distribuce tepla po celém těle, čímž je zaručena stálá tělesná teplota (Schaller et al., 2008).

Krev zajišťuje stálou výměnu látek mezi buňkami a podílí se na udržení stálého vnitřního prostředí organismu neboli homeostáze. Právě v krvi se díky tomu často prokážou různé změny v organismu, popřípadě vrozené patologie. Mohou se projevit buď změnou složení krve (např. zvýšení nebo snížení počtu buněk, změna obsahu glukózy a jiných látek) nebo na její kvalitě (např. změna tvaru buněk, změna velikosti buněk) (Pecka, 2006).

1.1.1 Plazma

Krevní plazma tvoří tekutou složku krve. Obsahuje asi 90 % vody, organické a anorganické látky (elektrolyty, živiny, proteiny, hormony atd.) s příměsí rozpuštěných krevních plynů. Má světle žlutou barvu, která je způsobena přítomností barviv

vznikajících při rozpadu erytrocytů. Plazma je mírně opaleskující. Objem krevní plazmy je přibližně 2,8 až 3,5 l (40 až 45 ml/kg hmotnosti). Toto množství představuje asi 5 % váhy těla. (Fontana, 2015).

Plazma tvoří přibližně 55 % celkové krve. Krevní plazma obsahuje mnoho různých složek rozpustných ve vodě, mezi nimi i proteiny krevní plazmy, které vykazují širokou škálu funkcí a mají různé strukturní vlastnosti. Jakákoli bílkovina přítomná v těle se může stát alespoň dočasně bílkovinou krevní plazmy v závislosti na aktuálním stavu těla, např. v případě patologické situace. Mezi hlavní bílkoviny krevní plazmy patří albumin, globuliny a fibrinogen. Protein, který obvykle není přítomen v krevní plazmě, se v ní může hromadit a fungovat zde jako charakteristický diagnostický marker pro určité onemocnění (Schaller et al., 2008).

1.1.2 Leukocyty

Leukocyty neboli bílé krvinky jsou krevní buňky, jejichž název je odvozen ze dvou řeckých slov: leukos (bílý) a kytos (buňka) (Schaller et al., 2008). Leukocyty slouží jako strážci a obránci před infekcí tím, že hlídají tkáně a orgány těla. Pohybují se po těle prostřednictvím lymfatického a krevního oběhového systému, který mohou opustit a znovu do něj vstoupit, čímž si zajistí pohyb mezi tělesnými tkáněmi. Jako "vojáci" imunitního systému mají leukocyty specializované role v obraně těla (Doan et al., 2012). Leukocyty se podílejí na imunitní obraně. Na jedné straně jsou schopné produkovat protilátky a na druhé straně se diferencují na paměťové buňky (Schaller et al., 2008). Leukocyty jsou klasifikovány podle morfologie, včetně počtu laloků, které mají jejich jádra, a přítomnosti nebo nepřítomnosti mikroskopicky viditelných granulí v cytoplazmě (Doan et al., 2012).

1. AGRANULÁRNÍ LEUKOCYTY – jsou bílé krvinky, které ve své cytoplazmě neobsahují granula – tzv. agranulocyty. Pocházejí z prekurzorů lymfoidní nebo myeloidní linie a tvoří přibližně 35 % až 38 % leukocytů v oběhu. Patří sem buňky lymfocytární linie (B lymfocyty, T lymfocyty, NK buňky) a monocytární linie (monocyty a makrofágy, dendritické buňky) (Doan et al., 2012).

- **B lymfocyty** – tyto buňky produkují protilátky, které pomáhají imunitnímu systému reagovat na infekci. Jsou tedy zodpovědné za specifickou,

protilátkami zprostředkovanou imunitní reakci. Protilátky, které produkují působí proti bílkovinným a glykoproteinovým antigenům a toxinům.

- **T lymfocyty** – jsou leukocyty, které pomáhají rozpoznat a odstranit buňky způsobující infekci. Podle funkce jednotlivých T lymfocytů a podle znaků na jejich povrchu, je dělíme na Th lymfocyty (pomocné), Tc lymfocyty (cytotoxické) a Tsup (supresorové).
- **Přirozené zabíjäcké buňky (NK buňky)** – buňky, které jsou zodpovědné za napadení a zabíjení virových a rakovinných buněk. Jsou hlavní součást cytotoxické buněčné imunity.
- **Monocyty** – jsou leukocyty, které tvoří přibližně 2 % až 8 % celkového počtu leukocytů v těle. Zaměřují se na ničení buněk, které způsobují infekce. (Nall, 2020). Monocyty, které cirkulují v krvi, jsou prekurzory buněk, které patří do monocyto-makrofágového systému. Ve vazivové tkáni se diferencují na makrofágy (Fontana, 2015). Jedná se o velké požírající buňky, které endocytózou pohlcují cizí buňky, mrtvé buňky a buněčné zbytky. (Schaller et al., 2008).

2. **GRANULÁRNÍ LEUKOCYTY** – leukocyty, které obsahují nápadná cytoplazmatická granula. Jsou také známé jako granulocyty. Tyto buňky mají mnoholaločnatá jádra a cytoplazmatické granula. Granula mohou obsahovat aminy (barvené bazickými barvivy), základní proteiny (barvené acidofilními nebo eozinofilními barvivy) nebo obojí (neutrální barvení). Rozlišují se na neutrofilní, eozinofilní a bazofilní granulocyty (Navrátil et al., 2017).

- **Neutrofilly** – tvoří 60 % až 70 % cirkulujících leukocytů. V krevním oběhu se vyskytují 6 až 12 hodin, ve tkáních 4 až 5 dní. Jejich přestup z krve do tkání zprostředkovávají povrchové adhezivní proteiny – tzv. integriny a selektiny Tyto adhezivní proteiny napomáhají adhezi (schopnost materiálu spolu přilnout) neutrofilů na cévní stěnu (Fontana, 2015). Jsou nejpočetnější leukocytovou populací. Jsou řazeny mezi polymorfonukleární (PMN) buňky, protože mají proměnlivý počet jaderných segmentů (dva až pět) (Doan et al., 2012). Základní funkcí neutrofilů je fagocytóza (Fontana, 2015). Působí jako mrchožrouti, pomáhají obklopovat a ničit bakterie a houby, které mohou být

v těle přítomny (Nall, 2020). Jako první reagují na bakteriální infekci a účastní se menších zánětlivých procesů (Schaller et al., 2008).

- **Bazofily a žírné buňky** – jsou buňky imunitního systému, které se řadí mezi leukocyty. V cytoplazmě obsahují specifická granula a jádro, které je rozděleno do nepravidelných laloků (velké trojlaločnaté jádro). Jejich granula obsahují histamin a heparin (Fontana, 2015). Tyto buňky se v malém množství nacházejí v periferní krvi (0 % až 1 %) nebo ve tkáních, kde jsou známé jako žírné buňky (Doan et al., 2012). Jsou typicky přítomny ve zvýšeném počtu po alergické reakci (Nall, 2020). Při alergické nebo antigenní odpovědi uvolňují histamin, což způsobuje zánět (Schaller et al., 2008).
- **Eozinofily** – granulocyty s dvouločnatým jádrem a cytoplazmatickými granulami, které obsahují bazické proteiny. Tvoří 0 % až 5 % leukocytů periferní krve (Doan et al., 2012). Eozinofily jsou zodpovědné za reakci na infekce, které způsobují paraziti. Uplatňují se také při alergických reakcích (fagocytózou odstraňují komplex antigen-protilátka) a hrají roli v obecné imunitní odpovědi, stejně jako v zánětlivé reakci v těle (Nall, 2020).

1.1.3 Trombocyty

Trombocyty jsou fragmenty cytoplazmy megakaryocytů (Navrátil et al., 2017). Název je odvozen ze dvou řeckých slov: thrombos (sraženina) a kytos (buňka) (Schaller et al., 2008). Trombocyty nemají jádro, a proto je stejně jako erytrocyty řadíme mezi tzv. neúplné buňky. Membrána trombocytů je citlivá k řadě faktorů, které ovlivňují metabolické procesy a aktivační děje v buňce. Tvar trombocytu se mění podle stupně aktivace (Betts et al., 2013). 2/3 kolují v krvi a zbylá 1/3 se nachází ve slezině. Trombocyty obsahují alfa granula důležitá pro krevní srážlivost, denzní granula a lyzosomy s enzymy (Fontana, 2015). Účastní se srážení krve. Za normálních podmínek, krev koluje v cévách a je v tekutém stavu. To je určováno rovnovážným stavem systému krevního srážení a jeho regulačními mechanismy. Pokud dojde k narušení celistvosti cévní stěny, nastane rozkolísání dynamické hemokoagulační rovnováhy a následně dojde k aktivaci srážecích mechanismů (Navrátil et al., 2017).

1.1.4 Erytrocyty

Erytrocyty neboli červené krvinky jsou krevní buňky, jejichž název je odvozen ze dvou řeckých slov: erythros (červený) a kytos (buňka). (Schaller et al., 2008). Erytrocyty jsou jednou z hlavních složek krve. Patří mezi nejpočetnější typy buněk. Lidské tělo produkuje zhruba 2 miliony červených krvinek každou sekundu (Johnson, 2021). Erytrocyty fungují jako přenašeči kyslíku (O₂) z plic do celého organismu (Haferlach, 2014) a vracejí oxid uhličitý (CO₂) zpět do plic k výdechu (Johnson, 2021).

1.2 Erytrocyty

Erytrocyty jsou zploštělé buňky bikonkávního (piškovitého) tvaru, které neobsahují jádro (Schaller et al., 2008). V průměru mají 7,2 μm (7,0 až 7,5 μm). Jejich tloušťka se pohybuje od 0,8 μm v nejtenčím místě (ve středu) do 2,1 μm v nejtlustším místě buňky (na okrajích), což způsobuje jejich typické centrální projasnění (Fontana, 2015). Erytrocyty vznikají v kostní dřeni. Pro vznik je důležité železo, kyselina listová, vitamín B₁₂ a další látky. Erythropoézu v kostní dřeni podporuje erythropoetin. Erythropoetin je hormon, který je tvořen a uvolňován při hypoxii (sníženém obsahu kyslíku v krvi) (Machálková, 2016). Doba života erytrocytů je okolo 120 dní (Machálková, 2016). Poté jsou erytrocyty likvidovány ve slezině (Schaller et al., 2008).

Funkce červených krvinek:

- transport kyslíku z plic do tkání (oxyhemoglobin)
- transport kysličníku uhličitého z tkání do plic (karbaminohemoglobin)
- účast při udržování pH vnitřního prostředí
- transport látek – aminokyseliny, hormony (Machálková, 2016)

1.2.1 Struktura erytrocytu

Membrána erytrocytu má strukturu tekuté mozaiky – je nejen elastická, ale i pevná. Do membrány může pronikat voda a některé anionty, ale zabraňuje úniku kationtů a bílkovin. Na membránu směrem dovnitř buňky navazují další proteiny, které jsou k membráně přichyceny a tím tvoří síťovitý skelet – tzv. membránový skelet. V membráně se uskutečňuje výměna lipidů (zejména fosfolipidů a cholesterolu) mezi erytrocyty a plazmou, která je nezbytná pro udržení životaschopnosti erytrocytu. (Pecka, 2006).

Bikonkávní tvar erytrocytu a jeho vysokou flexibilitu zajišťují fibrilární proteiny spektrinu (hlavní cytoskeletární protein) a ankyrin (zajišťuje ukotvení spektrinu k cytoplazmatické membráně) (Fontana, 2015).

Vlastnosti a složení fosfolipidové dvojvrstvy a spektrinové sítě jsou rozhodující pro tvar zdravého erytrocytu. Pokud dojde k narušení jejich vzájemného působení, dochází ke změně hustoty spektrinu. Změna hustoty spektrinu vždy vede k nevratnému poškození membrány erytrocytu (Diez-Silva et al., 2010).

Každý erytrocyt obsahuje molekuly hemoglobinu. Jedná se o respirační barvivo, které transportuje kyslík do tkání (Hoffbrand et al., 2016). Molekula hemoglobinu se skládá ze čtyř proteinových řetězců – globinů. Každý z nich je navázán na jednu strukturu hemu, červeně pigmentovanou molekulu, která obsahuje železo (Rokyta, 2015). Na železo se v plicích váže kyslík. Vazba je velmi volná, a proto se kyslík ve tkáních poměrně snadno uvolňuje (Pecka, 2006). Rychlost nasycení hemoglobinu závisí zejména na dostupnosti železa, vitamínu B₁₂, kyseliny listové a přísunu aminokyselin. Nejdůležitější látky při syntéze hemoglobinu jsou kyselina listová a vitamín B₁₂ (Machálková, 2016). Hemoglobin také váže a transportuje oxid uhličitý (Rokyta, 2015).

1.2.2 Život a smrt erytrocytu

Erytrocyty vznikají v kostní dřeni. Vznik erytrocytů se označuje jako erytropoéza (Penka et al., 2009). Tento proces, od erytroidního nasazení multipotentních hemopoetických kmenových buněk, přes zrání erytroblastů až po konečnou diferenciaci erytrocytů, je řízen komplexními transkripčními a epigenetickými mechanismy v reakci na extracelulární signalizaci (Hoffbrand et al., 2016). Prvním stádiem vývoje erytrocytu je proerytroblast, poté bazofilní erytroblast, polychromní erytroblast, ortochromní erytroblast. Následuje stádium retikulocyt, což je mladý nezralý erytrocyt. Přeměna retikulocytu na zralý erytrocyt trvá 24 až 48 hodin a během vyžívání ztrácí buňka své organely a vzniká zralý erytrocyt (Penka et al., 2009).

Erytropoéza za normálních okolností udržuje ustálený stav hodnoty erytrocytů jedince a produkuje 10¹¹ až 10¹² nových buněk denně. Nově vzniklé erytrocyty nahrazují ty, které jsou ztraceny stárnutím nebo předčasnou destrukcí (Hoffbrand et al., 2016).

Erytrocyt pro správnou funkci potřebuje dobře vyvinutou buňku, funkční hemoglobin a správně probíhající metabolické pochody. Metabolismus erytrocytů se liší

od metabolismu ostatních krevních buněk. Protože erytrocyt nemá buněčné jádro ani většinu organel, ztratil tak schopnost syntetizovat bílkoviny a nukleové kyseliny. Stejně tak téměř úplně chybí citrátový cyklus a dýchací řetězec. I přesto mají erytrocyty velmi intenzivní metabolismus. Zralý erytrocyt obsahuje asi 22 základních enzymů, které se uplatňují v metabolických procesech. Metabolismus erytrocytů je tedy ve své podstatě metabolismem sacharidů. Hlavním zdrojem pro erytrocyty je glukóza. Metabolismus erytrocytů se tedy omezuje na:

- anaerobní glykolýzu (Embdenův-Meyerhofův cyklus)
- aerobní glykolýzu (Oxidační pentosofosfátový cyklus)

Při obou procesech se získává chemická energie, hlavně v podobě ATP (adenosintrifosfát). Potřebná energie k zajištění metabolismu erytrocytů postupně vyčerpá enzymatickou výbavu erytrocytů. Dochází k postupnému snižování aktivity enzymů sacharidového metabolismu a z důvodu snížení aktivity těchto enzymů, klesá i výkon sodíkové pumpy a zpomaluje se i přeměna methemoglobinu na hemoglobin.

V důsledku těchto změn:

- stoupá množství methemoglobinu (z 1 % na 6 %)
- pozvolna se snižuje syntéza ATP (pokud poklesne množství ATP pod 20 %, nestačí se udržet transportní systémy v membráně erytrocytu).

Erytrocyt dostává kulovitý (sférický) tvar, zmenšuje se a jeho membrána se ztenčuje. Takto změněný erytrocyt se obtížně pohybuje v kapilárním řečišti a zachycuje se ve slezině, kde fagocytován a zaniká (Pecka, 2006).

1.3 Základní parametry zjišťované u erytrocytů

Nejběžněji vydávané kombinace parametrů jsou:

- základní parametry krevního obrazu (WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, PLT)
- souvisící počítané parametry
- základní parametry krevního obrazu s počítanými parametry
- diferenciální rozpočet leukocytů (Penka a Tesařová, 2011).

Počet červených krvinek (RBC) – krvinky jsou počítány k tomu určenými hematologickými analyzátory. Krev se musí ředit kvůli velkému počtu krvinek vhodným ředicím roztokem, který současně zvýrazní druh počítaných krvinek a odstraní ostatní buněčné složky krve. Kromě hematologických analyzátorů se může využít Bürkerova počítací komůrka. Počítací komůrky se používají k počítání erytrocytů, leukocytů, trombocytů, eozinofilů (Dobrotová a Kubisz, 2006).

Normální počet červených krvinek je u mužů 4,3 až $5,3 \cdot 10^{12}/l$ tj. 4,3 až 5,3 milionů v 1 krychlovém milimetru, u žen 3,8 až $4,8 \cdot 10^{12}/l$. V průběhu života počet erytrocytů kolísá. Po narození je množství erytrocytů o 10 % vyšší, pak dochází k jejich rozpadu a poklesu počtu na 3 až $4 \cdot 10^{12}/l$. (Dylevský, 2011). Počet erytrocytů je ovlivněn věkem, pohlavím, cvičením a stravou (Lokwani, 2013). Za fyziologických podmínek stoupá počet erytrocytů při dlouhodobém pobytu ve větších nadmořských výškách (nad 1000 metrů). Vzestup počtu erytrocytů je způsoben nedostatkem kyslíku (Dylevský, 2011).

Hemoglobin (HGB) – je červené krevní barvivo, jehož hlavní funkcí je transport kyslíku. Ve 100 ml krve dospělého muže je 16 gramů hemoglobinu. U ženy 14,5 až 15,5 gramů. Toto množství je schopné vázat asi 20 ml kyslíku (Pecka, 2006). Dvojmocné železo obsažené v hemoglobinu uvolňuje kyslík v ostatních tkáních (Rokyta, 2015). Tkáně ani při maximálním zatížení nejsou schopné odebírat takové množství kyslíku. Klidová spotřeba je v průměru jen asi 4 ml O_2 za 1 minutu ve 100 gramech tkáně. Při velmi těžké práci (sportu) stoupá spotřeba asi na 10 ml, tj. z 20 % na 50 % vázaného kyslíku. (Pecka, 2006). Normální rozmezí hemoglobinu je závislé na věku a pohlaví. Dospělí mají vyšší hodnoty než děti s výjimkou novorozenců, kteří mají nejvyšší hodnoty ze všech (Lokwani, 2013).

Hematokrit (HCT) – udává poměr objemu erytrocytů, které tyto buňky zaujímají k celkovému objemu krve. Fyziologické hodnoty u mužů jsou 0,42 až 0,52. Ženy mají nižší hodnoty. Pohybují v rozmezí 0,37 až 0,47 (Pecka, 2006). Hematokrit je jednou z nejpřesnějších metod stanovení stupně anémie nebo polycytémie (Lokwani, 2013). Hematokrit se může zjistit centrifugací nesrážlivé krve. Za standardních podmínek se zjistí odečtením vrstvy erytrocytů. Hematokrit točený v kapilárách se nazývá mikrohematokrit (Pecka, 2006). Analyzátor vypočte hematokrit vynásobením hodnot RBC a MCV (Lukáš et al., 2022).

Střední objem erytrocytů (MCV) – vyjadřuje průměrný objem buňky v hodnocených erytrocytech. Fyziologické hodnoty MCV jsou 84 až 98 fL (femtolitr).

MCV se zjišťuje:

- přímým měřením na analyzátoch krvinek
- výpočtem ($MCV = HCT/RBC$) (Pecka, 2006).

Střední množství hemoglobinu v erytrocytu (MCH) – je množství hemoglobinu v jednom erytrocytu (Lokwani, 2013). Lze snadno vypočítat vydělením koncentrace hemoglobinu počtem erytrocytů ($MCH = HGB/RBC$) (Lukáš et al., 2022). MCH klesá při mikrocytární a normocytární anémii a zvyšuje se u makrocytární anémie, u kojenců a novorozenců (Lokwani, 2013).

Střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu (MCHC) – se vypočte vydělením koncentrace hemoglobinu hematokritem ($MCHC = HGB/HCT$) (Lukáš et al., 2022).

Šíře distribuce erytrocytů (RDW) – je kvantitativní měření nebo numerické vyjádření anizocytózy (Lokwani, 2013). Jde o šíři nejčtenějších populací erytrocytů v histogramu RBC podle MCV. Fyziologické hodnoty jsou 0,11 až 0,16 (Pecka, 2006). Hodnota RDW odráží variabilitu velikosti erytrocytů. Vysoké hodnoty odrážejí velký rozsah velikosti erytrocytů (Lokwani, 2013). Většina automatických analyzátorů kalkuluje RDW jako variační koeficient v %, ev. jako RDW-SD (směrodatnou odchylku) ve fL (Pecka, 2006).

Tyto parametry červeného krevního obrazu jsou užitečné především při vyšetřování anémií (Lukáš et al., 2022).

1.4 Změny v morfologii erytrocytů

Změny morfologie erytrocytů posuzujeme podle dvou základních hledisek – podle morfologických charakteristik a podle anomálií. Při posuzování morfologie erytrocytů hodnotíme velikost erytrocytů, barvu cytoplazmy a tvar erytrocytů. Při hodnocení anomálií sledujeme přítomnost inkluzí, penízkovatění a aglutinaci erytrocytů (Penka a Tesařová, 2011).

1.4.1 Změna tvaru erytrocytů

Termín pro změny tvaru buněk je poikilocytóza. Každá abnormálně tvarovaná buňka se tedy nazývá poikilocyt. Poikilocyty se mohou objevit v důsledku abnormalit membrány erytrocytů (Karan, 2015).

Akantocyty – mají špičatou buněčnou membránu, kvůli nepravidelným trnitým výběžkům, které se liší šířkou, délkou a počtem (Karan, 2015). Jsou bez projasnění, mají spíše sférocytární tvar. Příčinou vzniku je nedostatek β lipoproteinů v erytrocytární membráně (Penka a Tesařová, 2011).

Echinocyty – jsou erytrocyty s krátkými, tupými, rovnoměrně rozloženými výběžky na membráně. Jedná se tedy o erytrocyty s abnormální membránou (Karan, 2015). Příčinou jsou poruchy lipidů v erytrocytární membráně nebo elektrolytická nevyváženost erytrocytu s vnějším prostředím. Jedná se často o artefakt starší krve (Penka a Tesařová, 2011).

Stomatocyty – jsou erytrocyty tvaru pootevřených úst. Mají prodlouženou oblast projasnění přes střed erytrocytu. Příčinou je elektrolytická nerovnováha erytrocytu (Penka a Tesařová, 2011). Stomatocyty jsou výsledkem zvýšení objemu erytrocytů a následně snížení poměru povrch X objem v důsledku určitého defektu propustnosti membrány (Karan, 2015).

Sférocyty – tyto buňky mají spíše tvar koule než typický bikonkávní tvar očekávaný od normálních erytrocytů. Nemají centrální oblast projasnění a mají menší povrchovou plochu. Sférocyty jsou často známkou dědičné sférocytózy nebo imunitně zprostředkované hemolytické anémie (Karan, 2015).

Drepanocyty – jsou srpkovité erytrocyty, jejichž tvar připomíná čepel srpku nebo půlměsíc (Karan, 2015). Příčinou je spirálovitě změněná molekula hemoglobinu S mutací v 6. sekvenci β -globinového řetězce. Klinický význam mají u srpkovité anémie a hemoglobinopatie (hemoglobin SS, SC, SD, S- β talasemie) (Penka a Tesařová, 2011).

Dakryocyty – jsou slzičkovité erytrocyty, které mají kapkovitý tvar prodloužený k jednomu pólu. Příčina je mechanická, jedná se o ireverzibilní deformaci erytrocytů (Penka a Tesařová, 2011). Obvykle jsou charakteristické pro myelofibrózu. Jsou také pozorovány u poruch kostní dřeně (Karan, 2015).

Schistocyty – je fragmentovaná část erytrocytů. Jedná se o doslova zlomený kus z erytrocytu. Je tedy zřejmé, že mají nepravidelný tvar. Mají obvykle 2 špičaté konce a nemají žádnou centrální oblast projasnění. Tvorba schistocytů nastává v důsledku mechanické destrukce (fragmentační hemolýzy) normálního erytrocytu. Erytrocyty se zachytí ve vlákněch fibrinu a pouhá síla průtoku krve způsobí, že se erytrocyty zlomí (Karan, 2015).

Keratocyty – krevní buňky, které připomínají přilbu s popruhy nebo rohatou buňku (Karan, 2015).

Eliptocyty/Ovalocyty – erytrocyty, které mění svůj tvar od protáhlých erytrocytů až po oválné. Jsou bohaté na hemoglobin (Karan, 2015). Příčinou je neúplná proteinová struktura membrány (Penka a Tesařová, 2011).

- eliptocyty: ve tvaru doutníku
- ovalocyty: vejčitý tvar (Karan, 2015).

Leptocyty – jsou terčovité erytrocyty chudé na hemoglobin. Hemoglobin je uložen po obvodu a uprostřed krvinky. Leptocyty připomínají „mexický klobouk“. Příčinou je akumulace membránových fosfolipidů a cholesterolu.

Knizocyty – mají „most“ přes světlé centrální pole erytrocytu. Mají dvě nebo více vpáčených membrán. Příčinou je akumulace membránových fosfolipidů a cholesterolu (Penka a Tesařová, 2011).

1.4.2 Změna velikosti erytrocytů

Nejdůležitějším parametrem erytrocytů pro diskusi o změnách velikosti krevních buněk je střední objem (MCV). MCV je průměrný objem erytrocytů, který odráží velikost buňky. Vysoké MCV označuje velké erytrocyty a malé MCV označuje malé erytrocyty (Karan, 2015). Jeho typická referenční hodnota je 84 až 95 fL (Pecka, 2006). Jakákoli změna velikosti erytrocytů je známá jako anizocytóza a stupeň anizocytózy ve vzorku krve je známý jako šířka distribuce červených krvinek (Karan, 2015).

Mikrocyty – MCV <82 fL, průměr <6,5 μm. Klinický význam u sideropenických a sideroplastických anémií, u mikroangiopatických hemolytických anémií, u hemoglobinopatií, talasemií.

Makrocyty – MCV >98 fL, průměr >7,8 μm. Klinický význam při nedostatku vitamínu B₁₂ a kyseliny listové, u MDS (myelodysplastický syndrom), aplastické anémie, akutní ztráty krve, chemoterapie a onemocnění jater.

Izocytóza erytrocytů – RDW <15,2 %, přítomnost stejně velkých erytrocytů v nátěru.

Anizocytóza erytrocytů – RDW >15,2 %, přítomnost různě velkých erytrocytů v nátěru (Penka a Tesařová, 2011).

1.5 Anizocytóza

Anizocytóza je stav, kdy erytrocyty nemají stejnou velikost. „Aniso“ znamená nestejně a „cytóza“ označuje rysy nebo počet buněk. Samotná anizocytóza je nespecifický termín, protože existuje několik různých způsobů, jak mohou být buňky odlišné (Seymour, 2017).

Variační koeficient počtu erytrocytů se uvádí jako šířka distribuce erytrocytů nebo RDW. Variační koeficient znamená, jak reprodukovatelné je opakované měření. Reprodukovatelnost hodnot mezi buněčnou populací odráží nejen variabilitu měření, ale také biologickou heterogenitu buněk (Lokwani, 2013). Je měřítkem variability objemu erytrocytů, které je hlášeno jako součást standardního kompletního krevního obrazu a představuje kvantitativní měření anizocytózy (Kust et al., 2017). Tento parametr lze snadno, levně a rychle vypočítat jako poměr směrodatné odchylky (SD) objemu erytrocytů a průměrného objemu krvinek (MCV) [tj. $(RDW-SD)/(MCV) \times 100$], přičemž konečný výsledek se vyjádří v procentech (Lippi a Plebani, 2014).

Moderní hematologické analyzátory měří RDW buď impedancí, nebo optickými technikami. Tento odlišný přístup přispívá k tomu, srovnání mezi laboratořemi je poměrně náročné (Lippi et al., 2014). Hematologické analyzátory se také liší velikostními limity a relativní výškou histogramu erytrocytů použitého pro výpočet. Navzdory těmto technickým problémům se RDW automaticky vypočítá téměř u každého pacienta, u kterého je požadován kompletní krevní obraz (CBC). Normální hodnoty do značné míry závisí na přístrojovém vybavení a populaci. Každá laboratoř si tedy stanoví své vlastní intervaly spolehlivosti (Lippi a Plebani, 2014).

Ovlivnit velikost červených krvinek a způsobit tak anizocytózu mohou různé faktory (Penka a Buliková, 2009). RDW může poskytnout pohled na podstatu anémie, protože určité procesy v těle zvyšují jeho hodnotu, zatímco jiné nikoli (Lokwani, 2013). S vysokým RDW se může projevit několik forem anémie. Formy anémie se zvýšenými

hodnotami RDW zahrnují hemolytické anémie, dědičnou sférocytózu, nedostatek vitamínu B₁₂ a/nebo kyseliny listové, anémii související s myelodysplastickým syndromem a tak dále. RDW se může také zvýšit u jiných stavů, např. po krevní transfúzi nebo u chronického onemocnění jater (Lippi et al., 2018). Diagnostické hodnoty variačního koeficientu šířky distribuce erytrocytů (RDW-CV) a standardní odchylky šířky distribuce červených krvinek (RDW-SD) lze použít např. u anémie z nedostatku železa (Kai et al., 2021). Při diferenciální diagnostice mezi anémií z nedostatku železa a heterozygotní talasemií je užitečná hodnota RDW, přičemž RDW je vyšší v prvním stavu, tedy u anémie z nedostatku železa a téměř normální v druhém, tj. u talasémie (Lippi et al., 2018).

1.5.1 Příčiny anizocytózy spojené s anémií

Anémie (chudokrevnost) je chorobný stav, charakterizovaný snížením hemoglobinu pod fyziologickou mez pro daný věk a pohlaví (Penka a Buliková, 2009). Obvykle dochází i ke snížení RBC a HCT. MCV rozdělí anémie na normocytární, mikrocytární a makrocytární. Podle hodnoty MCH pak mluvíme o anemiích normochromních a hypochromních (Lukáš et al., 2022).

O anémii hovoříme při poklesu koncentrace hemoglobinu pod dolní hranici normy:

- u dospělých mužů poklesne HGB pod 135 g/l, u žen HGB pod 120 g/l
- dolní hranice normy HGB u novorozence je 145 g/l, ve dvou měsících 105 g/l a poté zvolna stoupá k pubertě – u dětí je nutné použít normy pro konkrétní věk včetně norem pro MCV
- hodnoty HGB a HCT mohou být ovlivněny objemem plazmy: například v těhotenství, při dehydrataci, diabetes insipidus apod.
- při akutním krvácení dochází k poklesu koncentrace HGB a HCT až po doplnění objemu plazmy, tyto hodnoty proto časně po krvácení neodrážejí závažnost krevní ztráty (Vydra et al., 2019).

Anémie je nejčastější hematologickou poruchou postihující lidstvo. Obvykle se vyskytuje u chronických chorobných stavů, jako je nespecifická anémie, která může způsobit diagnostické potíže. (Madu a Ughasoro, 2017). Počet erytrocytů má pro definování anémie menší význam, neboť u některých typů anémií, zvláště

mikrocytárních, nemusí být počet erytrocytů snížen a u některých stavů (např. talasémie) mohou být erytrocyty dokonce zmnoženy (Penka a Buliková, 2009).

Příčin vzniku anémie existuje celá řada. Podle převažujícího děje můžeme anémie rozdělit následovně:

- anémie z poruchy tvorby erytrocytů
- anémie z nadměrné ztráty erytrocytů
- akutní posthemorhagická anémie (Penka a Tesařová, 2011)

Se sníženými hodnotami RDW souvisí hlavně β -talasémie. Naopak se zvýšenými hodnotami pak souvisí anémie z nedostatku železa, některé anémie chronických onemocnění a makrocytární anémie (Penka a Buliková, 2009).

1. β -talasémie

β -talasémie jsou skupinou dědičných krevních poruch charakterizovaných anomáliemi v syntéze β -řetězců hemoglobinu, které vedou k různým projevům od těžké anémie až po klinicky asymptomatické onemocnění (Galanello a Origa, 2010).

Jsou většinou vyvolány mutacemi, které ovlivňují regulaci nebo expresi β -globinového genu, který je uložen na krátkém raménku chromozomu 11. Méně často jsou vyvolány delecemi (Pecka, 2006). Závažnost talasémie se liší podle typu mutace (Karner, 2017). Jde většinou o jednoduché záměny nukleotidových bází u deoxyribonukleové kyseliny (DNA) β -globinového genu. Takto změněný gen nevytváří β -řetězce v dostatečném množství. U homozygotní formy se řetězce netvoří vůbec (β 0-talasémie) (Pecka, 2006).

Charakteristika:

- mírná anémie
- snížený MCV, MCHC
- zvýšený počet červených krvinek
- zvýšený hemoglobin adultního typu 2 (HbA₂) (Karner, 2017).

A. Talasémie minor

Jedná se o heterozygotní formu (postižení 1 alely genu pro β řetězec – BA nebo BB). Většinou chybí klinické příznaky nebo má onemocnění lehký průběh (Pecka, 2006). Jedná se tedy o mírnější formu než talasémie major.

Počet erytrocytů je normální nebo zvýšený, hodnoty hemoglobinu se pohybují okolo 100 až 110 g/l, mohou být i fyziologické (v normě). Anémie je hypochromní, mikrocytární (MCV 50 až 70 fL). V nátěrech vidíme terčovité erytrocyty, polychromázii a bazofilní tečkování. Počet retikulocytů je lehce zvýšen. Hladina hemoglobinu HbA₂ je zvýšená na 3,5 % až 8,0 %, hladina fetálního hemoglobinu (HbF) může být lehce zvýšená 2 % až 6 %. U talasémie minor je lehká hyperplazie erytropoézy se zvýšenými zásobami železa (Penka, 2001).

B. Talasémie major

Jedná se o homozygotní formu (postižení 2 alel genu pro β řetězec – BA i BB), která má těžký klinický průběh (Pecka, 2006).

Precipitující α -řetězce vedou k hemolýze, což má za následek splenomegálii (zvětšení sleziny). Jsou-li erytrocyty schopny syntetizovat γ -řetězce, vzniká fetální hemoglobin s vysokou afinitou ke kyslíku. Následná tkáňová hypoxie pak dále zvyšuje nároky na krevtvorbu. Přežití jedinců s talasémií major je zkráceno (k úmrtí může dojít již v prvním roce života). Onemocnění je zjištěno obvykle po uplynutí prvních 4 týdnů života – asi v 6. týdnu, kdy vzniká anémie s přítomností jaderných buněk v periferní krvi a v 8. týdnu splenomegalie. V pozdějším vývoji dochází k retardaci růstu, postižení sexuálního vývoje a může dojít i k poškození i jiných endokrinních tkání (diabetes mellitus, hypoparatyreoidismus atd.) (Penka, 2001).

2. Anémie z nedostatku železa

Anémie z nedostatku železa neboli sideropenická anémie. Je anemický syndrom, který vzniká na základě nedostatku železa jako jednoho ze základních stavebních prvků molekuly hemu (Penka a Buliková, 2009). Zásoba železa v těle je udržována v dynamické rovnováze. K jeho nedostatku dochází, pokud jeho ztráta přesáhne kompenzační mechanismy (Rokyta, 2015). Anémie z nedostatku železa je celosvětově nejčastějším typem anémie (Zhang, 2017), který postihuje děti, ženy

a starší osoby, a zároveň je běžnou komorbiditou u mnoha zdravotních stavů (Cappellini et al., 2020).

Anémie z nedostatku železe se vyvíjí, když není v krvi dostatek železa. To je často způsobena ztrátou krve. Dále to může být také způsobeno špatným vstřebáváním železa po porodu, během těhotenství nebo po bypassu žaludku (Seymour, 2017). Diagnóza by měla být založena na panelu testů, nikoli na jediném testu (Zhang, 2017). Lze ji snadno stanovit měřením hladiny hemoglobinu a sérového feritinu (Cappellini et al., 2020)

Absolutní anémie z nedostatku železa

Absolutní anémie z nedostatku železa se týká snížení celkových zásob železa v těle (většinou v makrofázích a hepatocytech), u nichž může nebo nemusí dojít k progresi závažnosti vedoucí k anémii z nedostatku železa.

Funkční anémie z nedostatku železa

"Funkční" nebo také "relativní" anémie z nedostatku železa je termín používaný v literatuře k popisu dvou hlavních situací:

- situace, kdy je železo stěží přenášeno ze zásob do oběhu erythropoetické tkáně z důvodu chronického zánětu a zvýšených hladin hepcidinu. Zvýšená hladina hepcidinu se vyskytuje u pacientů s chronickým onemocněním ledvin, chronickým srdečním selháním, zánětlivým onemocněním střev, chronickým plicním onemocněním, rakovinou, obezitou, jinými autoimunitními onemocněními a chronickou infekcí
- situace zvýšené erythropoézy zprostředkované buď endogenními odpověďmi erythropoetinu na anémii, nebo léčbou látkou stimulujícími erythropoézu, která vytváří nerovnováhu mezi poptávkou po železe a nabídkou (Cappellini et al., 2020).

3. Makrocytární anémie

Makrocytární anémie se dělí na dvě formy, megaloblastovou a nemegaloblastovou anémii (Moore a Abdullah, 2022). Megaloblastové anémie jsou definovány megaloblastovou přestavbou kostní dřeně, kde se vyskytují typické oválné prekurzory erytrocytů – megaloblasty (Rokyta, 2015).

MEGALOBLASTOVÉ ANÉMIE – vznikají nedostatkem vitamínu B₁₂ nebo kyseliny listové. Vitamín B₁₂ a kyselina listová jsou nutné ke správné tvorbě DNA. Při jejich nedostatku vážně trpí tvorba buněčných jader, a kromě erytrocytů trpí i další rychle se dělící buňky (Navrátil et al., 2017).

Příčiny megaloblastové anemie:

- nedostatek vitamínu B₁₂: nejčastěji anémie z nedostatku vnitřního faktoru, po gastrektomii, při bakteriální kolonizaci tenkého střeva, při kongenitálních nebo získaných defektech v oblasti distálního ilea (resekce ilea, Crohnova choroba, celiakie)
- nedostatek kyseliny listové (Rokyta, 2015).

Diagnózu megaloblastové anémie bez známého klinického vysvětlení by měla urychlit vyhodnocení sérového vitamínu B₁₂, kyseliny listové a kyseliny methylmalonové (Karner, 2017).

NEMEGALOBLASTOVÉ FORMY – vyskytují se z mnoha mechanismů (Moore a Abdullah, 2022).

1.6 Zhodnocení anizocytózy

Krevní obraz se rutinně vyšetřuje na automatických analyzátoch (Lukáš et al., 2022). Je to poměrně levný, ale výkonný diagnostický marker u různých hematologických a nehematologických stavů (Lokwani, 2013).

Vyšetření se provádějí z nesrážlivé krve. Jako protisrážlivé činidlo se do odběrových zkumavek používá standardně antikoagulačně působící EDTA (etylendiamintetraoctová kyselina) např. K₃EDTA (tri-draselná sůl kyseliny etylendiamintetraoctové), K₂EDTA (di-draselná sůl kyseliny etylendiamintetraoctové) nebo Na₂EDTA (di-sodná sůl kyseliny etylendiamintetraoctové) (Penka a Tesařová, 2011). Dospělým pacientům se zpravidla

odebírání krve venózní, protože u nich kromě zjištění krevního obrazu bývají nutná další klinicko-biochemická vyšetření. Po naplnění se zkumavka musí opakovaně převracet nahoru a dolů, aby se protisrážlivé činidlo dobře promísilo s krví (Haferlach, 2014).

V dnešní době se setkáváme s velkým výběrem nejrůznějších typů hematologických analyzátorů. Každý má svá jedinečná specifika, ale používají se v zásadě dva základní principy měření: optický a impedanční (Penka a Buliková, 2009). Moderní analyzátory navíc používají principy vodivosti, cytochemické barvení, rozptyl světla a průtokovou cytometrii. Výsledky jsou poté znázorňovány graficky ve formě bodových grafů nebo histogramů (Lokwani, 2013). Jednotlivé analyzátory vydávají různé kombinace parametrů měřených, tak i počítaných (Penka a Tesařová, 2011). Z příslušných měření získáváme informace o počtu, velikosti, tvaru a složení buňky. Principy měření mohou být na jednotlivých analyzátoch kombinovány a umožňují potom různé kvantitativní i kvalitativní analýzy všech buněčných elementů, které analyzátoem prošly.

U impedanční metody protékají krvinky nařazené speciálním roztokem otvorem, po jehož stranách jsou umístěny elektrody, na které je přiváděn stejnosměrný proud (Lukáš et al., 2022). Používá se metoda hydrodynamické fokusace (tj. unášení jednotlivých buněk proudem kapaliny) ve vodivém roztoku (Penka a Buliková, 2009). Při průchodu krvinky aperturou dojde k přerušování proudu mezi elektrodami, tím se zvýší impedance a vznikne impulz (Lukáš et al., 2022). Po analýze impulzu přístroj vydává kvantitativní (počet impulzů) a kvalitativní (velikost impulzů) informace o jednotlivých buňkách. Měření může být ještě doplněno např. vysokofrekvenční analýzou (Penka a Buliková, 2009). Impedanční metodou jsou nejčastěji detekovány erytrocyty a trombocyty (Lukáš et al., 2022).

Optická analýza je založena na principu průtokové cytometrie (Penka a Buliková, 2009). Průtoková cytometrie je založena na průchodu krvinek skrz laserový paprsek (Lukáš et al., 2022). Buňky procházejí jedna za druhou průtokovou kyvetou pomocí hydrodynamické fokusace (Penka a Buliková, 2009). Po dopadu paprsku na krvinku dochází k jeho rozptylu. Tento rozptyl je poté zaznamenán detektory pod určitými úhly (Lukáš et al., 2022). Laserový paprsek je po průchodu podroben analýze (Penka a Buliková, 2009). Množství rozptýleného světla detekované pod malým úhlem od směru paprsku (forward scatter) je úměrné velikosti krvinky. Množství rozptýleného světla detekované pod velkým úhlem od směru paprsku (side scatter) je závislé na komplexitě

buňky (granularita, tvar a členitost jádra). Optickou metodou stanovujeme leukocyty, diferenciální rozpočet leukocytů, normoblasty, retikulocyty, nezralé granulocyty, ale je možné detekovat i erytrocyty a trombocyty (Lukáš et al., 2022).

Krevní obraz je jedno ze základních vyšetření pro diagnostiku a sledování léčby řady onemocnění. Je třeba znát nejen důvody, proč toto vyšetření požadovat, ale i okolnosti, které souvisí s vlastním vyšetřováním na hematologických analyzátoch. K získání co nejvíce informací z daného vyšetření je třeba ze strany laboratoře respektovat preventivní zásady vyšetření, zohledňovat výsledky předchozích vyšetření a přihlížet k souvisejícím informacím jako je diagnóza, věk, pohlaví a léčba pacienta. Hematologické analyzátory vydávají informace rychle a přesně (Penka a Tesařová, 2011). V červené krevní řadě je popisován nejen počet erytrocytů, koncentrace hemoglobinu, hematokrit, ale i střední objem erytrocytu, střední obsah hemoglobinu v erytrocytu, střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu a dále šíře distribuce erytrocytů, z níž lze usuzovat na anizocytózu (Souček et al., 2011).

Měření a analýza jednotlivých parametrů mohou být ovlivněny buněčnými faktory (normoblasty, rezistentní erytrocyty k hemolýze, křehké buňky, holá jádra, fragmenty erytrocytů, mikrocyty, makrotrombocyty, mikrosraženiny, sraženiny) i nebuněčnými faktory (chladové protilátky, autoprotilátky, hemolytický, ikterický a chylózní vzorek). Analyzátor také upozorňuje na případné patologie v krevním obraze, které je nutno kontrolovat mikroskopem. Ke kontrole pod mikroskopem se musí zhotovit krevní nátěr (Penka a Tesařová, 2011).

Krevní nátěr je test používaný k hledání abnormalit v krevních buňkách. Tento test poskytuje informace o počtu a tvaru buněk, které mohou lékařům pomoci diagnostikovat určité poruchy krve nebo jiné zdravotní stavy (Krause, 2018).

Nátěr se zaměří na řadu věcí, včetně:

- počet erytrocytů
- objem buňky
- průměrné množství hemoglobinu v každém erytrocytu
- koncentraci hemoglobinu v každém erytrocytu (Seymour, 2017).

Krevní nátěr se provádí z kapky nesrážlivé krve (nebo srážlivé kapilární krve) pomocí roztíracího sklíčka na podložním skle (Lukáš et al., 2022). Podložní sklíčko, na které se nátěr dělá, by mělo být dokonale čisté, odmaštěné a suché. Jako roztěrové sklíčko se nejčastěji používá sklíčko se zabroušenými hranami, které zajistí, že nátěr bude dostatečně široký. Na kraj podložního sklíčka se kápne kapka krve, přibližně 0,5 až 1 cm od okraje. Roztěrové sklíčko posuneme ke kapce, až se celá rozlije podél hrany roztěrového sklíčka. Poté sklíčkem roztíráme krev rovnoměrným, plynulým pohybem v postupně více ostrém úhlu od 45° do 30°. Ideální nátěr se rovnoměrně ztenčuje a je přibližně 3 až 6 cm dlouhý. Sklíčko nezapomeneme označit tužkou na zabroušené straně nebo pomocí lepícího štítku. Nátěr před barvením musíme nechat dokonale uschnout (Kajerová et al., 2006).

Po zaschnutí nátěru je potřeba jej obarvit. Nejčastěji se využívá Pappenheimovo panoptické barvení. Vzorek je nejprve obarven May-Grünwaldovým roztokem a následně roztokem Giemsa-Romanowski (Lukáš et al., 2022). Mezi jednotlivými kroky barvení jsou nátěry oplachovány fosfátovým pufrům o pH 6,8 a nakonec vodou (Penka a Tesařová, 2011). Po obarvení jsou nátěry hodnoceny pod mikroskopem (Lukáš et al., 2022).

Výsledky určí, jaký typ anizocytózy osoba má. Pokud jsou červené krvinky menší než normálně, může to být známkou nízké hladiny železa nebo srpkovité anémie. Pokud jsou erytrocyty větší než normálně, příčinou může být nedostatek vitamínů, onemocnění jater nebo řada dalších stavů (Seymour, 2017).

1.7 Řešení anizocytózy

Léčba bude záviset na příčině anizocytózy. Je nezbytné, aby byla identifikována základní příčina problému, aby mohla být zahájena správná léčba. Anizocytóza často souvisí s anémií a anémie je obvykle způsobena nedostatkem železa nebo vitamínů. Typická léčba při nedostatku železa je užívání doplňků železa nebo změna stravy se zvýšeným příjmem potravin bohatých na železo např. hnědá rýže, maso, ryby, fazole, ořechy (Seymour, 2017).

2 Cíle práce a hypotézy

2.1 Hypotézy

1. Ve zpracovávaném souboru dat bude častěji zastoupena anizocytóza erytrocytů u starších pacientů než u mladších.
2. Ve zpracovávaném souboru dat bude častěji zastoupena anizocytóza erytrocytů u žen než u mužů.
3. Ve zpracovávaném souboru dat bude převaha počtu vzorků s anizocytózou erytrocytů nad vzorky s normocytárními erytrocyty.

2.2 Cíl práce

Cílem práce je získat natolik velký soubor výsledků krevních obrazů, aby bylo možné je kvalitně statisticky zhodnotit. V rámci tohoto hodnocení budou ze souboru vyčleněny vzorky s hodnotami RDW mimo referenční meze. Následně budou tyto vzorky roztrženy a statisticky zhodnoceny podle věkových skupin a podle pohlaví. Dále budou všechny výsledky zhodnoceny podle četnosti vzorků s anizocytózou erytrocytů oproti vzorkům s erytrocyty s RDW v referenčním rozmezí. Na základě ostatních parametrů krevního obrazu bude zvažována možnost výskytu anizocytózy v důsledku jiného onemocnění.

3 Metodika

3.1 Preanalytická fáze

Preanalytická fáze neprobíhá v laboratoři, ale před přijetím vzorku do laboratoře. Je zajišťována odborným personálem Nemocnice České Budějovice a.s.. Preanalytická část vyšetření zahrnuje poučení pacienta před odběrem biologického materiálu, odběr, transport a uchování biologického materiálu.

3.1.1 Odběr vzorku

Před odběrem je třeba vždy označit zkumavku jménem a příjmením pacienta a rodným číslem, aby nedošlo k záměně vzorku. Odběr krve by se měl provádět v poloze vsedě nebo vleže. Materiálem pro vyšetření krevního obrazu je obvykle plná krev odebraná ze žíly v loketní jamce. V některých případech lze použít krev odebranou z prstu.

Krev je odebrána do plastové vakuované zkumavky s fialovým víčkem, která obsahuje protisrážlivý roztok K₃EDTA nebo jiný antikoagulant. Takto odebraný materiál je stabilní 5 hodin při teplotě 15 až 25°C.

3.1.2 Transport vzorku

Vzorky biologického materiálu musí být transportovány v kolmé poloze a uzavřené. Během transportu musí být odběrové zkumavky umístěny v pevné a nepropustné nádobě nebo stojánku odděleně od žádanek. Krev nesmí být vystavena přímému světlu. Transport musí být dostatečně rychlý.

3.2 Analytická fáze

Analytická fáze vyšetření je provedení vlastní analýzy. Začíná příjmem vzorku do laboratoře, pokračuje kontrolou údajů na zkumavce a žadance a jejich zápis do laboratorního informačního systému (LIS). Analytická část končí po vyšetření vzorku a výpočtu jeho výsledků. Krev se zpracovává na analyzátoch, každý typ analyzátoru má svůj specifický postup zpracování.

3.2.1 Příjem vzorku

Vzorek, který přijde na oddělení hematologie, se musí před jeho vyšetřením zkontrolovat. Je nutné, aby všechny vzorky byly označeny a byla k nim dodána žádanka. Údaje na zkumavce a žadance se musí shodovat, jinak je vzorek odmítnut a je nutné zaslat nový vzorek se žádankou. Na zkumavce musí být uvedené jméno, příjmení a rodné číslo. Tyto

údaje budou rovněž na žádance, která navíc bude obsahovat pohlaví, datum a čas odběru, druh odebraného materiálu, kód diagnózy, kód zdravotní pojišťovny, urgentnost, oddělení a jméno lékaře, požadovaná vyšetření, a nakonec jméno sestry, která odběr provedla.

Pokud některé údaje chybí a je možno je telefonicky doplnit, kontaktuje se sestra nebo lékař a údaje se doplní. Jestliže se telefonicky s oddělením, které vyšetření požadovalo, nelze spojit, vzorek je odmítnut a není vyšetřen. Další důvody, kdy může dojít k odmítnutí vzorku, jsou:

- pochybnost o identitě pacienta
- žádanka nebo vzorek znečištěn biologickým materiálem
- překročená doba pro stanovení
- nesprávný odběr – sraženiny, nesprávný objem vzorku, chybná zkumavka
- dodání pouze zkumavky nebo žádanky.

Pokud taková situace nastane a vzorek je odmítnut, je nutno tuto okolnost oznámit na oddělení nebo lékaři a je požadován nový odběr s novou žádankou. Jestliže se údaje na vzorku a žádance shodují, jsou zkumavky a žádanky označeny čárovým kódem a zapíše se do laboratorního informačního systému. Pod tímto kódem je poté možné vzorky dohledat. V laboratoři dochází ihned k třídění materiálu podle požadovaného druhu vyšetření.

3.2.2 Hematologický analyzátor UniCel® DxH 800 Beckman Coulter

Na oddělení Klinické hematologie Nemocnice České Budějovice a.s. se používá krevní analyzátor BECKMAN COULTER (UniCel DxH 800) (obr. 10). Jedná se o plně automatizovaný hematologický analyzátor pro stanovení krevního obrazu a pětipopulačního diferenciálního rozpočtu leukocytů.

Hematologický analyzátor DxH 800 pracuje na Coultrově impedančním principu. Analyzátor počítá a stanovuje velikosti buněk zjištěním a změřením elektrického odporu. Částice ve vodivé kapalině prochází aperturou. Každá buňka suspendovaná ve vodivé kapalině funguje jako izolátor. Když buňka projde aperturou, zvyšuje elektrický odpor mezi dvěma elektrodami umístěnými na obou stranách apertury. To způsobuje elektrický

impulz, u něhož se určí jeho velikost. Počet impulsů určuje počet částic, zatímco velikost elektrického impulsu je úměrná objemu buňky. Tyto údaje společně s objemem vzorku a ředěním, jsou základní parametry pro výpočet koncentrace a sestavení histogramu WBC, RBC a PLT.

3.2.3 Soubor zpracovaných dat

V rámci výzkumu byla sbírána data na oddělení Klinické hematologie v Nemocnici České Budějovice a.s., u kterých byl vyšetřován krevní obraz. Do souboru hodnocených dat byly zařazeny všechny vzorky, které byly v laboratoři Klinické hematologie vyšetřovány v období 4.1.2022 - 15.11.2022.

Krevní obrazy, které byly zpracovávány na oddělení Klinické hematologie v Nemocnici České Budějovice a.s., přicházely z různých oddělení, ambulancí či od externích žadatelů. Ve vyhodnocovaném souboru dat se vyskytují prakticky všechny zpracované krevní obrazy bez ohledu na věk, pohlaví a diagnózu pacienta. Získaný soubor je dostatečně velký na to, aby šlo dostatečně kvalitně statisticky soubor vyhodnotit.

Krevní obraz je celkové vyšetření krve, kterým jsou zjišťovány poměry jednotlivých složek. Vyhodnocuje tři hlavní buněčné komponenty: leukocyty, erytrocyty a trombocyty. Díky tomuto vyšetření jsou získány parametry, které potřebujeme pro srovnání s normálním zdravotním stavem. Hlavní sledovaný parametr v této práci je RDW neboli distribuční šíře erytrocytů.

Vzorky, které mají RDW mimo referenční meze, budou roztrženy a následně hodnoceny podle věkových skupin a pohlaví. Zhodnocena bude i četnost vzorků s anizocytózou erytrocytů oproti četnosti vzorků s erytrocyty s RDW v referenčním rozmezí. Nakonec, na základě ostatních parametrů krevního obrazu, budou posouzeny možné příčiny vzniku anizocytózy.

3.2.4 Vlastní postup přípravy a vyšetření vzorku

Před samotným měřením je naskenována žádanka, která přijde do laboratoře společně se vzorkem pacienta. Je provedena kontrola, zda se údaje na zkumavce se vzorkem a žadance shodují. Tuto kontrolu je nutné provést, aby nedošlo k záměně vzorku. Při zadání požadavků z žádanky pacienta do laboratorního informačního systému je žadance i vzorku krve pacienta přidělen jedinečný čárový kód, který vygeneroval LIS. Na žádanku i zkumavku s patientským vzorkem je poté tento čárový kód nalepen.

Tyto požadavky jsou automaticky zaslány do řídicího počítače DxH 800 a u každého vzorku jsou analyzovány pouze požadované parametry. Díky použití čárového kódu je vyloučeno riziko záměny vzorků. Odpadá tak ruční zadávání a s tím spojená možná chyba.

Pacientský vzorek ve zkumavce s antikoagulačním roztokem K₃EDTA (nebo obdobným antikoagulantem) se v rukavicích několikrát otočí dnem vzhůru, aby se vzorek homogenizoval. Před samostatným měřením na analyzátoru se musí krev řádně promíchat na třepačce 10-15 minut. Poté dle urgentnosti jsou vzorky vloženy do analyzátoru krevního obrazu. Statimové vzorky musí být vyšetřeny ihned, zatímco rutinní vzorky jsou vyšetřeny do 5 hodin od odběru krve.

Zkumavka s promíchaným vzorkem je umístěna do kazety tak, aby analyzátor mohl naskenovat čárový kód. Následně je kazeta vložena do vstupního zásobníku (obr. 11), ze kterého si jej analyzátor sám posune do modulu, kde probíhá analýza. Prvním krokem analyzátoru je zaznamenání čárového kódu na zkumavce. Před nasátím vzorku načte dvakrát ID kazety a vzorku. Měření trvá cca 1-2 minuty a výsledkem je kompletní krevní obraz i s diferenciálním rozpočtem leukocytů.

4 Výsledky

4.1 Výsledky krevního obrazu

Pro účely této bakalářské práce jsou hodnoceny pouze některé výsledky z červeného krevního obrazu. Konkrétně se jedná o parametry HGB, MCV a RDW.

Soubor dat je nejprve posouzen z obecného hlediska. Statisticky je zhodnoceno, zda je v souboru převaha vzorků s anizocytózou erytrocytů nad erytrocyty s RDW v referenčním rozmezí. Hypotéza zněla, že vzorky s anizocytózou v souboru dat budou zastoupeny čteněji. To se statisticky nepotvrdilo, protože vzorků s erytrocyty s RDW v referenčním rozmezí bylo více. V tabulce, kde jsou hodnoceny pozorované a očekávané četnosti vzorků pacientů (tab. 1) je zobrazena četnost vzorků s anizocytózou erytrocytů (32,4 %), a četnost vzorků s erytrocyty s RDW v referenčním rozmezí (67,6 %).

Tabulka 1: Zastoupení erytrocytů s RDW v referenčních mezích X anizocytárních vzorků (n=534)

	POZOROVANÉ		OČEKÁVANÉ	
	četnosti	procenta	četnosti	procenta
normální RDW	361	68 %	267	50 %
anizocytóza	173	32 %	267	50 %
celkem	534	100 %	534	100 %

Zdroj: vlastní výzkum

Dalším předpokladem pro vyhodnocení rozložení anizocytózy v nasbíraných datech bylo rozdělení populace podle pohlaví (tab. 2) a podle věku (tab. 3).

Tabulka 2 zobrazuje rozložení anizocytózy v závislosti na pohlaví. V souboru dat se vyskytoval větší podíl žen s anizocytózou než mužů s anizocytózou. 37 % žen mělo zvýšené hodnoty RDW nad referenční meze. U mužů se RDW zvýšilo nad referenční meze pouze u 29 %.

Tabulka 2: Výskyt anizocytózy v závislosti na pohlaví (n=534)

POHLAVÍ	ERYTROCYTY		
	normální RDW	anizocytóza	celkem
žena	63 %	37 %	100 %
muž	71 %	29 %	100 %
celkem	68 %	32 %	100 %

Zdroj: vlastní výzkum

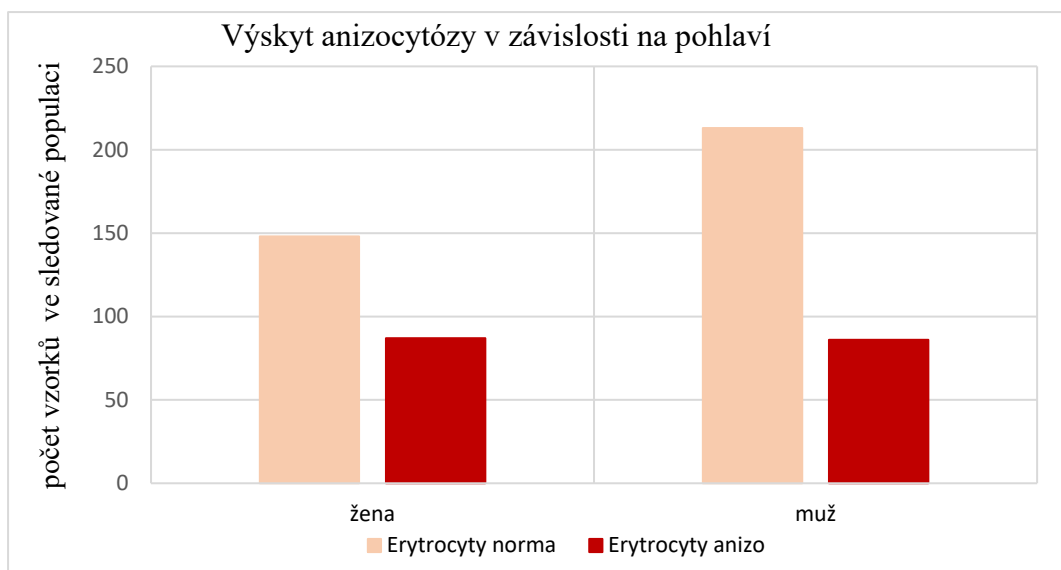
Tabulka 3 zobrazuje rozložení anizocytózy v závislosti na věku. Četnost výskytu anizocytózy u starších osob (ve věku od 40 let) byla větší než u mladších osob (ve věku do 40 let). Konkrétně se anizocytóza vyskytla u 36 % starších pacientů a pouze u 10 % mladších pacientů.

Tabulka 3: Výskyt anizocytózy v závislosti na věku (n=534)

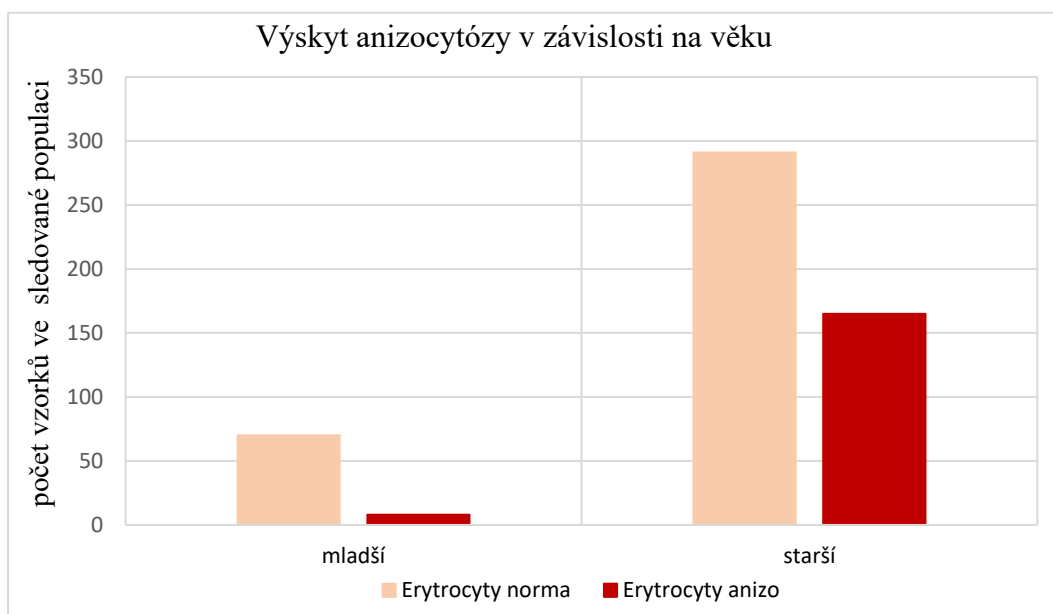
VĚK	ERYTROCYTY		
	normální RDW	anizocytóza	celkem
mladší	90 %	10 %	100 %
starší	64 %	36 %	100 %
celkem	68 %	32 %	100 %

Zdroj: vlastní výzkum

Pro lepší vizualizaci výsledků z tabulek (tab. 2 a tab. 3) jsou do výsledků vloženy grafy výskytu anizocytózy v závislosti na pohlaví (obr. 1) a v závislosti na věku (obr. 2). Grafické zobrazení výsledků nám poskytne jasný první pohled na výskyt anizocytózy ve spojení s pohlavím a věkem. Je zde viditelný rozdíl, který byl prokázán i statisticky. Souvislost anizocytózy a pohlaví není tak významná jako souvislost anizocytózy a věku pacienta. Anizocytóza se tedy vyskytuje více u starších pacientů, nehledě na to, zda se jedná o muže či ženy.



Obrázek č. 1: Výskyt anizocytózy v závislosti na pohlaví, zdroj: vlastní výzkum



Obrázek č. 2: Výskyt anizocytózy v závislosti na věku, zdroj: vlastní výzkum

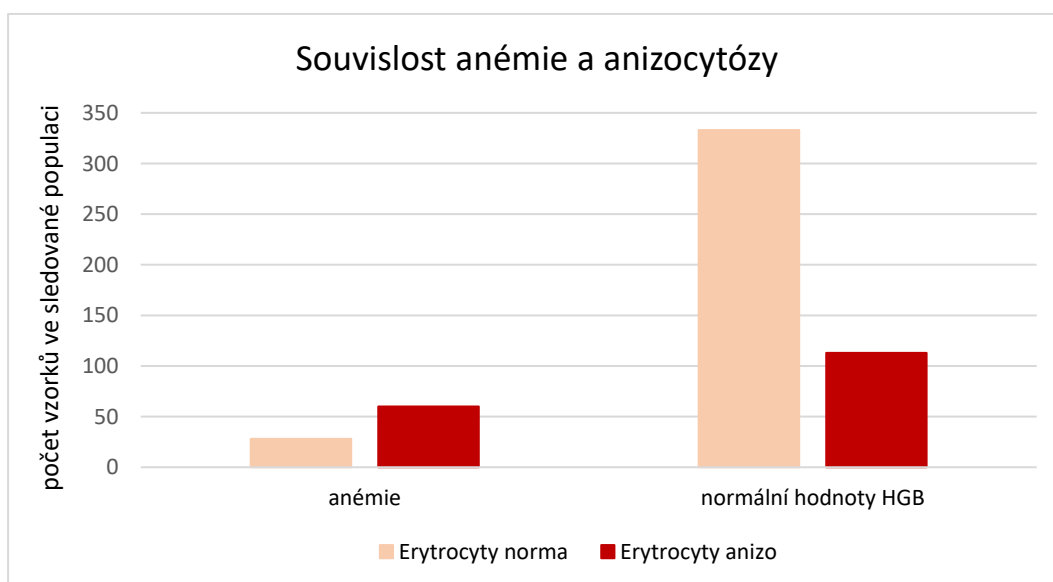
Na základně ostatních parametrů krevního obrazu byly zhodnoceny zvýšené hodnoty RDW v souvislosti s anémií. Důležitým parametrem pro zjištění anémie je koncentrace hemoglobinu (HGB). V tabulce (tab. 4) je jistá souvislost mezi nízkým hemoglobinem a anizocytózou. Pokud pacienti měli nižší hodnoty HGB, než je referenční mez, hodnoty jejich RDW byly také patologické. Z 32 % pacientů, kteří vykazovali známky anémie (tedy hemoglobin pod 110 g/l), jich 68 % mělo anizocytózu (distribuční šíře erytrocytů nad 15 %).

Tabulka 4: Souvislost anémie s anizocytózou (n=534)

HEMOGLOBIN	RDW		
	normální	anizocytóza	celkem
nízký	32 %	68 %	100 %
normální	75 %	25 %	100 %
celkem	68 %	32 %	100 %

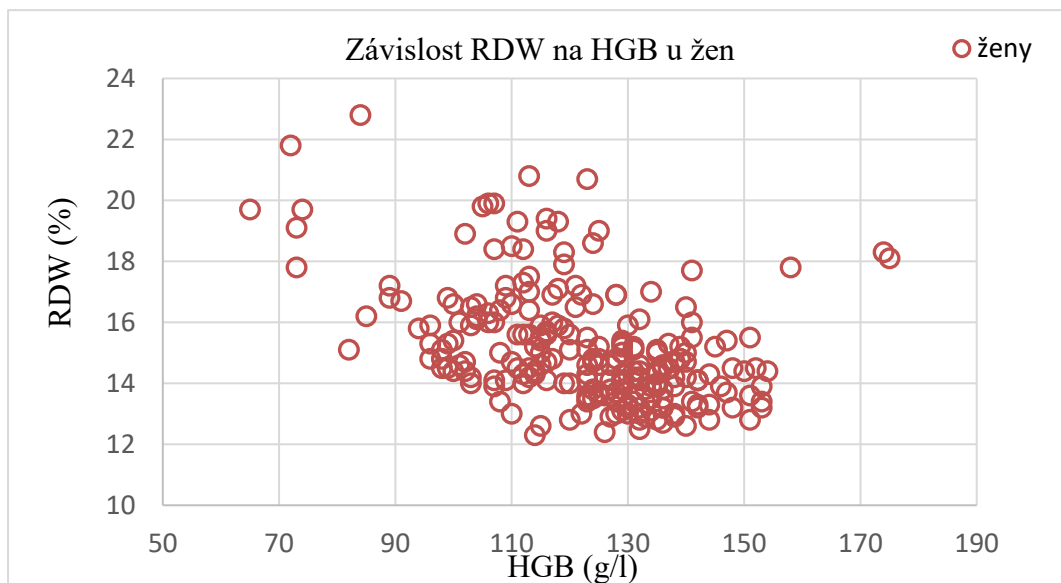
Zdroj: vlastní výzkum

V tabulce týkající se souvislosti anémie a anizocytózy (tab. 4) jsou zobrazeny číselné výsledky pozorované souvislosti mezi anémií a anizocytózou. Pro lepší představu byl vytvořen graf (obr. 3). Pacienti jsou zde rozděleni na pacienty s anémií a bez anémie. U těchto pacientů zobrazuje erythrocyty s normálními hodnotami RDW a se zvýšenými hodnotami RDW, tedy anizocytózou. Pokud pacienti v pozorovaném souboru dat podle hodnot hemoglobinu vykazovali známky anémie, byla u většiny z nich potvrzena anizocytóza. U pacientů, kteří neměli hodnoty hemoglobinu pod 110 g/l, a tedy nebyli anemičtí, byla převaha vzorků s erythrocyty v normě.



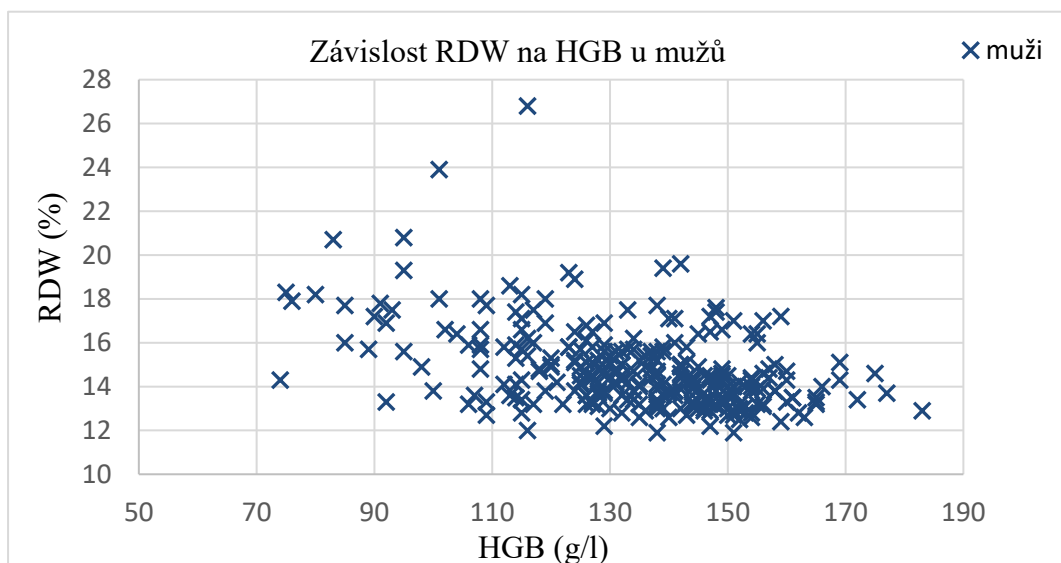
Obrázek č. 3: Souvislost anémie a anizocytózy, zdroj: vlastní výzkum

Dále byly vypracovány grafy závislosti RDW na HBG u žen (obr. 4) a u mužů (obr. 5). U obou pohlaví se potvrdilo, že pokud hodnoty HGB byly nízké, hodnota RDW byla zvýšená.



Obrázek č. 4: Závislost RDW na HGB u žen, zdroj: vlastní výzkum

Graf závislosti distribuční šíře erytrocytů na hemoglobinu (obr. 4) zobrazuje rozložení výsledků žen v závislosti na jejich hodnotách hemoglobinu a distribuční šíře erytrocytů. Ženy, které mají nižší hladiny HGB, mají většinou hodnoty RDW vysoké, zatímco ženy s vyššími hodnotami HGB mají RDW spíše nízké.



Obrázek č. 5: Závislost RDW na HGB u mužů, zdroj: vlastní výzkum

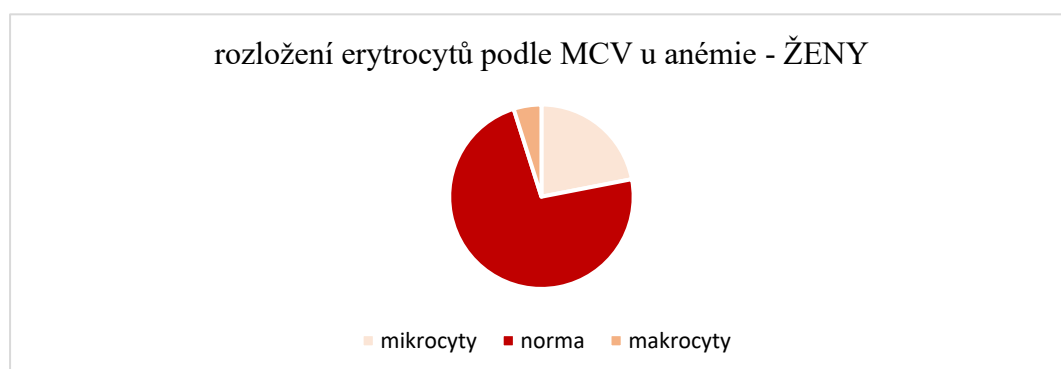
Graf závislosti distribuční šíře erytrocytů na hemoglobinu (obr. 5) zobrazuje rozložení výsledků mužů v závislosti na jejich hodnotách hemoglobinu a distribuční šíře erytrocytů. Muži, kteří mají nižší hladiny HGB, mají většinou hodnoty RDW vysoké, zatímco muži s vyššími hodnotami HGB mají RDW spíše nízké.

V práci byl dále hodnocen typ anémie podle MCV u mužů a žen. U obou pohlaví byla v největším zastoupení anémie normocytární (73 % žen a 76 % mužů). Při pohledu na anémii makrocytární a mikrocytární u žen, byly spíše snižené hodnoty MCV, a tedy mikrocyty (22 %). Makrocyty se vyskytovaly jen u 5 % žen viz. (tab.5 a obr. 6). U mužů, kteří vykazovali známky anémie, byl poměr mikrocytů a makrocytů podobný. Makrocyty se vyskytly u 13 % mužů a mikrocyty u 12 % viz. (tab. 6 a obr. 7).

Tabulka 5: Posouzení typu anémie podle MCV u žen (n=235)

HGB	MCV		
	mikrocyty	normocyty	makrocyty
nízký	22 %	73 %	5 %
norma	6 %	90 %	4 %

Zdroj: vlastní výzkum

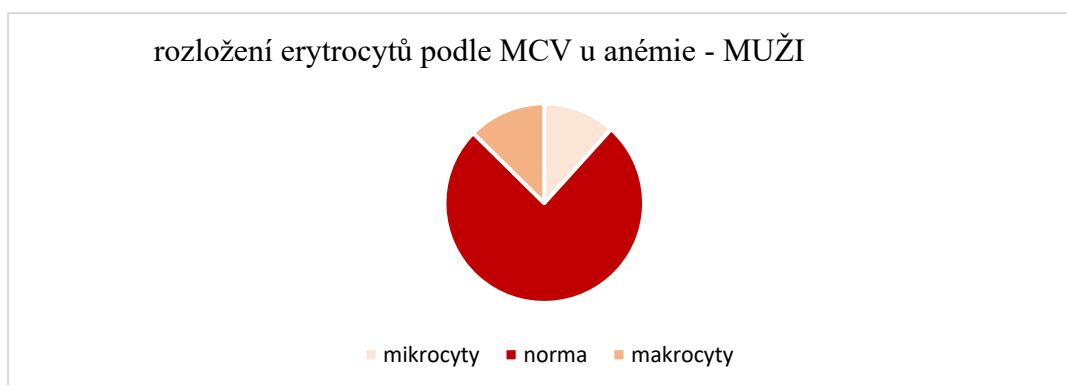


Obrázek č. 6: Rozložení erytrocytů podle hodnoty MCV u anemických pacientů-ženy, zdroj: vlastní výzkum

Tabulka 6: Posouzení typu anémie podle MCV u mužů (n=299)

HGB	MCV		
	mikrocyty	norma	makrocyty
nízký	12 %	76 %	13 %
norma	3 %	92 %	5 %

Zdroj: vlastní výzkum



Obrázek č. 7: rozložení erytrocytů podle hodnoty MCV u anemických pacientů-muži, zdroj: vlastní výzkum

4.2 *Chí kvadrát test*

Dále byl proveden chí kvadrát test pomocí vzorce CHITEST v programu Excel, který testuje podobnost reálných a očekávaných četností. Po převedení výsledků na procenta bylo možno testovat alternativní hypotézy a díky tomu zjistit, zda existuje souvislost mezi pozorovanými a očekávanými četnostmi.

Tabulka 7: Výsledky chí kvadrát testu

	Anizocytóza X věk	Anizocytóza X pohlaví	Anizocytóza X anémie
Stupeň volnosti	$p < 0,1 \%$	$p < 5 \%$	$p < 0,1 \%$

Zdroj: vlastní výzkum

U všech testovaných hypotéz je zamítnuta nulová hypotéza, a tedy existuje souvislost mezi anizocytózou a pohlavím, věkem a anémií, protože hladina významnosti (p) je $< 5 \%$ a přijímá se alternativní hypotéza. Při testování výskytu anizocytózy byl použit chí kvadrát test na určení souvislosti mezi pozorovanými a očekávanými četnostmi. V tabulce výsledky chí kvadrát testu (tab. 7) jsou hodnoty (p) všech sledovaných hypotéz.

V souvislosti anizocytózy s věkem vyšla hladina významnosti (p) $< 0,1 \%$ a tedy $< 5 \%$, proto se přijímá alternativní hypotéza: „Existuje souvislost mezi anizocytózou erytrocytů a věkem“. V tabulce 2 můžeme vidět, že rozdíl výskytu anizocytózy u žen a u mužů nebyl tak výrazný jako u věku. To potvrzuje hladina významnosti z tabulky 7, která vyšla $< 5 \%$. Tato hodnota je na hranici zamítnutí či přijetí alternativní hypotézy. Statisticky pak může

i nemusí být souvislost mezi anizocytózou a pohlavím. Nakonec byl použit u testování souvislosti anizocytózy s anémií. Hladina významnosti je $<0,1\%$ a tedy $<5\%$, proto se přijímá alternativní hypotéza: „Existuje souvislost mezi anizocytózou erytrocytů a anémií“

4.3 Analýza rozptylu

Dále byla provedena analýza rozptylu v programu EXCEL. Tato metoda je založena na hodnocení vztahů mezi rozptyly porovnávaných výběrových souborů. Byla použita jednofaktorová analýza rozptylu (analýza rozptylu jednoduchého třídění), kdy analyzujeme účinek jednoho faktoru na zkoumanou závisle proměnnou. V tomto případě na určení vztahu mezi RDW a HGB (tab. 8).

Tabulka 8: Závislost RDW na HGB

Rozptyl	SS	DF	MS	F	p
Regresivní	384	1	384,1	137,4	0,1 %
Reziduální	1487	532	2,796		
Celkem	1872	533			

Zdroj: vlastní výzkum

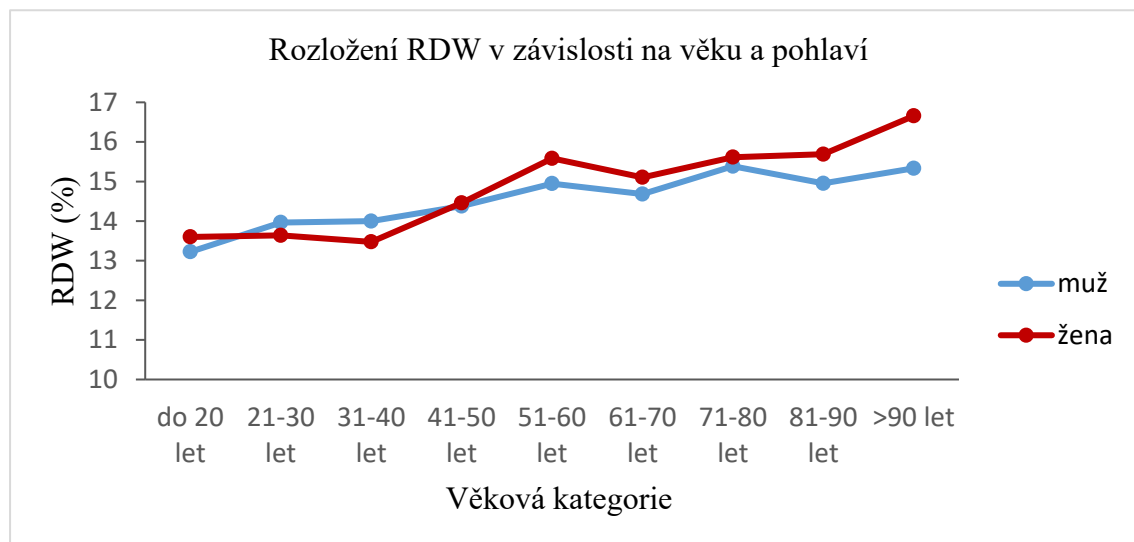
SS	součet čtverců
DF	stupně volnosti
MS	průměrný čtverec
F	Fisherův poměr
p	dosažená hladina významnosti

Z tabulky souvislosti anémie a anizocytózy (tab. 4) je zřejmé, že hodnoty RDW skutečně závisí na hodnotách HGB. Tento vztah je negativní, jelikož směrnice přímky je záporné číslo (-0,0438). Negativní vztah mezi těmito hodnotami znamená, že pokud se zvýší množství hemoglobinu, sníží se hodnota RDW, a naopak čím menší je hodnota HGB, tím vyšší je hodnota RDW. Negativní vztah mezi hodnotami RDW a HGB nám potvrzuje i chí kvadrát test (tab. 7), který vyšel $p < 0,1\%$.

Tento výsledek nám potvrzují i výsledky z grafů (obr. 4 a obr. 5), kde je znázorněn tento negativní vztah u žen a u mužů. Výsledek je hodnocen bez závislosti na pohlaví, jelikož v grafu výskytu anizocytózy v závislosti na pohlaví (obr.1) je statisticky nehodnotitelný rozdíl mezi ženami a muži. Výsledek je tedy pro celý soubor dat.

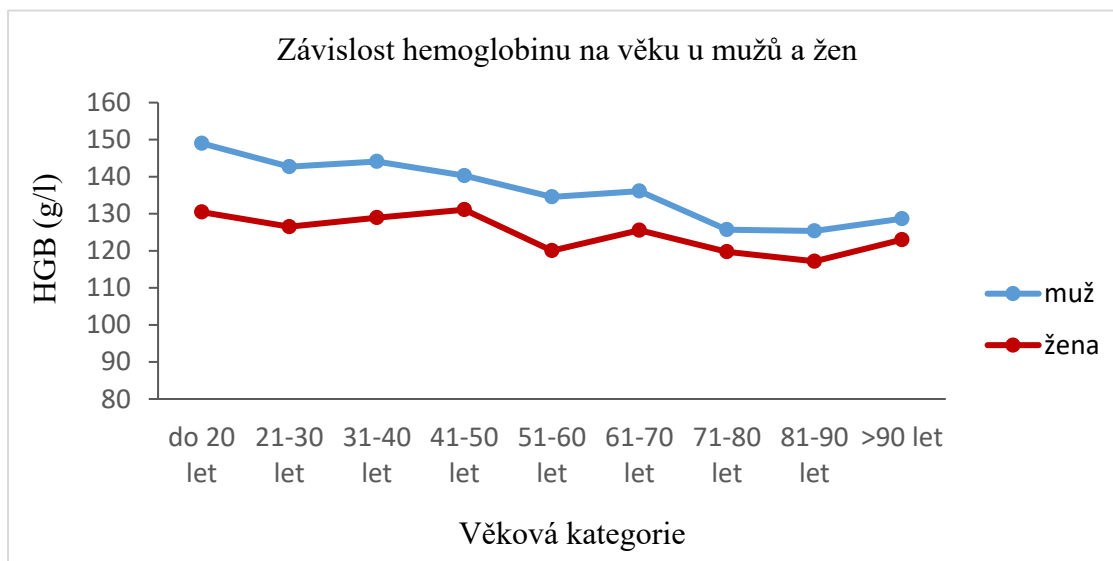
4.4 Hodnota RDW a HGB v závislosti na věku u mužů a žen

Ke sloučení výsledků byly použity grafy. Graf rozložení RDW v závislosti na věku a pohlaví (obr. 8) zobrazuje hodnoty RDW u mužů a žen rozdělené do věkových kategorií po deseti letech. Stejně jako z grafu výskytu anizocytózy v závislosti na věku i zde vidíme, že hodnota RDW se postupně zvyšuje s věkem, zatímco u pohlaví není statistický rozdíl, jak již bylo uvedeno výše.



Obrázek č. 8: Rozložení RDW v závislosti na věku a pohlaví, zdroj: vlastní výzkum

Graf závislosti hemoglobinu na věku a pohlaví (obr. 9) zobrazuje hodnoty hemoglobinu v závislosti na věku u mužů a žen. Oproti předchozímu grafu (obr. 8) se zde hodnoty HGB s vyšším věkem snižují. Je zde vidět i rozdíl hodnot HGB u mužů a žen, kdy muži mají fyziologicky vyšší hodnoty hemoglobinu než ženy.



Obrázek č. 9: Závislost hemoglobinu na věku u mužů a žen, zdroj: vlastní výzkum

5 Diskuse

Podle Favi (2019) distribuční šíře erytrocytů (RDW) odráží distribuci velikostí erytrocytů, což představuje spolehlivý index anizocytózy. Rutinně je hodnocená jako součást kompletního krevního obrazu a kvantifikuje rozdíly ve velikosti erytrocytů. Aby mohla být diagnostikována anizocytóza, musí být proveden správný odběr, transport a pacient nesmí být po úrazu nebo operaci, protože podle Maye (2019) může být RDW také vysoké po nedávném krvácení nebo způsobeno rychlou hemolýzou. Akutní pokles hemoglobinu má za následek zvýšenou produkci retikulocytů, které jsou větší než zralé erytrocyty, a mohly by tak zkreslit výsledek, který by tím pádem byl vyhodnocen jako falešně pozitivní.

V pozorovaném souboru bylo hodnoceno rozložení anizocytózy. Statisticky bylo zhodnoceno, zda se v tomto souboru nachází převaha vzorků s anizocytou nad vzorky s RDW v referenčním rozmezím. Anizocytóza se v tomto souboru vyskytla u 173 pacientů, zbytek pacientů (361) měl erytrocyty s distribuční šíří erytrocytů v referenčním rozmezí.

Soubor byl dále zhodnocen z hlediska souvislosti anizocytózy s věkem. Vyšší RDW se vyskytuje více u starších osob (36 %), to říká i Lippi (2014) a Hoffmann (2015), který zároveň našel souvislost věku a s věkem se zvyšujícím MCV. Kim (2020) tvrdí, že RDW předpovídá mnoho nemocí a úmrtnost související se stárnutím.

Dalším sledovaným parametrem byla souvislost pohlaví a výskytu anizocytózy. V pozorovaném souboru dat se anizocytóza vyskytovala více u žen (37 %) než u mužů (29 %). Zalawadiaya (2012) ale tvrdí, že muži mají výrazně vyšší RDW ve srovnání se ženami, a to je spojeno i s vyšší úmrtností u mužů než u žen. I Lippi (2014) říká, že ženy mají v průměru hodnoty nižší než muži.

Podle Salvagna (2014) je distribuční šířka červených krvinek (RDW) jednoduchý a levný parametr, který odráží stupeň heterogenity objemu erytrocytů (anizocytózy) a tradičně se používá v laboratorní hematologii pro diferenciální diagnostiku anémií. To potvrdil i Buttarelo (2016), který napsal, že parametry červených krvinek a indexy retikulocytů hrají zásadní roli v diferenciální diagnostice anémie i při její léčbě. Na základě těchto tvrzení se tato práce věnovala i souvislosti mezi anémií a anizocytózou a bylo zjištěno, že pacienti ve vyšetřovaném souboru, kteří mají anémii, mají ve většině případů i patologické hodnoty RDW.

Badrick (2015) ve své studii zmínil, že parametr RDW je ukazatelem anémie z nedostatku železa, který může napomáhat v diferenciální diagnostice jiných anémií. Tato studie potvrzuje užitečnost RDW jako markeru pro včasnou detekci anémie a pro zrychlenou diagnostiku etiologie anémie. Podle Mahmoodpoor (2020) se jedná o nejspolehlivější a nejlevnější metodu pro diferenciaci mezi anémií z nedostatku železa a talasémií.

I May (2019) napsal, že RDW může rozlišovat mezi příčinami anémie. Vysoké RDW se často vyskytuje u nutričních nedostatků železa, vitamínu B a kyseliny listové, naznačuje tedy anémii z nedostatku železa, zatímco normální RDW naznačuje talasémii. I Ulrich (2020) vyslovil názor, že zvýšené hodnoty RDW mohou signalizovat časná stadium nedostatku železa nebo anémii z nedostatku železa.

Na základě těchto informací můžeme předpokládat, že 32 % pacientů ve zkoumaném souboru, kteří měli nízké hodnoty hemoglobinu, a tedy anémii, ale neměli zvýšené RDW, by mohlo trpět talasémií. U zbylých 68 % pacientů s nízkými hodnotami hemoglobinu a zároveň anizocytózou, tedy vyšším RDW, by se mohla vyskytovat anémie z nedostatku železa. Sgnaolin (2013) ve své studii popsal, že pacienti, kteří mají anémii, mají často zvýšené hodnoty RDW a tedy anizocytózu, na rozdíl od neanemických pacientů. To se potvrdilo i v této studii.

Grafy (obr. 4 a obr. 5), které jsou zahrnuty do výsledků, znázorňují hodnoty hemoglobinu a distribuční šíře erytrocytů u mužů a žen. Na první pohled je jasné, že hodnoty hemoglobinu jsou nižší u žen. To říká i Li (2021), který ve své studii napsal, že koncentrace hemoglobinu se liší podle pohlaví a že nižší hladiny hemoglobinu mají ženy ve srovnání s muži. Tyto výsledky potvrdil Su (2023).

V práci byla posouzena anémie podle MCV u mužů a žen. U obou pohlaví se nejvíce vyskytovala normocytární anémie. Při pohledu na mikrocyty a makrocyty se u žen vyskytovaly spíše mikrocyty, a tedy snížené MCV. To popsal i Alsagaba (2022) ve své studii, kde sledoval podíl makrocytární anémie a mikrocytární anémie. Bylo zjištěno, že mikrocytární anémie je častější u žen ve srovnání s muži.

Graf (obr. 11) zobrazuje závislost hemoglobinu na věku u mužů a žen. Je zřejmé, že s vyšším věkem hladina hemoglobinu klesá, což říká i Machálková (2016), která napsala, že se vzrůstajícím věkem postupně klesají hodnoty hematokritu a hemoglobinu a dolní hranice hemoglobinu v séru se posouvá na hodnotu 120 g/l pro obě pohlaví.

6 Závěr

Na začátku byly stanoveny 3 hypotézy, které se ve spolupráci s oddělením Klinické hematologie v Nemocnici České Budějovice a.s. díky dostatečně velkému souboru podařilo splnit.

V souboru dat se nacházelo 534 pacientů. Cílem bylo zjistit celkové rozložení anizocytózy v populaci. Sledovala se souvislost anizocytózy s věkem a pohlavím a hodnotil se výskyt anizocytózy při přítomnosti jiného onemocnění.

Celkově se v souboru nacházelo více vzorků s erytrocyty s RDW v referenčních mezích (68 %) oproti anizocytárním erytrocytům (32 %). Soubor byl dále zhodnocen podle pohlaví a věku. Anizocytóza se vyskytovala spíše u starších pacientů (36 %), zatímco u mladších bylo anizocytárních vzorků méně (10 %). V rámci skupin rozdělených podle pohlaví se spíše vyskytovala u žen (37 %), ale není zde pozorován tak velký rozdíl jako u věku, protože u mužů se vyskytovala anizocytóza skoro ve stejné míře jako u žen (29 %).

Zda existuje souvislost anizocytózy s věkem a pohlavím se statisticky testovalo pomocí chí kvadrát testu. V případě sledování hladiny významnosti u věku vyšla hodnota $p < 0,1$ %, a tím pádem byla přijata alternativní hypotéza a potvrzena souvislost mezi anizocytózou a věkem. U pohlaví vyšla hladina významnosti $p < 5$ %. Tato hladina není dost silná, abychom mohli říct, že anizocytóza má souvislost s pohlavím. Statisticky tedy může i nemusí být souvislost mezi anizocytózou a pohlavím.

Na základě ostatních výsledků krevního obrazu se potvrdilo, že s anizocytózou úzce souvisí anémie. Tato skutečnost se testovala pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu, kdy směrnice vyšla záporná (-0,0438) a potvrdila tak negativní vztah mezi hodnotou RDW a HGB. Negativní vztah mezi těmito hodnotami znamená, že pokud se zvýší množství hemoglobinu, sníží se hodnota RDW, a naopak. Tento negativní vztah byl potvrzen i chí kvadrát testem, kdy hladina významnosti vyšla $p < 0,1$ %, čímž se přijala alternativní hypotéza, která říká, že existuje souvislost mezi anizocytózou erytrocytů a anémií.

Na základě hodnot MCV se pak u anemických pacientů hodnotil typ anémie. Bylo zjištěno, že u pacientů vykazujících známky anémie (hladina hemoglobinu po 110 g/l), se nejvíce vyskytovala normocytární anémie – ženy (73 %), muži (76 %).

Výsledky této bakalářské práce mohou pak v praxi sloužit k lepšímu sledování pacientů. RDW má smysl sledovat u starších osob, nehledě na to, zda se jedná o muže či ženy, protože výskyt vyšších hodnot RDW je u mužů a žen dost podobný. Distribuční šíře erytrocytů může poskytnout pohled na podstatu anémie a rozlišit například anémii z nedostatku železa od talasémie.

7 Seznam použité literatury

1. ALSAGABY, S.A., 2022. *A comprehensive study on abnormalities associated with red blood cells in Saudi adult patients*. Int J Health Sci.,16(1),30-36[cit.2023-4-7]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8721215/>
2. BADRICK, T., RICHARDSON, A.M., ARNOTT, A., LIDBURY, B.A., 2015. *The early detection of anaemia and aetiology prediction through the modelling of red cell distribution width (RDW) in cross-sectional community patient data*. *Diagnosis*. 2(3), 171–179. DOI: 10.1515/dx-2015-0010.
3. BETTS, G., YOUNG, K., WISE, J., 2013. *The Cardiovascular System: Blood*. In: *Anatomy and Physiology* [online]. Houston, Texas, s. 1381 [cit. 2022-12-1]. Dostupné z: <https://openstax.org/books/anatomy-and-physiology/pages/18-1-an-overview-of-blood>
4. BUTTARELLO, M., 2016. *Laboratory diagnosis of anemia: are the old and new red cell parameters useful in classification and treatment, how?*. *International Journal of Laboratory Hematology*. 38, 123–132. DOI: 10.1111/ijlh.12500.
5. CAPPELLINI, M. D., MUSALLAM, K. M., TAHER, A. T., 2020. *Iron deficiency anaemia revisited*. *Journal of Internal Medicine*. 287, 153–170. DOI: 10.1111/joim.13004.
6. DIEZ-SILVA, M., DAO, M., HAN, J., LIM, C.-T., SURESH, S., 2010. *Shape and Biomechanical Characteristics of Human Red Blood Cells in Health and Disease*. *MRS Bulletin*. 35(5), 382–388. DOI: 10.1557/mrs2010.571.
7. DOAN, T.D., MELVOLD, R., VISELLI, S., VALTENBAUGH, C., 2012. *Immunology*. Lippincott's Illustrated Reviews. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 384 s. ISBN 978-1-4511-0937-5.
8. DOBROTOVÁ, M., KUBISZ, P., 2006. *Hematológia a transfuziologie: učebnica*. Praha: Grada Publishing, 324 s. ISBN 80-809-0000-0.
9. DYLEVSKÝ, I., 2011. *Základy funkční anatomie*. Olomouc: Poznání, 336 s. ISBN 978-80-87419-06-9.
10. FAVA, C. et al., 2019. *The role of red blood cell distribution width (RDW) in cardiovascular risk assessment: useful or hype?* *Annals of Translational Medicine*. 7(20), 581–581. DOI: 10.21037/atm.2019.09.58.
11. FONTANA, J., 2015. *Funkce buněk a lidského těla – multimediální skripta pro výuku lékařské biochemie, fyziologie a histologie člověka. Laboratorna diagnostika. 15. Vedecko-pedagogická konferencia učiteľov biochemických odborov lekárskech fakúlt v SR A ČR: 21. - 23. mája 2015: prednášky, abstrakty, in extenso články: časopis pre pracovníkov diagnostických laboratórií*. Bratislava: Slovenská spoločnosť klinickej biochémie, 20(1), 39–40. ISSN 1335-2644.
12. GALANELLO, R., ORIGA, R., 2010. *Beta-thalassemia*. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 5, 11. DOI: 10.1186/1750-1172-5-11.

13. HAFERLACH, T., 2014. *Kapesní atlas hematologie: překlad 6., přepracovaného vydání*. Praha: Grada, 230 s. ISBN 978-80-247-4787-3.
14. HOFFBRAND, V., HIGGS, D., KEELING, D., MEHTA, A., 2016. *Postgraduate Haematology*. 7th ed. 952 s. [cit. 2022-12-1]. ISBN 978-1-118-85432-7.
15. HOFFMANN, J.J.M.L., NABBE, K.C.A.M., VAN DEN BROEK, N.M.A., 2015. *Effect of age and gender on reference intervals of red blood cell distribution width (RDW) and mean red cell volume (MCV)*. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*.53(12) [cit. 2023-1-18]. DOI: 10.1515/cclm-2015-0155. ISSN 1437-4331.
16. JOHNSON, J., 2021. *What to know about red blood cell disorders*. [online]. *MedicalNewsToday*. 9. 11. 2021 [cit.2022-9-21]. Dostupné z: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/red-blood-cell-disorders-types-causes-and-symptoms>
17. KAI, Y. et al., 2021. *Red blood cell distribution width-standard deviation but not red blood cell distribution width-coefficient of variation as a potential index for the diagnosis of iron-deficiency anemia in mid-pregnancy women*. *Open Life Sciences*. 16(1), 1213–1218. DOI: 10.1515/biol-2021-0120.
18. KAJEROVÁ, V., RYBÁŘ, J., SKŘIVAN, P., 2006. *Atlas hematologie zvířat* [online]. Hradec Králové: Střední odborná škola veterinární, 2006 [cit. 2022-9-25]. Dostupné z: https://www.sosvet.cz/projekty/2006_hematologie/hematologie.pdf
19. KARAN, A., 2015. *Morphological Abnormalities of Red Blood Cells*. [online]. *The art of medicine*. [cit. 2022-12-1]. Dostupné z: <https://theartofmed.wordpress.com/2015/09/05/morphological-abnormalities-of-red-blood-cells/>
20. KARNER, K., 2017. Megaloblastic anemia. In: FOUCAR, K. (ed). *Diagnostic Pathology: Blood and Bone Marrow*. 2nd ed. Salt Lake City: Elsevier Books, s. 66–73. ISBN 978-0-323-39254-9.
21. KARNER, K., 2017. Thalasemia. In: FOUCAR, K. (ed). *Diagnostic Pathology: Blood and Bone Marrow*. Second edition. Salt Lake City: Elsevier Books, s. 110–115. ISBN 978-0-323-39254-9.
22. KRAUSE, L., 2018. *Blood Smear: Purpose, Procedure, and Results*. [online]. *Healthline*. 29. 9. 2018 [cit. 2022-9-25]. Dostupné z: <https://www.healthline.com/health/blood-smear>
23. KUST, D. et al., 2017. *Clinical and prognostic significance of anisocytosis measured as a red cell distribution width in patients with colorectal cancer*. *QJM: An International Journal of Medicine*. 110(6), 361–367. DOI: 10.1093/qjmed/hcw223.
24. LI, Q., CHEN, X., HAN, B., 2021. *Effect Modification by Sex of the Hemoglobin Concentration on Frailty Risk in Hospitalized Older Patients*. *Clinical Interventions in Aging*. 16, 687–696. DOI: 10.2147/CIA.S298672.

25. LIPPI, G., PAVESI, F., BARDI, M., PIPITONE, S., 2014. *Lack of harmonization of red blood cell distribution width (RDW). Evaluation of four hematological analyzers.* Clinical Biochemistry. 47(12), 1100–1103. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2014.06.003.
26. LIPPI, G., PLEBANI, M., 2014. *Red blood cell distribution width (RDW) and human pathology. One size fits all.* Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. 52(9), 1247–1249. DOI: 10.1515/cclm-2014-0585.
27. LIPPI, G., SALVAGNO, G.L., GUIDI, G.C., 2014. *Red blood cell distribution width is significantly associated with aging and gender.* Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM). DOI: 10.1515/cclm-2014-0353.
28. LIPPI, G., TURCATO, G., CERVELLIN, G., SANCHIS-GOMAR, F., 2018. *Red blood cell distribution width in heart failure: A narrative review.* World Journal of Cardiology. 10(2) DOI: 10.4330/wjc.v10.i2.6.
29. LOKWANI, D.P., 2013. *ABC of CBC: The Interpretation of Complete Blood Count and Histograms.* New Delhi: Jp Medical publishers, 178 s. ISBN 978-93-5025-788-3.
30. LUKÁŠ, K., KAUTZNER, J., HOCH, J., 2022. *Bolest na hrudi.* Praha: Grada Publishing. ISBN 978-80-271-3099-3.
31. MADU, A.J., UGHASORO, M.D., 2017. *Anaemia of Chronic Disease: An In-Depth Review.* Medical Principles and Practice 26(1), 1-9. DOI: 10.1159/000452104.
32. MAHMOODPOOR, A. et al., 2020. *Red Cell Distribution Width as a Novel Prognostic Marker in Multiple Clinical Studies.* Indian Journal of Critical Care Medicine 24(1), 49-54 DOI: 10.5005/jp-journals-10071-23328
33. MACHÁLKOVÁ, L., 2016. *Kapitoly z ošetrovatelské péče v hematologii.* Křížkovského 8, 771 47 Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci ISBN 978-80-244-5083-4.
34. MAY, J.E., MARQUES, M.B., REDDY, V.V.B., GANGARAJU, R., 2019. *Three neglected numbers in the CBC: The RDW, MPV, and NRBC count.* Cleveland Clinic Journal of Medicine 86(3), 167-172 DOI: 10.3949/ccjm.86 a.18072.
35. MOORE, C., ABDULLAH, A., 2022. *Macrocytic anemia.* [online]. PubMed. StatPearls publishing, 2022 [cit. 2022-9-21]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29083571/>
36. NALL, R., 2020. *White blood cells: Function, ranges, types, and more.* [online]. MedicalNewsToday. 9.1.2020 [cit. 2022-9-21]. Dostupné z: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/327446?>
37. NAVRÁTIL, L. et al., 2017. *Vnitřní lékařství pro nelékařské zdravotnické obory.* Praha: Grada Publishing. 560 s. ISBN 978-80-271-9182-6.
38. PECKA, M., 2006. *Laboratorní hematologie v přehledu: Fyziologie a patofyziologie krevní buňky.* Český Těšín: FINIDR, 304 s. ISBN 80-86682-00-5

39. PENKA, M. et al., 2009. *Neonkologická hematologie*. Praha: Grada Publishing. 248 s. ISBN 978-80-247-2299-3.
40. PENKA, M., 2001. *Hematologie*. Praha: Grada Publishing, 214 s. ISBN 80-247-0023-9.
41. PENKA, M., ed., 2011. Hematologie. In: SOUČEK, M., ŠPINAR, J., VORLÍČEK, J. *Vnitřní lékařství*. Vyd.1. Praha: Grada Publishing, 850 s. ISBN 978-80-247-2110-1.
42. PENKA, M., TESAŘOVÁ, E., 2011. *Hematologie a transfuzní lékařství*. Praha: Grada Publishing, 192 s. ISBN 978-80-247-3459-0.
43. ROKYTA, R., 2015. *Fyziologie a patologická fyziologie: pro klinickou praxi*. Praha: Grada Publishing. ISBN 978-80-247-4867-2.
44. SALVAGNO, G.L., SANCHIS-GOMAR, F., PICANZA, A., LIPPI, G., 2014. *Red blood cell distribution width: A simple parameter with multiple clinical applications*. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* 52(2), 86-105 DOI: 10.3109/10408363.2014.992064.
45. SEYMOUR, T., 2017. *Anisocytosis: Causes, symptoms, diagnosis* [online].[cit. 2022-8-24]. Dostupné z: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/319852>
46. SCHALLER, J. et al.,2008. *Human Blood Plasma Proteins* Wiley, 538 s. DOI: 10.1002/9780470724378.
47. SU, F. et al., 2023. *Age and sex trend differences in hemoglobin levels in China: a cross-sectional study*. *BMC Endocrine Disorders* 23(1) DOI: 10.1186/s12902-022-01218-w.
48. VYDRA, J, NOVÁK, J., LAUERMANNOVÁ, M., 2019. *Hematologie v kostce*. 2., přeprac. a dopl. vyd. Praha: Mladá fronta, 400 s. Aeskulap. ISBN 978-80-204-5140-8.
49. ZALAWADIYA, S.K. et al.,2012. *Gender and Ethnic Differences in Red Cell Distribution Width and Its Association With Mortality Among Low Risk Healthy United State Adults*. *The American Journal of Cardiology* 109(11), 1664-1670 DOI: 10.1016/j.amjcard.2012.01.396.
50. ZHANG, Q.-Y., 2017. Iron deficiency anemia. In: FOUCAR, K., ed., *Diagnostic Pathology: Blood and Bone Marrow*. 2nd ed. Salt Lake City: Elsevier Books, s. 46-49. ISBN 978-0-323-39254-9.

8 Seznam tabulek

Tabulka 1 – Zastoupení erytrocytů s RDW v referenčních mezích X anizocytárních vzorků

Tabulka 2 – Výskyt anizocytózy v závislosti na pohlaví

Tabulka 3 – Výskyt anizocytózy v závislosti na věku

Tabulka 4 – Souvislost anémie s anizocytózou

Tabulka 5 – Posouzení typu anémie podle MCV u žen

Tabulka 6 – Posouzení typu anémie podle MCV u mužů

Tabulka 7 – Výsledky chí kvadrát testu

Tabulka 8 – Závislost RDW na HGB

9 Seznam obrázků a příloh

9.1 Seznam obrázků

Obrázek č. 1 – Výskyt anizocytózy v závislosti na pohlaví

Obrázek č. 2 – Výskyt anizocytózy v závislosti na věku

Obrázek č. 3 – Souvislost anémie a anizocytózy

Obrázek č. 4 – Závislost RDW na HGB u žen

Obrázek č. 5 – Závislost RDW na HGB u mužů

Obrázek č. 6 – Rozložení erytrocytů podle hodnoty MCV u anemických pacientů – ženy

Obrázek č. 7 – Rozložení erytrocytů podle hodnoty MCV u anemických pacientů – muži

Obrázek č. 8 – Rozložení RDW v závislosti na věku a pohlaví

Obrázek č. 9 – Závislost hemoglobinu na věku u mužů a žen

Obrázek č. 10 – Hematologický analyzátor UniCel® DxH 800 Beckman Coulter

Obrázek č. 11 – Kazeta se vzorky a vstupní zásobník

9.2 Seznam příloh

Příloha č. 1 – Hematologický analyzátor

10 Přílohy

10.1 Příloha č. 1 – Hematologický analyzátor

Obrázek č. 10 – Hematologický analyzátor UniCel® DxH 800 Beckman Coulter



Obrázek č. 11 – Kazeta se vzorky a vstupní zásobník



11 Seznam zkratek

ATP	Adenosintrifosfát
CBC	Kompletní krevní obraz
CO ₂	Oxid uhličitý
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
EDTA	Etylendiamintetraoctová kyselina
fL	Femtolitr
HbA ₂	Hemoglobin adultního typu 2
HbF	Fetální hemoglobin
HCT	Hematokrit
HGB	Hemoglobin
K ₂ EDTA	Di-draselná sůl kyseliny etylendiamintetraoctové
K ₃ EDTA	Tri-draselná sůl kyseliny etylendiamintetraoctové
LIS	Laboratorní informační systém
MCV	Střední objem erytrocytů
MCH	Střední množství hemoglobinu v erytrocytu
MCHC	Střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytech
MDS	Myelodysplastický syndrom
Na ₂ EDTA	Di-sodná sůl kyseliny etylendiamintetraoctové
NK buňky	Přirození zabíječi
O ₂	Kyslík
PLT	Trombocyty
PMN	Polymorfonukleáry

RBC	Erytrocyty
RDW	Šíře distribuce erytrocytů
RDW-CV	Variační koeficient RDW
RDW-SD	Směrodatná odchylka RDW
SD	Směrodatná odchylka
WBC	Leukocyty