



Zdravotně  
sociální fakulta  
Faculty of Health  
and Social Sciences

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

## **Mikrocytární anemie, průzkum jejich výskytu a pacientů s hraničními hodnotami pro toto onemocnění**

# **BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

Studijní program: [Specializace ve zdravotnictví](#)

**Autor:** Kateřina Hajduchová

**Vedoucí práce:** Ing. Tomáš Nix, Ph.D.

České Budějovice 2022

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem „Mikrocytární anemie, průzkum jejich výskytu a pacientů s hraničními hodnotami pro toto onemocnění“ jsem vypracovala 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 ustanovení zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby bakalářské práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 3.5.2022

.....

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala panu Ing. Tomáši Nixovi, Ph.D., za podporu a pomoc při psaní této práce. Dále bych chtěla poděkovat za konzultace a odborné rady paní Bc. Janě Hajduchové. Za poskytnutí odborné praxe děkuji paní Ing. Monice Malcové a Nemocnici Hořovice a.s. A nakonec bych chtěla poděkovat svému partnerovi a rodině za jejich podporu.

# **Mikrocytární anemie, průzkum jejich výskytu a pacientů s hraničními hodnotami pro toto onemocnění**

## **Abstrakt**

Práce je z teoretického hlediska zaměřena na anemie jako takové a rozbor mikrocytárních anemií a jejich mechanismů. Anemie je nejčastější krevní poruchou na světě, potýká se s ní až 30 % populace v rozvinutých i rozvojových zemích. Teoretická část týkající se mikrocytárních anemií se zabývá třemi nejčastějšími typy mikrocytárních anemií, tedy sideropenickou anemií, anemií chronických chorob a talasémií. Sideropenická anemie, tj. anemie z nedostatku železa, je z těchto onemocnění nejčastější a ve světě nejrozšířenější. Anemie chronických chorob se vyskytuje u pacientů s těžkou primární chorobou. Tato anemie je tedy pouze sekundárním onemocněním. Talasémie je z těchto nemocí nejvzácnější a jedná se o genetickou poruchu stavby hemoglobinu. Teoretická část dále obsahuje část věnovanou metabolismu železa a kapitolu týkající se hemoglobinu. Praktická část byla vypracována na pracovišti laboratoře hematologie Nemocnice Hořovice a.s. za použití analyzátoru Allinity hq společnosti Abbott. Vedle klasického zpracování vzorků na analyzátoru byly vytvořeny i krevní nátěry pro posouzení rozdílu mezi zdravým jedincem a jedincem s patologickými změnami erytrocytů. Vzorků bylo zpracováno 271, z nichž 31 % vykazovalo známky anemie. Tyto vzorky pocházely převážně od žen, takřka 65 %. Nejvíce zastoupeným typem anemie, z hlediska MCV byly normocytární anemie. Mikrocytární anemie byly prokazatelné takřka u pětiny anemických vzorků. U vzorků u kterých byla prokázána mikrocytární anemie, byla převaha hypochromních probandů. Hodnoty krevních obrazů byly doplněny o hodnoty železa, transferinu a feritinu z laboratoře biochemie. Počet těchto vzorků však bohužel nebyl dostatečný pro další diagnostické hodnocení.

**Klíčová slova:** Anemie; Mikrocytární anemie; Sideropenická anemie; Anemie chronických chorob; Hemoglobin; Talasémie; Železo; Transferin; Feritin

# **Microcytic anemia, a survey of the prevalence of these diseases and of the patients with limit values for these diseases**

## **Abstract**

This bachelor thesis is focused on anemia and the theoretical and practical analysis of microcytic anemias and their mechanisms. Anemia is the most widespread blood disorder. This disease affects nearly 30 % of the whole world. The theoretical part concerning microcytic anemias further analyzes three most typical microcytic disorders, iron deficiency anemia, anemia of chronic disease and thalassemia. Iron deficiency anemia is the most common, from these anemias and in the whole world. Anemias of chronic disease are detected in patients with a serious primary illness, in other words this anemia is a secondary illness. Thalassemia is not as widespread and it is less detected in patients. It is an genetical disorder of the structural composition of hemoglobin. The theoretical part also includes a section on iron metabolism and a chapter on haemoglobin. The practical part was prepared at the haematology laboratory of the Hořovice Hospital using the Allinity hq blood analyser from Abbott. In addition to the classical processing of samples on the analyzer, blood smears were created to assess the difference between a healthy individual and an individual with pathological erythrocyte changes. The number of analyzed samples was 271 and from that 31 % of the samples showed signs of anemia. These samples were predominantly from women, almost 65 %. The most represented type of anaemia, in terms of MCV, was normocytic anaemia. Microcytic anemias were evident in almost one-fifth of the anemic samples. There was a preponderance of hypochromic probands in the samples in which microcytic anemia was demonstrated. The blood smear values were supplemented with iron, transferrin and ferritin values from the biochemistry laboratory. Unfortunately, the number of these samples was not sufficient for further diagnostic evaluation.

**Key words:** Anemia; microcytic anemia; Iron deficiency anemia; Anemia of chronic disease; Hemoglobin; Thalassemia; Iron; Transferin; Feritin

## Obsah

Úvod.....	8
1 Anemie.....	9
1.1 Definice.....	9
1.2 Morfologické dělení anemií.....	10
1.3 Etiopatogenetické dělení anemií.....	10
2 Mikrocytární anemie.....	11
3 Metabolismus železa.....	12
3.1 Biologický význam železa.....	12
3.2 Metabolismus železa.....	13
3.3 Toxicita železa.....	13
4 Sideropenická anemie.....	14
4.1 Definice.....	14
4.2 Etiopatogeneze.....	14
4.3 Diagnostika.....	15
4.4 Klinické příznaky.....	15
5 Anemie chronických onemocnění.....	15
5.1 Definice.....	15
5.2 Etiopatogeneze.....	16
5.3 Diagnostika.....	16
6 Hemoglobin.....	16
6.1 Biologická funkce.....	16
6.2 Syntéza.....	17
6.3 Struktura.....	17

7	Talasémie.....	18
7.1	<i>Definice</i> .....	18
7.2	<i>α-talasémie</i> .....	18
7.3	<i>β-talasémie</i> .....	19
7.4	<i>Thalasemia maior</i> .....	20
7.5	<i>Thalasemia intermedia</i> .....	20
7.6	<i>Thalasemia minor</i> .....	21
8	Metody měření parametrů krevního obrazu.....	21
8.1	<i>Absorpční spektrofotometrie</i> .....	21
8.2	<i>Impedanční metoda měření krevních elementů</i> .....	21
8.3	<i>Průtoková cytometrie</i> .....	22
9	Metodika.....	23
9.1	<i>Charakteristika dat</i> .....	23
9.2	<i>Příjem materiálu</i> .....	23
9.3	<i>Parametry krevního obrazu</i> .....	24
9.4	<i>Obsluha analyzátoru krevního obrazu Abbott Allinity hq</i> .....	24
9.5	<i>Mikroskopické stanovení krevního obrazu</i> .....	27
9.6	<i>Stanovení železa</i> .....	29
9.7	<i>Stanovení feritinu</i> .....	29
10	Výsledky.....	30
11	Diskuze.....	39
12	Závěr.....	41
	Seznam použitých zdrojů.....	42
	Seznam zkratk.....	46

## Úvod

Anemie jsou jednou z nejrozšířenějších chorob krve. Anemie lze rozlišovat etiopatogeneticky, tj. podle příčiny vzniku, nebo morfologicky, podle hodnot získaných laboratorní diferenciální diagnostikou. V této práci se zaměřujeme na anemie dělené podle MCV, tj. středního objemu erytrocytu. Při morfologickém dělení anemií dle MCV rozlišujeme mikrocytární, makrocytární a normocytární anemii. Tato práce se zabývá problematikou mikrocytárních anemií.

Předkládaná práce se zabývá třemi typy z řady mikrocytárních anemií. Jde o typy, které se nejčastěji vyskytují v lidské populaci. Sideropenická anemie, tj. anemie z nedostatku železa, je choroba, která je způsobena mnoha vlivy, např. chronickou ztrátou krve nebo nádorovým onemocněním gastrointestinálního traktu. Anemie chronických chorob je definována jako anemie doprovázející jiná různá chronická onemocnění. Talasémie je genetická choroba, která je způsobena narušením či chyběním alel pro syntézu globinových řetězců. Talasémie se rozlišují podle toho, který z globinových řetězců je narušen,  $\alpha$  či  $\beta$ .

Praktická část se zabývá záchytem předpokládaných mikrocytárních anemií v náhodné populaci.



# 1 Anemie

## 1.1 Definice

Anemie je chorobný stav, při kterém dochází ke snížení počtu erytrocytů nebo koncentrace hemoglobinu pod fyziologickou mez (Penka a Slavičková, 2011). K anemiím dochází při narušení rovnováhy mezi ztrátou erytrocytů a produkcí erytrocytů (Dorland's Illustrated Medical Dictionary, 2003). Anemie jsou nejčastějším chorobným stavem ve světě, dle Světové zdravotnické organizace (WHO), především v důsledku nedostatečné výživy a trpí jí takřka 30 % světové populace (Penka a Slavičková, 2011). Anemie zvyšuje morbiditu a mortalitu lidské populace, snižuje produktivitu a poškozují neurologický vývoj (Chaparro a Suchdev, 2019).

U anemií nemusí nutně docházet ke snížení počtu erytrocytů, může dokonce docházet k zvýšení jejich počtu. Klinicky spíše hovoříme o anemickém syndromu. Anemický syndrom je souborem chorobných projevů, které se odvíjí od stupně anemie, rychlosti jejího vzniku a typu anemie (Kubisz et al., 2006). Při anemii jsou klinické příznaky způsobovány hlavně špatným prokrvením tkání a nedostatečným zásobováním kyslíkem. Pokud vzniká anemie a její projevy v organismu pomalu, začne tělo organismu uplatňovat kompenzační mechanismy, které umožní organismu adaptovat se na nižší hodnoty hemoglobinu či na nedostatek erytrocytů. Mezi kompenzační mechanismy patří zvýšení tvorby erytrocytů pomocí zvýšené produkce erythropoetinu, přesunem okysličené krve z tkání, které tolik kyslíku nepotřebují a snížení viskozity krve (Penka et al., 2001).

Klinicky nejdůležitějším parametrem pro identifikaci anemií je hodnota hemoglobinu, která se odvíjí od věku, pohlaví, rasy, nadmořské výšky a celkového zdravotního stavu pacienta. Dolní referenční hodnotou hemoglobinu je 130 g/l krve pro muže a 120 g/l krve pro ženy (Pecka 2006). U žen je prokázáno větší riziko postižení anemií než u mužů, další rizikovou skupinou jsou staří lidé (Chaparro a Suchdev, 2019).

Anemii doprovází mnoho příznaků, které rozlišujeme na všeobecné a specifické. Všeobecné příznaky ovlivňují centrální nervovou soustavu a kardiovaskulární systém, a proto se projevují únavou, dýchavičností, tachykardií a palpitacemi (Kubisz et al., 2006). Negativní dopady anemie lze pozorovat v důsledku nedostatečného přísunu kyslíku do tkání (Chaparro a Suchdev, 2019). Specifické příznaky se odvíjí od typu anemie, např. při sideropenické anemii je častým příznakem padání vlasů a lámavost nehtů. Subjektivní

příznaky může pacient začít pociťovat až po delším klesání hemoglobinu až na hodnotu 60–70 g/l krve (Adam et al., 2007).

### ***1.2 Morfologické dělení anemií***

Anemie lze rozlišovat podle různých hodnot získaných laboratorní diferenciální diagnostikou. Základními diagnostickými hodnotami jsou: MCV – střední objem erytrocytu, MCH – střední obsah hemoglobinu v erytrocytu, MCHC – střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu, RDW – distribuční šíře erytrocytu a RI – retikulární index (Penka a Slavíčková, 2001).

Podle hodnoty MCV rozlišujeme mikrocytární (MCV pod 80 fl), makrocytární (MCV nad 100 fl) a normocytární (MCV mezi 80 až 100 fl) anemii. Z mikrocytárních anemií se nejčastěji vyskytuje sideropenická anemie způsobená nedostatkem železa v organismu. Při diagnostice mikrocytárních anemií je důležité nalezení správné příčiny vzniku, abychom byli schopni rozlišit typy onemocnění (např. sideropenickou anemii od talasémie) a nastavení správné terapie pro pacienta (Seegmiller a Thompson, 2014). Z makrocytárních anemií je nejčastější megaloblastová anemie, která je způsobena nedostatkem vitamínu B12 a kyseliny listové. Normocytární anemie se rozlišuje podle retikulárního indexu (RI), který umožňuje pozorovat aktivitu kostní dřeně. Při normocytárních anemiích dochází ke kompenzačním mechanismům v kostní dřeni, a tak k vyplavování retikulocytů ve vysokém (hyperprodukce) nebo naopak nízkém (hypoprodukce) počtu (Pecka, 2006; Kubisz et al, 2006). Podle hodnot MCH a MCHC rozlišujeme hypochromní anemie, při nichž jsou MCH hodnoty pod 28 pg, a normochromní anemie, při nichž jsou MCH hodnoty mezi 28 až 32 pg. Podle hodnoty RDW pak rozlišujeme anemie, které jsou charakterizované anizocytózou, tj. velikostně heterogenní populací erytrocytů, nebo anemie, pro které je charakteristická homogenní populace erytrocytů (Pecka, 2006).

### ***1.3 Etiopatogenetické dělení anemií***

Tato klasifikace se oproti morfologické klasifikaci zabývá příčinou a vznikem anemie. Rozlišujeme tedy anemii z nedostatečné tvorby erytrocytů (z nedostatečné erythropoézy), anemii z akutní a chronické ztráty krve (posthemoragické onemocnění), anemii ze zvýšené destrukce erytrocytů (hemolytická onemocnění) a anemii z kombinovaných příčin (Pecka, 2006).

Mezi anemie z poruchy tvorby erytrocytů patří poruchy proliferace a diferenciací kmenových buněk, poruchy tvorby hemoglobinu (porucha tvorby hemu či globinu) nebo poruchy syntézy DNA. Poruchy proliferace a diferenciací jsou charakteristické tím, že dochází k narušení erythropoézy nebo dysplazii erytrocytů. Při poruchách tvorby hemoglobinu dochází k nedostatečné tvorbě hemoglobinu, a tak i erytrocytů. Tyto poruchy mají mnoho příčin a nejčastěji se jedná o nedostatek železa (sideropenická anemie). Při poruchách syntézy DNA dochází k megaloblastové přestavbě kostní dřeně, tyto buňky se pak v kostní dřeni hromadí a snižuje se produkce v kostní dřeni. Příčinami poruch syntézy DNA jsou nedostatek vitamínu B12 a kyseliny listové, poškození syntézy DNA působením léků nebo porucha spočívá přímo v genetické výbavě buňky (Pecka, 2006).

Anemie ze zvýšené ztráty erytrocytů jsou hemolytická onemocnění. Dochází při nich k předčasnému zániku erytrocytů, buď extravaskulárně nebo intravaskulárně, a tak je narušená rovnováha mezi zánikem a vznikem erytrocytů. Tyto anemie jsou typické retikulocytózou a sníženým množstvím erytrocytů (Penka a Slavíčková, 2011).

Při anemiích z akutní a chronické ztráty krve dochází k ohrožení pacienta v důsledku významné ztráty objemu krve po traumatu nebo poškození integrity organismu. Terapií pro pacienta postiženého anemií z akutní či chronické ztráty krve je doplnění ztraceného objemu krve (Pecka, 2006).

Anemie z kombinovaných příčin jsou většinou sekundárním onemocněním. Klinické projevy jsou mírnější než při anemiích, které jsou primárním onemocněním. Tyto anemie probíhají nejčastěji při maligních nádorech, např. leukémii, kdy dochází k infiltraci kostní dřeně (Pecka, 2006).

## **2 Mikrocytární anemie**

Morfologické dělení anemií umožňuje správnou diagnostiku a stanovení léčby pro pacienty s anemií (Smíšek, 2014). Mikrocytární anemie je definovaná hodnotou MCV, která je v případě mikrocytárních anemií nižší než 80 fl. Většina pacientů reaguje dobře na léčbu náhradou železa perorálními přípravky (Massey, 1992).

Diagnostika mikrocytárních anemií je závislá na morfologii erytrocytů, hodnotě MCV, železa, hemoglobinu, volných erytrocytárních protoporfyrinů a feritinu v séru.

V některých případech je při diagnostice nutné věnovat pozornost kostní dřeni pacienta (Meredith a Rosenthal, 1999).

Symptomy při pokročilé mikrocytární anemii bývají bledá až šedá kůže, únava, dušnost a zvýšený krevní tlak. Typickou poruchou spojenou s mikrocytárními anemiemi je pika, při níž má pacient nutkání požívat hlínu, led apod. (Berry, 2017).

Nejčastějšími typy mikrocytárních anemií jsou sideropenická anemie, anemie z chronických chorob a talasémie. Mikrocytární anemie se mohou kombinovat, např. spojení  $\alpha$ -talasémie a sideropenické anemie u jednoho jedince (Carlos et al., 2018).

### **3 Metabolismus železa**

#### **3.1 Biologický význam železa**

Železo je významné pro přenos kyslíku a oxidoredukční reakce v tkáních (Racek et al., 2006). Organismus člověka obsahuje odhadem 3 až 4 g železa (Mourek et al., 2013, Racek et al., 2006). Přibližně 10 % z celkového obsahu železa je obsaženo v myoglobinu a metaloenzymech, dalších 90 % je navázáno v hemoglobinu v erytrocytech (Yiannikourides a Latunde – Dada, 2019). Železo je také součástí myoglobinu, který je součástí svalové tkáně. Je součástí mnoha enzymů, např. cytochromů, které se účastní oxidačních procesů v mitochondriích (Mourek et al., 2013). Železo je také významné při tvorbě aldosteronu, je navázáno na síru v cysteinu a tato vazba umožňuje zavést kyslík do molekuly cholesterolu. Když je navázáno na enzymy, podílí se na tvorbě DNA, vícenasycených mastných kyselin, kolagenu, neurotransmitterů a karnitinu (Svačina et al., 2010).

Železnaté ionty mohou působit v těle negativně, jelikož se mohou účastnit tvorby hydroxylového radikálu (Racek et al., 2006). Hydroxylový radikál je schopen způsobovat poškození životně důležitých struktur a chemických složek organismu. Tvorbě hydroxylového radikálu brání transferin, který volné železo váže (Racek et al., 2006). Organismus se snaží zabránit tvorbě hydroxylového radikálu oxidací dvojmocného železa na trojmocné železo pomocí ceruloplasminu nebo likvidací hydroxylového radikálu pomocí katalázy (Sedláčková et al., 2009). Tvorba hydroxylového radikálu většinou probíhá při přebytku železa, tzv. Fentonovou reakcí (Racek et al., 2006).

### **3.2 Metabolismus železa**

Železo se vstřebává v horní části tenkého střeva ve formě železnatého kationu (Racek et al., 2006). Když je neporušená absorpce železa, jedinec vstřebává přibližně 7–10 % železa bílkovinou střevní sliznice, tzv. apoferritinem. Ten váže železo do trojmocné formy a vzniká feritin (Racek et al., 2006). Železo je pak exportováno do krevního oběhu pomocí FPN1, tj. ferroportinu (Abramowski et al., 2014). Ferroportin je transportní protein umístěný na cytoplazmě buněk. Hepcidin je pak schopný tento protein blokovat (Abramowski et al., 2014). Příjem železa je podmíněn i složkami v gastrointestinální soustavě, např. složením žaludeční šťávy (Mourek et al., 2013).

V plazmě se železo váže na transportní bílkovinu transferin. Buňky přijímají železo z transferinu pomocí specifických transferinových receptorů (Racek et al., 2006). Transferin váže i železo z makrofágů, které pochází z degradovaných erytrocytů. Většinu navázaného železa vychytávají erythropoetické buňky kostní dřeně (Svačina et al., 2010). Rezervní železo ve formě feritinu se uskládá v retikuloendoteliálním systému kostní dřeně, slezině a v játrech (Svačina et al., 2010).

Při absorpci železa má významnou roli hepcidin, transmembránová bílkovina, která umožňuje uvolňovat železo ze všech buněk, či naopak zamezit uvolňování. Játra snižují sekreci hepcidinu, když je v organismu malá saturace transferinu železem, aby se železo mohlo uvolňovat. Sekrece hepcidinu z jater se naopak zvyšuje při imunologické odpovědi pomocí cytokinů a buňky pak nejsou schopné uvolňovat železo (Svačina et al., 2010).

Regulace metabolismu železa probíhá na buněčné úrovni za pomoci IRP a IRE (Sedláčková et al., 2009). IRP jsou regulační proteiny, které se vyskytují na buněčné cytoplazmě a vychytávají IRE, když je v organismu nedostatek železa. Ovlivňují tak stabilitu mRNA a syntézu feritinu (Šimek, 2005).

### **3.3 Toxicita železa**

Hypersiderémie může být způsobena mnoha činiteli, např. otravou či geneticky dědičnou chorobou (Racek et al., 2006). Otrava železem patří mezi nejčastější smrtelné otravy dětí. Při příjmu železa v potravě nad 60 mg/kg dochází k těžkým otravám (Yuen a Becker, 2021).

Geneticky dědičná choroba způsobující nadbytek železa v organismu se nazývá hemochromatóza. Při hemochromatóze dochází k nadměrnému vstřebávání železa

v tenkém střevě, jelikož chybí regulační mechanismy, které by tomu zamezily. Při nadbytku železa začne docházet k ukládání železa v játrech, myokardu, slinivce břišní a kůži. To potom vede k poškození daného orgánu, např. když se železo ukládá do jater, začne se postupně vyvíjet cirhóza (Racek et al., 2006).

Hemosideróza je onemocnění způsobené nadměrným příjmem železa v potravě (Racek et al., 2006). Nadbytečně strávené železo vede k vytvoření povlaku na sliznicích gastrointestinálního traktu. Povlak na sliznicích gastrointestinálního traktu dále způsobuje zvracení, průjemy a bolesti. Tento stav vede až k dehydrataci a k doprovodným symptomům dehydratace. Na buněčné úrovni poškozuje srdce, játra a centrální nervovou soustavou (Yuen a Becker, 2021).

Další onemocnění, která může způsobit nadbytek železa v séru, jsou hemolytická anemie, sideroblastická anemie či jaterní onemocnění (Racek et al., 2006).

## **4 Sideropenická anemie**

### ***4.1 Definice***

Sideropenická anemie je definována jako anemický syndrom způsobený nedostatkem železa. Jedná se o nejčastější typ anemie, ve vyspělých zemích je výskyt sideropenické anemie u mužů 4–5 % a u žen 14–20 % (Penka et al., 2001).

### ***4.2 Etiopatogeneze***

Nedostatek železa způsobuje narušení metabolických a enzymových reakcí, a tak narušuje správné fungování organismu (Kozák et al., 2001). Nedostatek železa v organismu způsobí depleci zásob železa a poté vede k nedostatečné tvorbě hemu (Pecka, 2006). Nedostatek železa může být způsoben nedostatečným příjmem železa, nadměrnými ztrátami nebo v případech, kdy příjem železa nestačí, např. při těhotenství (Pecka, 2006).

Nejčastěji vzniká chronickými ztrátami krve, např. menstruací u žen ve fertilním věku (Kubicz et al., 2006). Je velmi častým symptomem nádorů gastrointestinálního traktu. Při sideropenické anemii způsobené nedostatečným přívodem železa do organismu hraje zásadní roli životospráva, např. špatné nahrazování zdrojů železa při vegetariánství či veganství (Sahovic S. et al., 2012).

Rozlišujeme 3 stádia sideropenické anemie. Prvním je prelatentní sideropenie, při které dochází k depleci železa v organismu, ale nejsou zatím ovlivněny počty erytroblastů v kostní dřeni. Druhým stupněm je latentní sideropenie, kdy jsou zásoby železa již vypotřebovány a snižuje se přísun železa pro erytropoézu. Třetím stádiem je plně rozvinutá sideropenická anemie (Penka a Slavíčková, 2011).

#### **4.3 Diagnostika**

Při laboratorním vyšetření během prelatentní sideropenie je normocytóza, snížení obsahu hemového železa v siderofázích a snížení feritinu v séru (Pecka, 2006). Při rozvinutém stádiu lze v krevním nátěru pozorovat mikrocytózu, hypochromii, anizocytózu, agranulocytózu a poikilocytózu. V kostní dřeni je zvýšená křetvorba červené krevní řady a je zde posun k nezralým formám (Pecka, 2006). Počet retikulocytů bývá nezměněný či mírně zvýšený. K diagnóze sideropenické anemie může nápomoci stanovení volného protoporfyrinu v erythrocytech, přičemž bývá hladina zvýšena (Penka a Slavíčková, 2011).

#### **4.4 Klinické příznaky**

Na začátku onemocnění se projevují u pacienta nespecifické symptomy, jako např. únava, malátnost, závratě a bolesti hlavy. Při déle přetrvávajícím onemocnění se začnou objevovat specifické symptomy, např. bledost kůže a sliznic, lomivost nehtů, narušení vývoje dětí a plodů, poruchy imunity, snížení svalové výkonnosti, ztráty pozornosti atd. (Penka et al., 2001).

### **5 Anemie chronických chorob**

#### **5.1 Definice**

Anemie chronických chorob je druhou nejčastější anemií, hned po sideropenické anemii (Vydra, 2015). Vznikají poruchou hemoglobinizace erytrocytů, způsobené různými příčinami. Příčinou vzniku těchto anemií bývají chronické infekce, chronické záněty, nádorová onemocnění a orgánová selhání, např. jater či ledvin (Penka a Slavíčková, 2011). K poruše hemoglobinizace dochází většinou v důsledku relativního nedostatku železa (Kubisz et al., 2006). Léčba těchto anemií se převážně zaměřuje na léčení primární příčiny, tj. chronické choroby (Kubisz et al., 2006).

## **5.2 Etiopatogeneze**

Klinické příznaky jsou různorodé, ale ve většině případů dochází ke zvýšené produkci hepcidinu a zánětlivých cytokinů (Penka a Slavičková, 2011). Proto lze o anemii chronických chorob říct, že se jedná o hypoproliferativní onemocnění způsobené zvýšenou tvorbou cytokinů (Raida, 2005). Anemické příznaky mohou být zamaskovány příznaky základního onemocnění (Indrák, 2014; Pospíšilová, 2007).

Hepcidin je protein, na kterém závisí absorpce železa, a tak při jeho nadbytku dochází k narušení metabolismu železa a narušení erythropoézy (Kubicz et al., 2006). Zvýšené množství cytokinů může blokovat progenitory erytroidní řady, např. BFU E. Vlivem kyslíkových radikálů nebo cytokinů může dojít ke zkrácení přežívání erytrocytů (Pospíšilová, 2007). V některých případech, např. při selhání ledvin, vzniká anemie v důsledku nedostatku erythropoetinu (Binder et al., 2004).

## **5.3 Diagnostika**

Při laboratorním vyšetření nalézáme normocytózu a hemoglobin nebývá nižší než 90 g/l (Pecka, 2006). Počet retikulocytů bývá snížen (Vydra, 2015).

Při diagnostice anemie chronické choroby je nutné ji odlišit od sideropenické anemie (Kubisz et al., 2006), a také je nutné ji odlišit od anemie způsobené chronickými krevními ztrátami (Navrátil et al., 2003). Diagnostiku většinou doplňujeme barvením na železo, díky kterému nacházíme zvýšené počty siderofágů, ale snížené množství sideroblastů a siderocytů (Indrák, 2014). V kostní dřeni se většinou vyskytuje zvýšené množství zásobního železa. Hladina feritinu bývá v těchto případech zvýšená, jelikož je feritin součástí akutní fáze. Naopak hladiny transferinu a volného železa v séru jsou sníženy (Adam et al., 2007).

# **6 Hemoglobin**

## **6.1 Biologická funkce**

Hemoglobin má dvojí roli v dýchání. Přivádí kyslík do organismu a odvádí oxid uhličitý z organismu (Marengo – Rowe, 2006). Hemoglobin je schopen navázat čtyři molekuly kyslíku, jednu na každý hem (Kennelly a Rodwell, 2012). Schopnost navázat kyslík je závislá na tom, jestli jsou už navázány molekuly kyslíku. Tato schopnost se nazývá kooperativní vazebná kinetika, tzn. schopnost navázat maximální množství kyslíku



v plicích a uvolnit ho v tkáních (Kennelly a Rodwell, 2012). Při navázání kyslíku na hem dochází k změně konformace hemoglobinu. Oxid uhličitý se přenáší hemoglobinem ve formě karbamátu, který vzniká reakcí s terminálním dusíkem globinového řetězce. Hemoglobin dále váže vodíkové protony z krve a mění tak pufrační vlastnosti krve (Kennelly a Rodwell, 2012).

## **6.2 Syntéza**

Nejdůležitější částí syntézy hemoglobinu je produkce globinových řetězců a syntéza hemu (Farid et al., 2021). Produkce globinových řetězců probíhá přímo v cytosolu nezralých erytrocytů. Probíhá transkripcí a translací genetické informace obsažené v jádře nezralého erytrocytu (Farid et al., 2021). Syntéza hemu probíhá v cytosolu a mitochondriích nezralých erytrocytů (Farid et al., 2021). Počátek syntézy hemu začíná glycínem a sukcinylem koenzymu A a končí produkcí protoporfyrinového kruhu, na který se naváže dvojmocné železo. Molekuly hemoglobinu jsou tetramery sestavené ze čtyř polypeptidových globinových řetězců (Farid et al., 2021). Každý globinový řetězec obsahuje hem, který je sestaven z protoporfyrinového kruhu a centrálního dvojmocného kationtu železa (Farid et al., 2021). Železo hemu je navázáno na dusík histidinu. Protoporfyrinový kruh pak uzavírá fenylalanin polypeptidického řetězce, tj. globinového řetězce (Marengo – Rowe, 2006). Syntéza hemoglobinu je regulována především během exprese DNA při translaci a při posttranslačních úpravách (Weatherall, 2005).

## **6.3 Struktura**

Doposud bylo popsáno přes 200 variant hemoglobinu (Marengo – Rowe, 2006). Typy hemoglobinu se rozlišují podle svých dvou párů globinových řetězců (Weatherall, 2005). Základními typy hemoglobinu jsou adultní hemoglobin, tj. HbA, fetální hemoglobin, tj. HbF a HbA2. Nejčastějším typem hemoglobinu je HbA, tj. adultní hemoglobin, který má dva alfa globiny a dva beta globiny. Hemoglobin HbA2 obsahuje dva alfa globiny a dva delta globiny a je méně častým typem hemoglobinu (Marengo – Rowe, 2006). Plod produkuje převážně HbF, tj. fetální hemoglobin, který obsahuje dva alfa globiny a dva beta globiny. Fetální hemoglobin má vyšší afinitu při vázání kyslíku oproti adultnímu hemoglobinu (Farid et al., 2021). Během embryogeneze přechází plod ze syntézy HbF na HbA. Tato změna je důležitá pro adaptaci na kyslíkové rozdíly v placentě a pro funkčnost plic postnatálně (King, 2007). Při nadměrné syntéze alfa či beta globinových řetězců dochází k agregaci homopolymerů, a tak k apoptóze erytroidních prekurzorů (King,

2007). Typ hemoglobinu S je tvořen dvěma alfa globinovými řetězci a dvěma mutantními beta globinovými řetězci. Výskyt HbS způsobuje srpkovitou anemii, kterou doprovází nízká schopnost hemoglobinu vázat kyslík (King, 2007). Methemoglobinemie je stav, při kterém je centrální molekula dvojmocného železa změněna na trojmocné železo. Hemoglobin pak není schopen vázat ani transportovat kyslík. Methemoglobinemie může být způsobena sníženou aktivitou methemoglobinreduktázy, působením sulfonamidů či dědičnou poruchou (Kennelly a Rodwell, 2012).

## **7 Talasémie**

### **7.1 Definice**

Talasémie je z hlediska etiopatogeneze anemie z poruchy globinu a z hlediska morfologického dělení anemií je mikrocytární anemií. Jsou to vrozené recesivně dědičné anemie způsobené poruchou jednoho nebo více polypeptidových řetězců globinu (Penka a Slavičková, 2011). Incidence v Evropské unii je přibližně 1 z 10 000 obyvatel (Galanello a Origa, 2010).

Toto onemocnění je způsobeno expresí mutovaných genů, a tak vzniká porucha globinových řetězců, hlavně na řetězci  $\alpha$  a  $\beta$ . Hlavními typy talasémií jsou  $\alpha$ -talasémie a  $\beta$ -talasémie, ale existují i jiné druhy, např.  $\gamma$ -talasémie. Mutace genu pro tvorbu globinových polypeptidových řetězců způsobí snížení či eliminaci tvorby daného řetězce (Penka a Slavičková, 2011). Při narušení jednoho řetězce dochází ke kompenzaci vyšší tvorbou ostatních řetězců, ty ale pak narušují membránu erytrocytů (Pecka, 2006). Pokud dojde pouze k částečnému omezení tvorby daného řetězce, je pak narušena syntéza hemu a dochází k hromadění železa v erytrocytech a dalších orgánech (Pecka, 2006). Hlavní příčinou morbidity a mortality při talasémii je ukládání železa do endokrinních orgánů, jater a srdce, což je způsobeno zvýšenou resorpcí železa (Weatherall, 2016). Talasémie se často vyskytují v oblastech Středoziemního moře, na Středním východě a v jihovýchodní Asii, u nás je méně častá (Penka a Slavičková, 2011). Talasémie je podobná srpkovité anemii tím, že chrání erytrocyty před malárií (Vydra, 2015).

### **7.2 $\alpha$ -Talasémie**

Při tomto onemocnění dochází k defektu dvou až čtyř genů pro  $\alpha$  řetězce. Vznik  $\alpha$ -talasémií doprovází rozsáhlé delece v určitém úseku genu (Kozák et al., 2001). Při

poruše pouze jednoho  $\alpha$  globinového řetězce je pacient nositelem této genetické odchylky. Jedinci, kteří jsou postiženi tichým nosičstvím  $\alpha$ -talasémie, mají mikrocytární erythrocyty, ale nevyskytuje se u nich doprovodný anemický syndrom (Penka a Slavíčková, 2011).

Narušení dvou genů pro  $\alpha$  řetězce způsobuje mírné onemocnění a nese název  *$\alpha$ -thalasemia minor*. V klinickém obraze je pozorovaná výraznější mikrocytóza a hypochromie. Anemie se při této formě genetické odchylky může začít projevovat (Penka a Slavíčková, 2011).

Pokud dojde k poruše tří genů, začne docházet ke kompenzaci nedostatku  $\alpha$  řetězců zvýšenou tvorbou  $\beta$  řetězců, a tak vzniká hemoglobin H. Tento typ nese název  *$\alpha$ -thalasemia maior*, tj. choroba hemoglobinu H (Kubisz et al., 2006). Hemoglobin H je oproti klasickému hemoglobinu velmi nestabilní a precipituje v erythrocytech. Erythrocytům začne klesat životnost a dochází k rozvoji splenomegalie a anemie. Klinicky se začne projevovat už v prvním roce života, většinou žloutenkou a progredující hepatosplenomegalií. Laboratorní nález při pozorování krevního nátěru je typicky mikrocytóza, hypochromie, anizocytóza, terčovité erythrocyty, bazofilní tečkování a zvýšený počet retikulocytů. Při diagnostice choroby hemoglobinu H se čerstvě odebraná krev ponechá inkubovat a poté nabarvit brilantní kresylovou modří. Po nabarvení lze nalézt typická H tělíska v erythrocytech (Penka a Slavíčková, 2011).

Narušení čtyř genů pro  $\alpha$  řetězce není slučitelné se životem (Kubisz et al., 2006). Jedná se o nejzávažnější formu  $\alpha$ -talasémie, jelikož se nemůže tvořit HbA, HbA<sub>2</sub> ani HbF. Vzniká hemoglobin Bart's, od něhož je odvozen název choroba hemoglobinu Bart's. Hemoglobin Bart's má vyšší afinitu ke kyslíku, a tak nižší schopnost předávat kyslík tkáním (Penka a Slavíčková, 2011). Plod s narušením čtyř  $\alpha$  globinových řetězců většinou umírá in utero nebo se narodí předčasně a umírá krátce poté (Binder et al., 2004).

U nemocných s  $\alpha$ -talasémií nacházíme normální nebo lehce zvýšený počet erythrocytů, mikrocytózu, zvýšený počet retikulocytů v periférii a hypochromii erythrocytů (Pecka, 2006).

### **7.3 $\beta$ -Talasémie**

Mutace genů, které regulují a exprimují  $\beta$  řetězce, způsobují  $\beta$ -talasémii. Tyto geny se nachází na 11. chromozomu (Penka et al., 2001). Pokud postihuje obě alely, je pacient

homozygot a trpí onemocněním *thalasemia maior*. Pokud postihuje pouze jednu alelu, jedná se o heterozygotní formu  $\beta$ -talasémie, která nese název *thalasemia minor* (Binder et al., 2004).

#### **7.4 *Thalasemia maior***

Toto onemocnění má těžký klinický průběh. Klinicky se projeví mezi 6. až 24. měsícem života. Děti postižené touto nemocí se špatně vyvíjí, progresivně blednou, mají problémy se zpracováním potravy, jsou iritabilní a může dojít i k zvětšení jater a sleziny (Galanello a Origa, 2010). Zastoupení hemoglobinu HbF na místo HbA se pohybuje v rozmezí 40 až 100 % (Pecka, 2006). HbF vzniká díky nadbytku  $\gamma$  řetězců a má vysokou afinitu ke kyslíku. Díky svému vysokému zastoupení HbF dochází k hypoxii tkání, a tak k navýšení nároků na kyslík (Penka a Slavíčková, 2011). Laboratorní nálezy jsou těžká mikrocytární, hypochromní, anizocytární anemie. Hodnoty hemoglobinu se pohybují kolem 70 g/l a jsou zvýšené hladiny železa (Penka et al., 2001). V erytrocytech lze nalézt i bazofilní tečkování (Carr a Rodak, 2014). Při léčbě uplatňujeme substituční léčbu, odstraňování nadbytečného železa chelatačními látkami, splenektomií a transplantaci kostní dřeně (Penka et al., 2001). Při léčbě transfúzí dochází často k přetížení organismu železem. Přetížení železem dále způsobuje poškození kardiovaskulární soustavy, jater (fibrózu či cirhózu) a endokrinních žláz (Galanello a Origa, 2010).

#### **7.5 *Thalasemia intermedia***

$\beta$ -*Thalassemia intermedia* je typická klinickým polymorfismem, který může být přisuzován její genetické heterogenitě (Asadov et al., 2018). Je výsledkem ovlivnění jedné či dvou alel pro  $\beta$  řetězce. Většina případů, 60 až 90 %, je způsobena ovlivněním dvou alel pro  $\beta$  řetězce (Penka a Slavíčková, 2011).

Laboratorně pozorujeme nižší množství hemoglobinu, mezi 70 až 100 g/l, a 10 až 50 % zastoupení fetálního hemoglobinu (Penka a Slavíčková, 2011). Klinické komplikace jsou způsobovány nedostatečnou erytropoézou, chronickou anemií a přetížením organismu železem. Tyto komplikace jsou splenomegalie, extramedulární erytropoéza, akumulace železa, vředy na dolních končetinách, trombofilie a abnormality kostí. Léčba  $\beta$ -*thalassemia intermedia* má různé formy, např. občasné transfuze, chelatace a transplantace kmenových buněk (Asadov et al., 2018).

## **7.6 *Thalasemia minor***

$\beta$ -*Thalasemia minor* má lehký klinický průběh. Při laboratorních vyšetřeních nalézáme hypochromii, mikrocytózu a hladinu hemoglobinu pohybující se v rozmezí 100–120 g/l (Indrák, 2014). Oproti  $\beta$ -*thalasemia maior* zde není navýšená hladina železa v séru. Léčba většinou není nutná (Kozák et al., 2001).

## **8 Metody měření parametrů krevního obrazu**

### **8.1 *Absorpční spektrofotometrie***

Spektrofotometrii využíváme pro stanovení množství hemoglobinu ve vzorku. Hemoglobin stanovíme pomocí reagentie, která hemolyzuje erytrocyty, čímž se uvolní hemoglobin. Uvolněný hemoglobin se následně převede na chromogen a ten se měří spektrofotometricky (Penka a Slavičková, 2011).

Absorpční spektrofotometrie se používá k stanovení koncentrace látek a je to optická metoda, která je založena na absorpci světla vzorkem. Množství světla absorbovaného vzorkem představuje veličina zvaná absorbance. Tuto veličinu ovlivňuje tloušťka stěn kyvety, ve které se měření provádí. Při měření vzorků s jedním druhem molekul je absorbance vyjádřena Lambert-Beerovým zákonem. Lambert-Beerův zákon je vyjádřen vzorcem:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot d$$

Veličina  $c$  ve vzorci je molární koncentrace daného vzorku v kyvetě,  $\varepsilon$  představuje molární absorpční, tj. extinkční koeficient a  $d$  je tloušťka kyvety (Rosina a Navrátil, 2000). K měření se používá monochromatické světlo s nastavitelnou vlnovou délkou, které prochází kyvetou se vzorkem na fotodetektor. Fotodetektor snímá světlo, které se neabsorbuje ve vzorku (Rosina et al., 2013).

### **8.2 *Impedanční metoda měření krevních elementů***

Impedanční metoda stanovení krevních elementů je založena na konduktometrii. Vzorek obsahující elektrolyt má specifickou vodivost přímo úměrnou koncentraci elementu (Rosina a Navrátil, 2000). Při impedanční analýze je vzorek unášen tekutinou a vzniká impedanční impulz, který podle počtu a velikosti udává informace o jednotlivých

elementech ve vzorku. Počet impulzů určuje počet buněk a velikost buněk určuje velikost impulzů (Penka a Slavíčková, 2011).

Principem používaným při impedanční metodě je hydrodynamická fokusace. Principem je přeměrování a zužování pomalejšího proudícího toku rychlejším proudícím tokem. Proudící toky se v případě analýzy krevních elementů nemísí (Golden et al., 2012). Hydrodynamická fokusace zajišťuje průchod krevních elementů přes aperturu a zamezuje tvorbu abnormálních impulzů. Nevýhodou impedanční metody stanovování krevních elementů je, že se měří všechny částice procházející aperturou, takže se měří i vzduchové bubliny a shluky buněk (Pecka, 2006). Elementy se měří průchodem kyvetou v průtokové měřící kyvetě mezi dvěma elektrodami. Hodnoty jsou dány změnami elektrického odporu (Penka a Slavíčková, 2011).

V tomto typu analyzátoru lze měřit množství a velikost erytrocytů a trombocytů. Po přidání lyzačních reagensů se měří leukocyty a hemoglobin (Pecka a Bláha, 2010).

### ***8.3 Průtoková cytometrie***

Průtoková cytometrie je rychlá analýza mnoha parametrů. Jako zdroje světla se využívá laser. Jedná se o optickou analýzu založenou na principu hydrodynamické fokusace. Analýza krevních elementů pomocí průtokové cytometrie je založena na detekci rozptýleného laserového světla nebo fluorescenci. Jednotlivé buňky v buněčné suspenzi prochází průtokovou kyvetou, kde jsou snímány laserovým paprskem (Penka a Slavíčková, 2011). Laserové paprsky se při setkání s krevním elementem rozptýlí a poté jsou snímány detektorem. Je možné využít fluorescenční reagenty, což jsou např. fluorescenčně označené protilátky či DNA (McKinnon, 2018). Světlo procházející buňkami udává počet prošlých buněk, tedy kvantitativní hodnoty. Světlo rozptýlené buňkou je snímáno v různých detekčních úhlech a udává kvalitativní vlastnosti buňky (Penka a Slavíčková, 2011).

Průtokovou cytometrií lze měřit počet, velikost buňky či jádra a granulaci leukocytů. Výsledky udáváme v bodových grafech, které se nazývají scattergramy (Pecka a Bláha, 2010). Hodnoty počtu prošlých krevních elementů udáváme pomocí analýzy prošlého světla. Tvar a velikost krevních elementů lze při průtokové cytometrii početně analyzovat po nabarvení vzorku. Po nabarvení jsou krevní elementy ozařovány laserem a měří se depolarizované světlo (Penka a Slavíčková, 2011).

## 9. Metodika

### 9.1 Charakteristika dat

Data byla získána v laboratoři hematologie Nemocnice Hořovice v průběhu jednoho týdne od 25.10.2021 do 31.10.2021. Jednalo se o data z ambulancí chirurgie, interny, neurologie, onkologie, gynekologie, urologie a otorinolaryngologie. Důvodem pro výběr dat pouze z ambulancí byl, že vzniklá populace probandů nenese předpoklad pro diferenciální diagnostiku mikrocytární anemie, ale pouze náhodný záchyt. Hodnoty železa a feritinu byly vyšetřeny pouze u pacientů onkologické ambulance.

### 9.2 Příjem materiálu

Pacientské vzorky jsou přijímány zdravotnickým laborantem v budově klinických laboratoří Nemocnice Hořovice. Biologický materiál vždy doprovází žádanka. Při příjmu materiálu je nutné zkontrolovat, jestli údaje na nádobě s pacientským vzorkem souhlasí s informacemi na žádance. Údaje na žádance musí obsahovat jméno a příjmení, rodné číslo, zdravotní pojišťovnu pacienta a oddělení, které o vyšetření žádá. Na žádance je nutné mít také jméno a kontakt na lékaře, který si dané vyšetření vyžádal. Po kontrole správnosti údajů se zadávají údaje a požadavky do laboratorního informačního systému (LIS) a je označen vlastním laboratorním ID (bar kódem). Po označení laboratorním ID se předává ke dalšímu zpracování. Pokud údaje na zkumavce a žádance nesouhlasí, materiál se odmítá a dále se nezpracovává.

Také je nutné zkontrolovat zkumavku se vzorkem, jestli není poškozená (např. vylití při transportu), zda není vzorek odebraný do protisrážlivého činidla sražený, jestli nedošlo k nedodržení poměru krve a protisrážlivých činidel nebo zda není biologický materiál odebrán do správné zkumavky pro požadované vyšetření (např. odběr krve na koagulační vyšetření do zkumavky s K<sub>3</sub>EDTA). Toto se pokládá za poškození odebraného materiálu a další zpracování tak není možné a materiál se odmítá. Každý zamítnutý vzorek je nutné zadat do knihy neshod.

Odběr krve na vyšetření krevního obrazu se odebírá do zkumavky s K<sub>3</sub>EDTA, jedná se o zkumavku s fialovým uzávěrem. Vyšetření železa a feritinu se odebírá do zkumavky bez antikoagulačního činidla, jelikož se toto vyšetření provádí ze séra, tedy do zkumavky se žlutým uzávěrem. Tato zkumavka obsahuje gel, který usnadňuje separaci séra od roztoku krevních elementů.

### **9.3 Parametry krevního obrazu**

Analyzátory krevního obrazu rozlišujeme podle schopnosti rozlišovat populace leukocytů a rozpoznávací schopností retikulocytů. Analyzátor Abbott Allinity hq je šestipopulační analyzátor, jelikož je schopen diferenciatně určit neutrofilie (NEU), lymfocyty (LYM), monocytie (MONO), eozinofily (EOS), bazofily (BASO) a mladé formy granulocytů (IG).

Mezi parametry hodnocené u erytrocytů patří počet erytrocytů (RBC), střední objem erytrocytu (MCV), hematokrit (HCT), průměrný obsah hemoglobinu v erytrocytu (MCH), průměrná koncentrace hemoglobinu v erytrocytu (MCHC), šíře rozložení erytrocytů podle velikosti (RDW) a hemoglobin (HGB). Střední objem erytrocytů (MCV) udává, jaký objem mají erytrocyty. Hematokrit (HCT) vyjadřuje, v jakém poměru jsou erytrocyty vůči plazmě. Průměrné množství hemoglobinu v erytrocytu získáváme pomocí hodnoty průměrného obsahu hemoglobinu v erytrocytu (MCH). Poměrem hmotnostní koncentrace hemoglobinu a hematokritu je vyjádřena hodnota průměrné koncentrace hemoglobinu v erytrocytu (MCHC). Šíře rozložení erytrocytů podle velikosti (RDW) vyjadřuje míru velikostní heterogenity erytrocytů (Váchová Z. et al., 2020).

Dalšími měřenými parametry krevního obrazu jsou množství trombocytů (PLT), střední objem trombocytů (MPV), absolutní počet retikulocytů (RETIC), frakce nezralých retikulocytů (IRF), hemoglobin v retikulocyту (MCHr) a počet normoblastů (NRBC).

### **9.4 Obsluha analyzátoru krevního obrazu Abbott Allinity hq**

Základem k provozu analyzátoru patří skladování a příprava roztoků. Mezi roztoky využívané v analyzátoru patří ředící roztok, reagentie pro hemoglobin, hemolyzující reagentie pro stanovení počtu leukocytů, reagentie pro stanovení retikulocytů, čistící roztok a kontrolní materiál. Roztoky, které se používají, jsou dodávány ve stavu vhodném k okamžitému použití. Roztoky se skladují přímo v hematologické laboratoři, kromě reagentie pro stanovení retikulocytů, kterou je nutno uchovávat v lednici. Množství roztoku v analyzátoru je kontrolováno softwarem, který ho odečítá z původního objemu. Když v analyzátoru začne roztok docházet, analyzátor vyzve obsluhu k výměně roztoku (Váchová Z. et al., 2020).





Obrázek 1: Analyzátor Abbott Alinity IQ (zdroj: vlastní).

Pro správnou analýzu vzorků je nutné zkontrolovat funkčnost a použitelnost používaných roztoků. K tomuto účelu slouží interní kontrola kvality a mezilaboratorní kontrola kvality, tj. externí kontrola kvality. Všechna získaná data při kontrole kvality je nutné archivovat. Archivace dat je zodpovědností atestované laborantky či vysokoškolského analytika.

Interní kontrola kvality mezilehlé preciznosti, tj. správnosti měření, spočívá v měření kontrolních firemních krevních vzorků se známými hodnotami pro všechny parametry krevního obrazu. Touto kontrolou také prověřujeme funkčnost analyzátoru. Výsledky měření se hodnotí podle blízkosti k daným hodnotám firemních krevních vzorků, tj. firemního bias. Díky tomu lze také pozorovat kolísání hodnot ze dne na den. Kontrolní měření se provádí denně či neplánovaně. Úspěšné kontrolní měření je, když u hodnot nejsou příznaky zvýšení či snížení a spadají do rozmezí deklarovaného firmou. Neúspěšné měření je značeno tak, že hodnoty kontroly se vyskytují mimo povolené rozmezí. Při neúspěšné kontrole je nutné vyloučit problém v kontrolním materiálu (kontrola expirace, výměna kontrolní krve). Provádí se nové měření, a pokud ani toto měření není úspěšné, je nutné zkontrolovat používané reagenty v analyzátoru (expirace, kontaminace apod.). Při opakovaných neúspěšných kontrolách je možné napravit tento problém novou kalibrací.

Interní kontrola kvality opakovatelnosti metody probíhá v sérii. Jedná se o míru těsnosti souladu mezi výsledky posloupnosti nezávislých měření parametru ve stejném vzorku,

stejnou metodou, na stejném analyzátoru a za stejných podmínek v krátkém časovém intervalu. Variační koeficienty pro jednotlivé parametry musí být v souladu s hodnotami udanými výrobcem (Váchová Z., 2020).

Interní kontrola kvality reprodukovatelnosti metod není u analyzátoru Abbott Allinity hq nutná, jelikož se nerozlišuje uzavřený a otevřený systém měření, protože má pouze jednu aspirační jehlu.

Externí hodnocení kvality je založené na porovnávání výsledků dosažených v laboratoři s výsledky dosaženými v jiných laboratořích. Toto hodnocení organizuje pověřená instituce. Cílem externího hodnocení kvality je zlepšení analytické činnosti laboratoří. Obvykle se při externím hodnocení kvality využívají dva kontrolní vzorky, jejichž kvalita je pro hodnocení velmi důležitá (Racek et al., 2006). Organizace SEKK umožňuje hodnocení kvality analýzy v laboratoři.

Při měření patientských vzorků je důležitá obousměrná komunikace mezi analyzátořem a laboratorním informačním systémem. Za tímto účelem je nutné, aby byl každý vzorek opatřen barkodem, s jehož použitím se automaticky odešlou patientské informace, požadavky na vyšetření a výsledky vyšetření do laboratorního informačního systému. Vzorky, které jsou analyzovány analyzátořem Abbott Allinity hq, jsou odebrány do K<sub>3</sub>EDTA, opatřeny barkodem a promíchány na třepačce. Množství vzorku pro analýzu musí být dostatečné a nesmí dojít k jeho sražení.

Pokud dojde při analýze k označení výsledků jako neplatných, jedná se často o chybu při natahování vzorku do analyzátořu aspirační jehlou, malé množství vzorku, nasátí sraženiny či chybu v preanalytické fázi. V tomto případě je nutné zkontrolovat vzorek, jestli není sražený a že ho je dostatečné množství. Je nutné přeměřit vzorek znovu. Jestliže problém přetrvává a je vyloučena porucha analyzátořu, je potřeba vyžádat si nový odběr vzorku.

Kalibrace analyzátořu Abbott Allinity hq provádí servisní technik při každoroční pravidelné validaci přístroje. Analyzátoř provádí údržbu automaticky v definovaných časech. Úspěšnost provedení údržby musí laborantka potvrdit přímo v přístroji a podpisem do Provozního deníku. Údržba je buď denní, týdenní či dle potřeby. Údržbu dle potřeby si přístroj vyžádá, např. po výměně reagentie (Váchová Z. et al., 2020).

## **9.5 Mikroskopické stanovení krevního obrazu**

Do mikroskopického stanovení patří zhotovení, nabarvení a zhodnocení nátěru krve. Pomocí panopticky obarveného krevního nátěru je možné zjistit zastoupení jednotlivých typů leukocytů a lze posoudit morfologii elementů červené krevní řady. Indikací k provedení mikroskopické analýzy jsou přímý požadavek lékaře nebo početní či morfologické změny krevních buněk (např. vysoký počet leukocytů, či nízký počet leukocytů).

Pro mikroskopickou analýzu vzorku je nutné mít v laboratoři patřičné vybavení (mikroskop, sumátor buněk, valivá třepačka, podložní sklíčko, roztěrové sklíčko, imerzní olej, benzín, Pasteurova pipeta, ochranné rukavice atd.).

Na podložní sklo se kápne Pasteurovou pipetou kapka krve z odběrové zkumavky. Roztěrové sklíčko se přiloží k podložnímu pod úhlem 30–40° před kapku. Kapka se rovnoměrně roznese pod dolní okraj roztěrového sklíčka. Roztěrové sklíčko se přiloží k podložnímu na 70–60° a rovnoměrným a lehkým pohybem se přenesou kapka na druhou stranu podložního skla. Tak by se měl vytvořit rovnoměrný, stejnorodý a tenký nátěr. Hotový nátěr se označí laboratorním číslem, ponechá se cca 10 minut zaschnout a poté se nátěr nabarví.

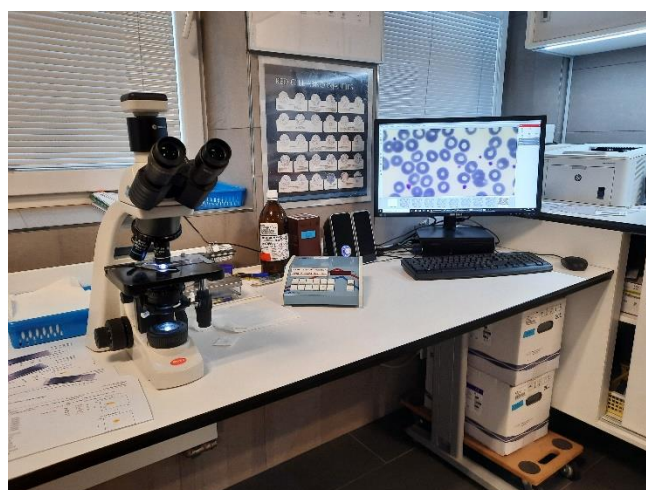
Při barvení nátěru je potřeba mít připravené správné reagenty: roztok May Grünwald (fixační roztok), roztok Giemsa Romanovski (barvicí roztok) a destilovanou vodu. Hotový nátěr se vloží do barvicí kyvety s roztokem May Grünwald na dobu 4 minut. Po vyjmutí z roztoku May Grünwald se nátěr opláchne v destilované vodě a vloží do barvicí kyvety s roztokem Giemsa Romanovski na dobu 10 minut. Po uplynutí 10 minut se nátěr vyjme a opláchne pod mírným proudem tekoucí vody a je nechán uschnout (Váchová Z. et al., 2017).

Před analýzou zaschnutého a nabarveného preparátu je třeba preparát zkontrolovat na nižším zvětšení (100 – 200x zvětšení), jestli je dostatečně kvalitní. Preparát se poté pozoruje při 1000násobném zvětšení. Na preparát se kápne kapka imerzního oleje a vloží se pod objektiv mikroskopu. Pak na sumátoru bílých krevních buněk zaznamenáváme jednotlivé typy leukocytů pozorované pod mikroskopem v preparátu. Hodnocení se provádí do počtu 100 leukocytů. Dále se analyzuje morfologie erytrocytů a trombocytů. Po zakončení analýzy se výsledek zanesou do laboratorního informačního systému (LIS).

Podle výše popsaného postupu byly připraveny 2 preparáty: preparát patologického probanda (PP) a preparát zdravého probanda (PZ). Preparáty byly pozorovány pod mikroskopem a vyfoceny pomocí kamery Motic.

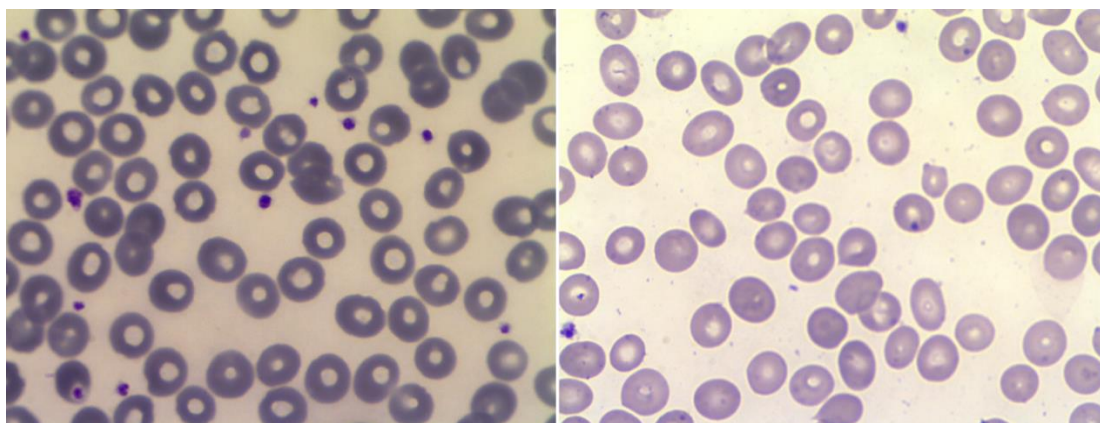
Proband	HGB	MCV	MCH	MCHC
PP	84	72,7	23,8	327
PZ	135	93,5	32,2	344

Tab. I: Hodnoty krevních obrazů PP a PZ



Obrázek 2: Mikroskop a kamera Motic (zdroj: vlastní).

Preparát PP (viz obrázek 4) byl hypochromní a anizocytární. Byly zde pozorovány mikrocyty, anulocyty a ovalocyty. Preparát PZ (viz obrázek 4) byl normochromní, normocytární. Nebyly nalezeny žádné patologické změny na erytrocytární řadě. Preparáty byly vytvořeny pro vizuální porovnání probanda s patologickými hodnotami a změnami v červené krevní řadě, s probandem bez těchto změn.



Obrázek 3: Preparát PZ (vlevo), preparát PP (vpravo) (zdroj: vlastní).

### ***9.6 Stanovení železa***

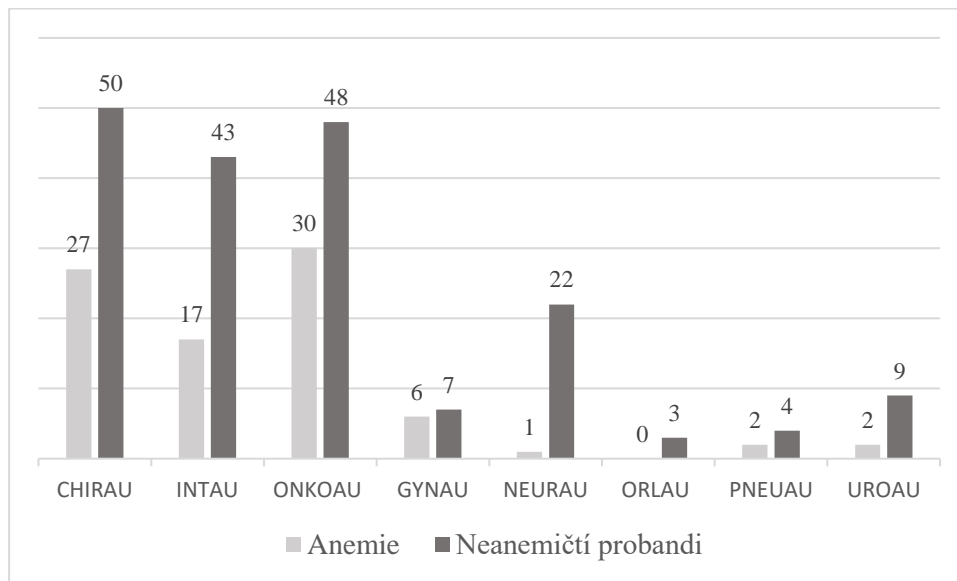
Stanovování hladin železa se provádí na oddělení klinické biochemie Nemocnice Hořovice. Využívá se při tom analyzátor Abbott ARCHITECT ci8200. Železo se stanovuje ze séra či plazmy ze vzorku heparizované či K<sub>3</sub>EDTA krve. Metodou stanovení je kolorimetrické stanovení bez deproteinace. V kyselém prostředí se železo odděluje od transferinu a pomocí reakce je vytvořen barevný komplex. Intenzita a hodnota zbarvení je úměrná hladině železa ve vzorku (Malcová M., 2016).

### ***9.7 Stanovení feritinu***

Pro stanovení feritinu se také používá analyzátor Abbott ARCHITECT ci8200. Používá se vzorek séra z odběru žilní krve. Do séra se přidá činidlo Quantina Ferritin. Toto činidlo obsahuje suspenzi polystyrenových latexových částic, které jsou potaženy feritinem. Částice v suspenzi činidla jsou stejně veliké. Po přidání činidla do vzorku dojde k aglutinaci, která se měří turbidimetricky. Hodnota feritinu se získává odečtením z kalibrační křivky, obsahující dané hodnoty feritinu (Malcová M., 2017).

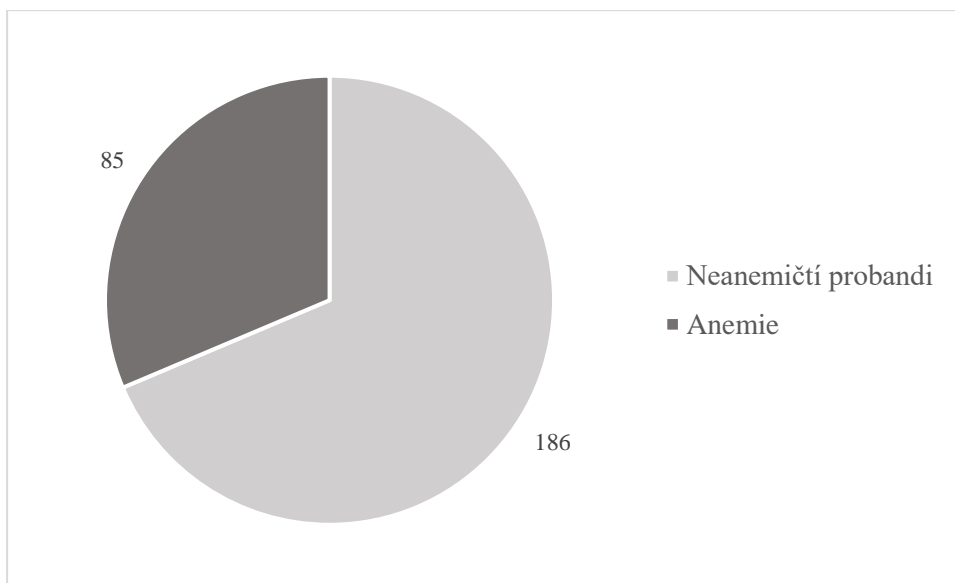
## 10. Výsledky

Data byla získána během praxe v Nemocnici Hořovice. Praxe byla sjednána přímo pro sběr a vypracování dat pro tuto bakalářskou práci. Bylo zpracováno 271 krevních vzorků. Krevní obrazy probandů pocházely z různých ambulancí, tak aby se vytvořila populace, která není zatížena předpokladem pro mikrocytární anemii (např. gastrointestinální ordinace, pacienti s vředy mají vyšší předpoklad pro sideropenickou anemii, způsobenou ztrátami). Počty pacientů z ambulancí jsou znázorněny v obrázku číslo 5 (viz níže).



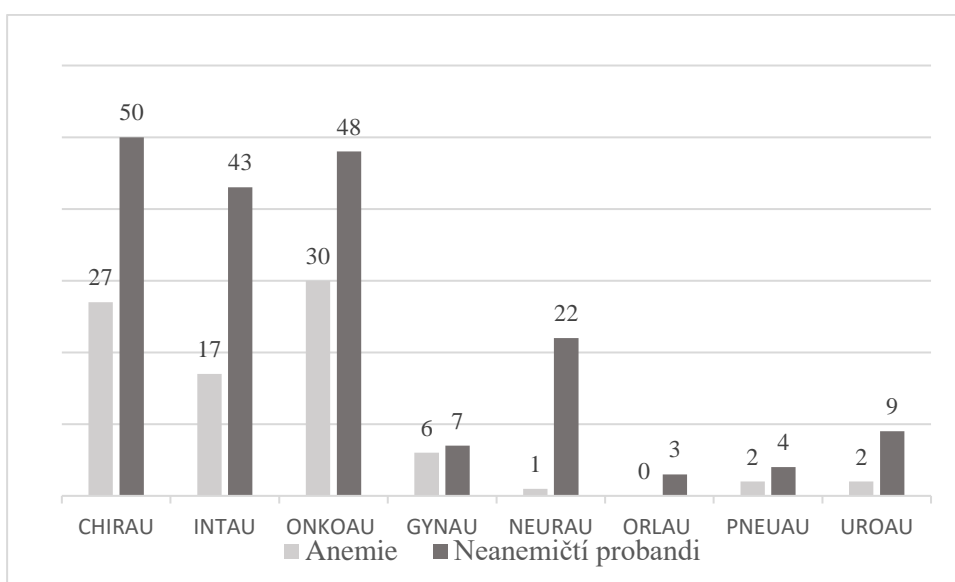
Obrázek 1: Graf počtů pacientů z ambulancí, rozděleno na typy ambulancí a podle pohlaví.

Z tohoto počtu probandů bylo třeba vyhodnotit, kolik probandů je anemických. Z 271 probandů bylo anemických 85 (tedy 31 % z celkového počtu probandů). Rozdělení pacientů bylo podle hladiny hemoglobinu, která byla získána z jejich krevních obrazů. Data bylo třeba rozdělit dle pohlaví, jelikož dolní hranice hodnot hemoglobinu se liší jak u mužů, tak u žen. Dolní hranice pro ženy byla 125 g Hb/l. Pro muže byla určena vyšší dolní hranice 135 g Hb/l. Na obrázku číslo 6 je vyobrazeno toto rozdělení (viz níže).



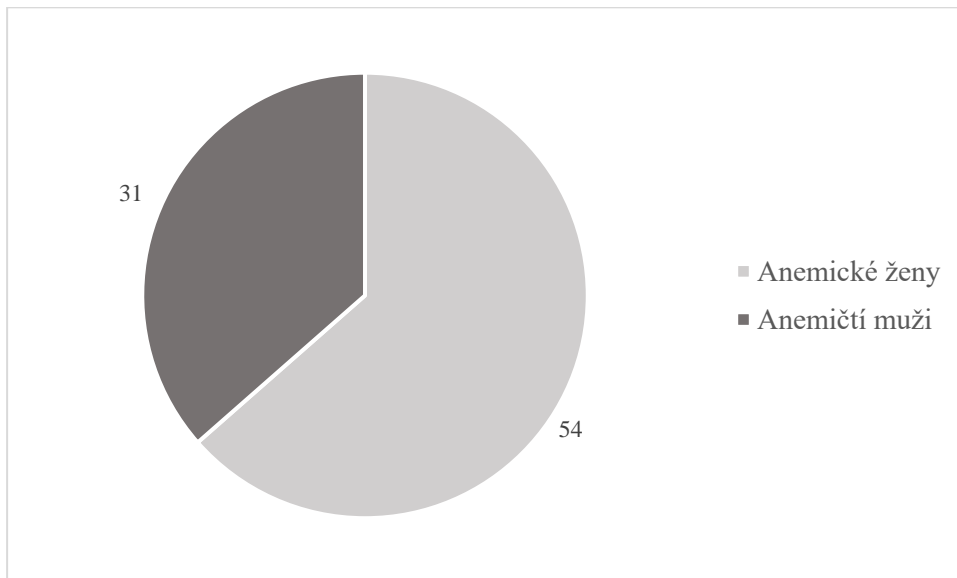
Obrázek 2: Rozdělení probandů na anemické a neanemické

Anemiční probandi byli dále rozděleni podle oddělení, které si krevní obraz vyžádalo. Nejvíce anemických probandů pocházelo z onkologické ambulance. Otorinolaryngologická ambulance neměla žádné anemické probandy. Nejvyšší procento anemických probandů mělo krevní obrázky vyžádané gynekologickou ambulancí, tedy 46 % z celkového počtu krevních obrazů probandů gynekologické ambulance. Počty anemických a neanemických probandů, rozdělených dle oddělení, jsou vyobrazeny v obrázku číslo 7 (viz níže).



Obrázek 3: Počty anemických probandů oproti neanemickým probandům dle oddělení

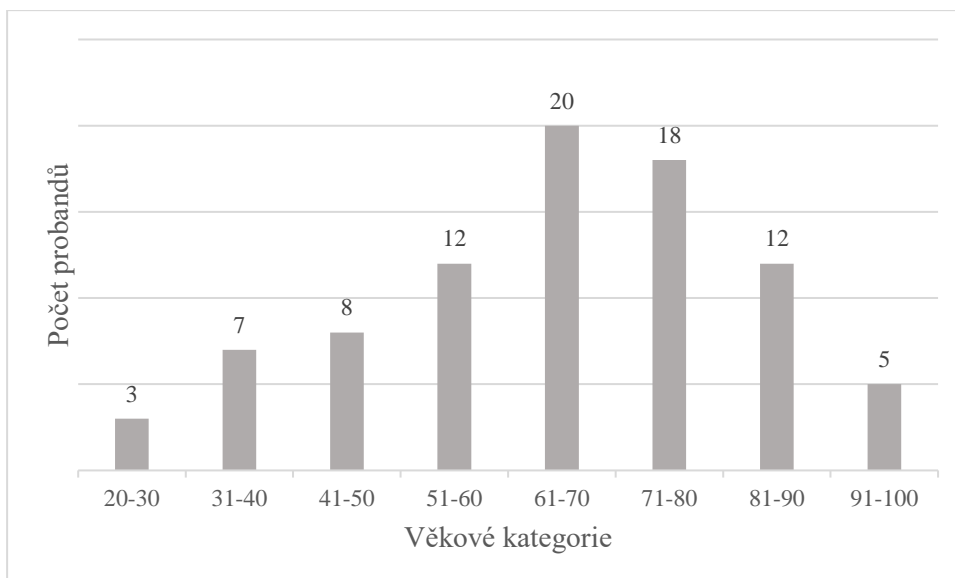
Dále je nutné vyjádřit kolik anemických probandů ze souboru bylo žen a kolik bylo mužů. Žen bylo 54 a mužů bylo 31. Takřka 64 % probandů bylo ženského pohlaví. Údaj o rozložení pohlaví v souboru anemických probandů je vyobrazen v obrázku číslo 8 (viz níže).



Obrázek 4: Graf rozdělení anemických probandů dle pohlaví

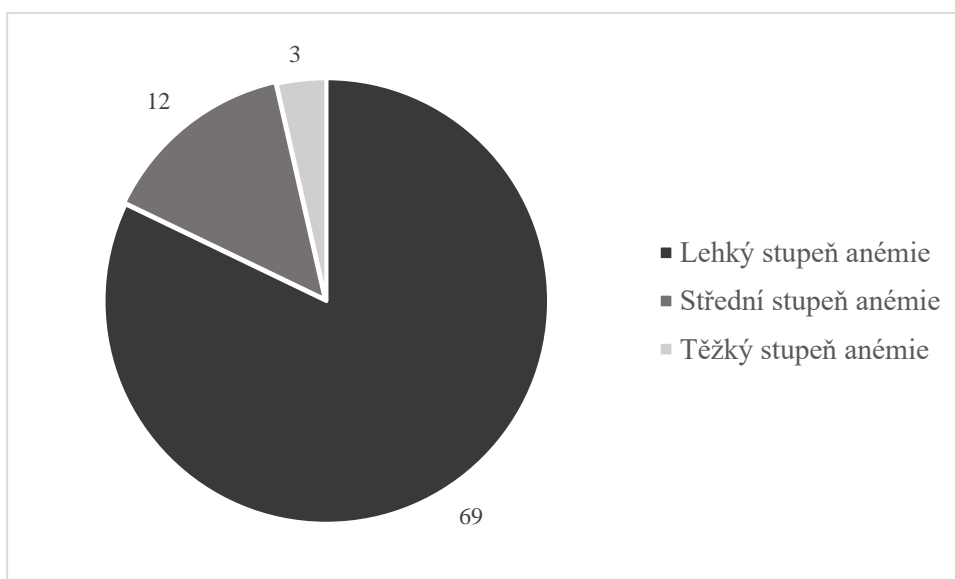
Soubor probandů byl velmi různorodý z hlediska věku, proto byli rozděleni do 8 věkových kategorií. Jelikož byly zpracovány krevní obrazy pouze z ambulancí, začínají věkové kategorie až u dospělých. Kategorie začínaly od nejmladšího probanda, kterému bylo 20 let. Probandi bylo dále rozděleni dekadicky (20-30, 31-40, 41-50, 51-60, 61-70, 71-80, 81-90, 91-100). Nejvíce byla zastoupena věková kategorie 61-70. Věková kategorie 61-70 tvořila takřka 24 % z celkového počtu probandů. Nejméně zastoupená byla kategorie 20-30, která tvořila pouhých 3,5 % z celkového počtu probandů. Rozdělení do věkových kategorií je zobrazeno v obrázku číslo 9 (viz níže).





Obrázek 5: Graf rozdělení anemických probandů dle věkových kategorií

Důležitým parametrem pro zhodnocení těchto dat je vyhodnocení závažnosti anémie dle hodnot hemoglobinu u anemických probandů. Lehký stupeň anémie byl vyjádřen hodnotou hemoglobinu u mužů od 135–100 g Hb/l a u žen 125–100 g Hb/l. Střední stupeň anémie byl vyjádřen hodnotou 100–70 g Hb/l. Těžký stupeň anémie byl vyjádřen hodnotou <70 g Hb/l. Těžký stupeň anémie mělo pouze 3,5 % probandů. Nejvíce zastoupený byl lehký stupeň anémie s cca 82 %. Probandi byli graficky rozřazeni v obrázku číslo 10 (viz níže).



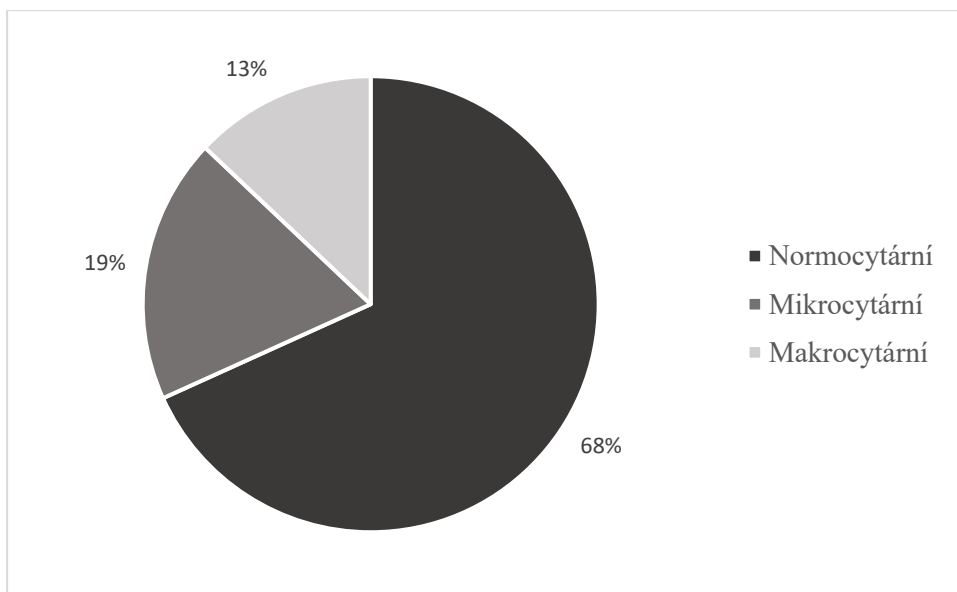
Obrázek 6: Graf anemických probandů rozdělených dle stupně anémie

Anemie je dále nutné rozdělit podle MCV na mikrocytární, makrocytární a normocytární. Toto morfologické rozlišení je důležité pro další diagnostiku probanda. Vyjádření těchto tří kategorií je uvedeno v tabulce II.

Mikrocytární	<85 fl
Normocytární	81-99 fl
Makrocytární	>100 fl

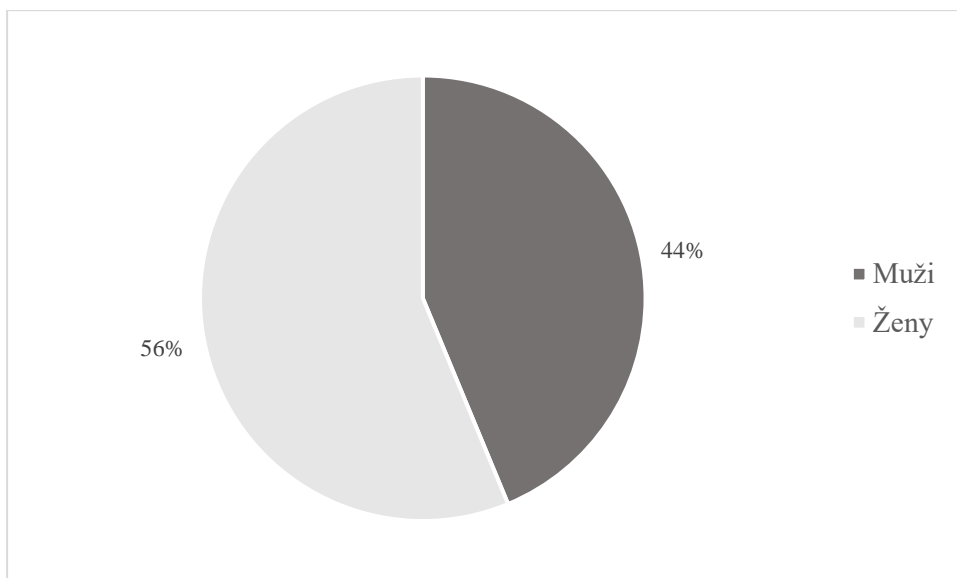
Tab. II: Rozdělení anemií dle MCV

Nejméně zastoupené byly makrocytární anemie, do této kategorie spadalo pouhých 11 probandů, tedy 13 % ze souboru anemických probandů. Nejvíce zastoupené byly normocytární anemie, které tvořily 76 % ze souboru anemických probandů. Procentuální zastoupení souboru na tyto vyjádřené kategorie je vyobrazeno v obrázku číslo 11 (viz níže).



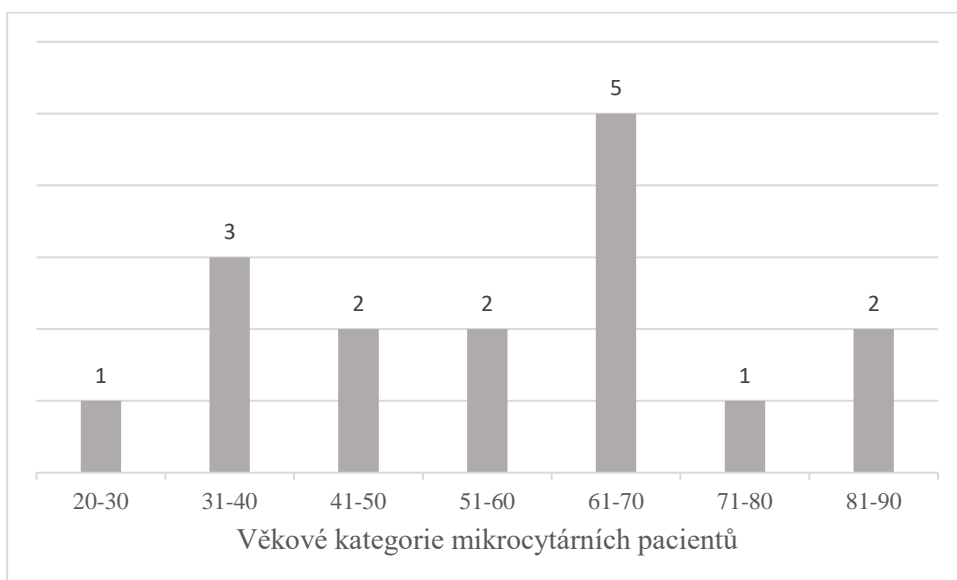
Obrázek 7: Graf rozdělení anemických probandů dle hladiny MCV

Podle rozdělených anemií byl vybrán soubor probandů s mikrocytární anemií. Tento soubor byl rozdělen podle pohlaví. Větší část souboru tvořily ženy, tvořily 56 % vytvořeného souboru. Žen bylo z hlediska počtu 9 a mužů 7. Mikrocytárních probandů tak bylo 16. Soubor byl rozdělen podle pohlaví a graficky zpracován do obrázku číslo 12 (viz níže).



Obrázek 8: Rozdělení souboru mikrocytárních probandů dle pohlaví.

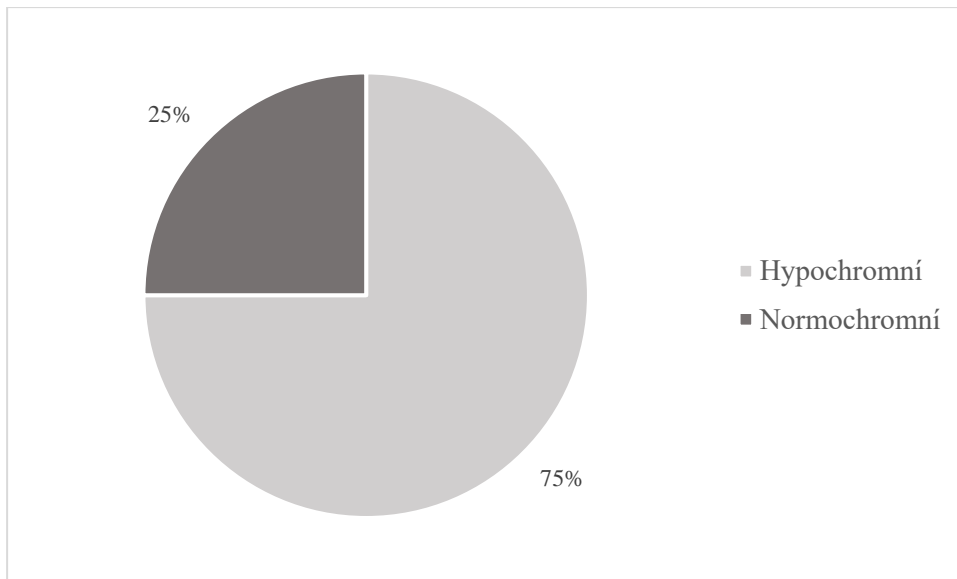
Soubor probandů s mikrocytární anémií byl dále rozdělen do věkových kategorií. Byly použity stejné věkové kategorie jako v případě obrázku číslo 9 (viz výše). Nejvíce zastoupena byla věková kategorie 61-70, která tvořila cca 31 % z celkového souboru. Naopak nejméně zastoupené byly věkové kategorie 20-30 a 71-80. Rozložení probandů ve věkových kategoriích je vypracováno v obrázku číslo 13 (viz níže).



Obrázek 9: Rozdělení souboru mikrocytárních probandů do věkových kategorií

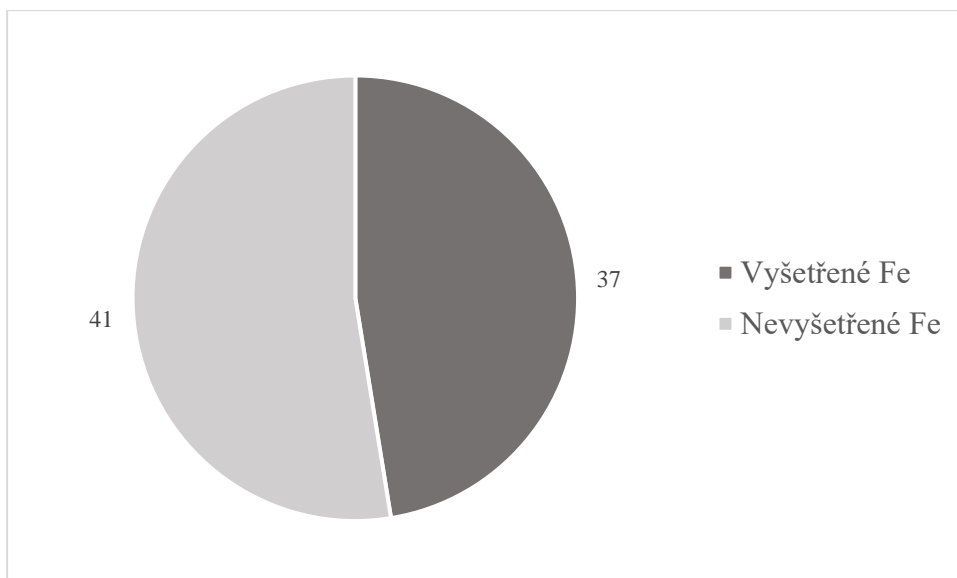
Tento soubor byl pak rozdělen podle hodnot MCH probandů. Probandi s MCH pod 28 pg byli zařazeni do hypochromní kategorie. Probandi s MCH mezi 28 až 34 pg byli zařazeni do normochromní kategorie. V souboru nebyli žádní probandi, kteří by spadali

do hyperchromní kategorie. Poměr hypochromních vůči normochromním probandům je zobrazen v obrázku číslo 14 (viz níže). Více probandů bylo hypochromních než normochromních. Poměr normochromních probandů vůči hypochromním byl 1:4.



Obrázek 10: Graf hypochromních a normochromních probandů v souboru

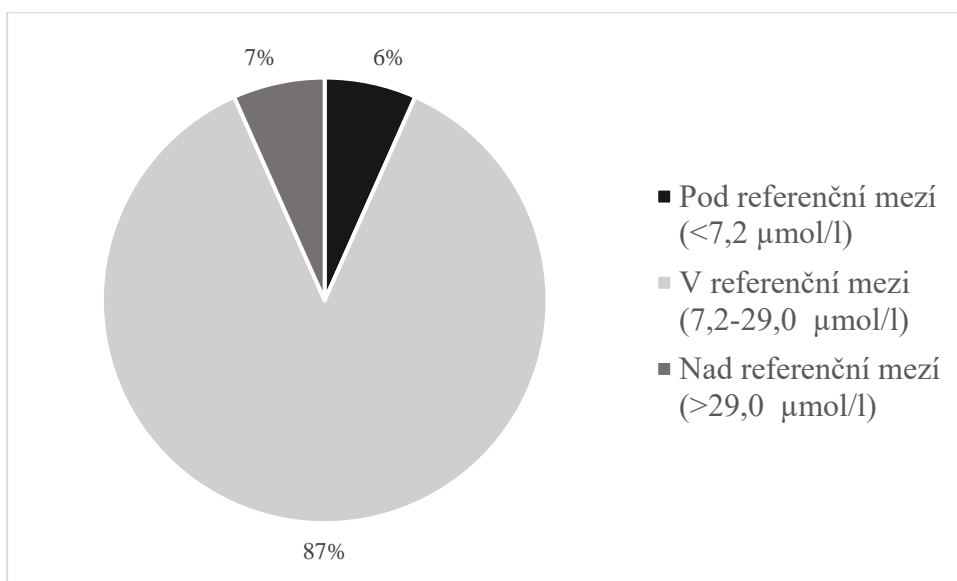
Pro vyhodnocení vyšetření železa a feritinu bylo třeba vytvořit nový soubor. Tento nový soubor probandů byl tvořen pouze probandy z onkologické ambulance. Vyšetření železa a feritinu se provádí v laboratoři biochemie Nemocnice Hořovice. Tato data byla pouze do dat této práce doplněna. Na železo bylo vyšetřeno cca 47 % probandů z onkologické ambulance. Podíl probandů vyšetřených a nevyšetřených na železo je znázorněn v obrázku číslo 15 (viz níže).



Obrázek 11: Podíl probandů vyšetřených a nevyšetřených na Fe

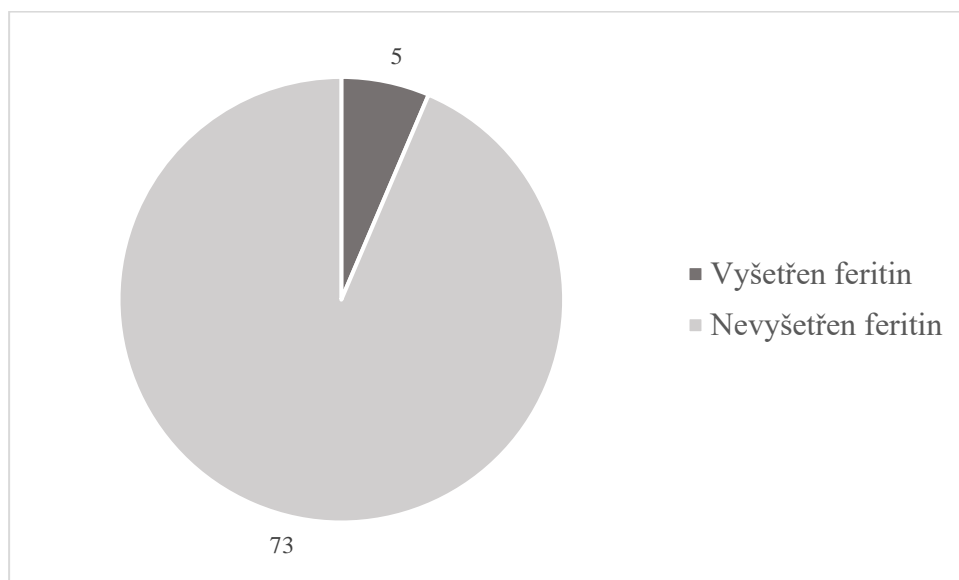
Soubor byl rozdělen na anemické probandy s vyšetřením na železo. Anemických probandů s vyšetřeným železem bylo 15, tedy 40 % anemických probandů onkologické ambulance. Zbytek souboru tvořili probandi, kteří sice měli vyšetřené železo, ale jejich krevní obrazy nevykazovaly náznaky anemie.

Anemičtí probandi z onkologické ambulance byli dále rozdělení dle referenční meze pro železo. Většina vyšetřených probandů byla v limitech referenční meze pro železo. Toto rozdělení byl vypracováno graficky do obrázku číslo 16 (viz níže).



Obrázek 12: Rozdělení anemických probandů z onkologické ambulance dle limitů referenční meze pro Fe

Onkologických probandů vyšetřených na feritin bylo mnohem méně. Ze souboru onkologických probandů tvořili pouhých 6 % (obrázek čís. 17, viz níže) a z celkového souboru dat tvořili 1,8 %. Všechny výsledky těchto vyšetření byly v referenčních mezích pro feritin. Probandi, kteří měli vyšetřený feritin, neměli anemické příznaky v krevním obrazu.



Obrázek 13: Onkologičtí probandi vyšetření na feritin vůči onkologickým probandům nevyšetřeným na feritin.

## 11. Diskuze

Světová zdravotnická organizace označuje anemii za nejčastější chorobný stav krve na světě. V roce 2011 dle statistik WHO trpělo anemií takřka 30 % světové populace (Penka a Slavičková, 2011). V roce 2019 tato statistika dle WHO klesla na 22,8 % světové populace a dále v roce 2021 se toto číslo opět navýšilo na 24,8 % a předpokládá se další nárůst. V praktické části této práce bylo prokázáno 31 % probandů s podezřením na anemii. Mezi statistikami této práce a statistickými odhady WHO nebyl markantní rozdíl, jelikož soubor probandů práce nebyl zatížen předpokladem pro toto onemocnění. Pokud bychom do souboru přidali probandy z ordinací, např. z gastroenterologické ordinace, došlo by k navýšení množství onemocněných probandů. Probandi, kteří pochází z ordinací mají předpoklad pro anemická onemocnění.

Na toto onemocnění má značný vliv také pohlaví probanda. Z hlediska rozložení probandů podle pohlaví je očividné, že v souboru jsou více zastoupeny ženy, jelikož často trpí anemií z chronických ztrát krve. Různé typy anemií se dále také projevují při menopauze a při těhotenství. Anemií trpělo takřka 20 % žen a 11 % mužů z celého souboru. Dle publikace Vydra 2015 trpí v rozvinutých zemích anemií 8 % žen a 4 % mužů. Podíl onemocnění mezi pohlavími je takřka o polovinu vyšší u žen jak ve zmíněné publikaci, tak v této práci. Vyšší podíl nemocných probandů, lze přisoudit k nízkému počtu vzorků v této práci, a tak nelze tuto statistiku přisoudit k celé populaci.

Výskyt anemií se rapidně zvyšuje s věkem. Rostoucí věk je provázen polymorbiditou a stárnutím až depresí organismu. U populace starší 80 let je její výskyt až 31 % (Stauder et al., 2014). Při rozboru anemických probandů dle věku bylo takřka 20 % probandů ve věku nad 80 let. Takto nízký počet byl zapříčiněn nízkým počtem probandů v této věkové kategorii. Pokud se věková kategorie rozšíří pro probandy nad 61 let až 100 let, tak získáme mnohem vyšší procentuální zastoupení nemocných, takřka 65 % z celkového počtu probandů s podezřením na anemické onemocnění. Zastoupení starších věkových kategorií je zapříčiněno větší nemocností probandů, a tedy vyšší nutností k návštěvě ambulantních zařízení.

Z hlediska morfologického rozdělení anemií se nejčastěji vyskytují normocytární anemie. Naopak nejméně častá je makrocytární anemie. Mikrocytární anemie jsou prevalentní u dětí a u žen v reprodukčním věku. Podíl normocytárních anemií v populaci se naopak zvyšuje s věkem a je zde i vyšší výskyt u mužů a žen po menopauze (Alvarez-

Uria et al., 2014). Při výběru souboru této práce byly vynechány děti, tj. dětská ambulance a neonatologie, jelikož u dětí se vyskytují různé patologie krvetvorby a lze pozorovat nedovyvinutou krvetvorbu. V souboru byl také vysoký podíl probandů s podezřením na makrocytární anemii. Většina těchto probandů pocházela z onkologické ambulance. U probandů z onkologické ambulance byl předpoklad na občasný výskyt anemií chronických chorob, ta však nebyla zachycena. Probandi naopak měli laboratorní projevy makrocytárních anemií, což lze přisoudit následkům léčby či dané onkologické diagnózy.

Mikrocytárními anemiemi jsou nejčastěji postiženy ženy. Až 41 % případů tvoří těhotné ženy a 30 % případů tvoří ženy ve fertilním věku. Zbytek případů tvoří muži a děti (Chaudhry a Kasarla, 2021). V souboru této práce bylo 56 % žen a 44 % mužů s podezřením na mikrocytární anemii. Podíl mužů a žen byl tedy takřka 1:1, což lze vysvětlit tím, že v souboru probandů nebyly zahrnuty vzorky z těhotenské poradny, porodnice a gynekologie (pouze její ambulantní forma). Nezapočítání těchto specifických probandů způsobilo náhodný záchyt anemií, a tak výsledek tohoto pozorování byl tímto ovlivněn.

Na základě vyšetření železa, transferinu a feritinu byl předpokládán záchyt specifických mikrocytárních onemocnění. Vyšetření transferinu a feritinu pro tuto práci nemělo diferenciálně diagnostický význam, jelikož bylo v příliš nízkém měřítku a také nebylo provedeno u probandů s předpokladem anemie. Tato vyšetření byla zpracována laboratoří biochemie Nemocnice Hořovice, tudíž byly odděleny od laboratoře hematologie Nemocnice Hořovice, kde tato práce byla vypracována. Všechna vyšetření železa, transferinu a feritinu pochází z požadavků onkologické ambulance.

Nedostatkem železa, tj. sideropenickou anemií, trpí takřka 9 % populace (Badireddy a Baradhi, 2021). Na základě vyšetření železa byl zachycen pouze jeden proband, který vykazoval známky insuficience. Takto nízký záchyt je způsoben nedostatkem vyšetřených anemických probandů. Z hlediska hypochromie, která může vykazovat insuficienci železa či hemoglobinu v erytrocytu, byl záchyt mnohem vyšší. Probandi byli rozděleni dle hodnot MCV z jejich krevních obrazů na normochromní a hypochromní. Hypochromní probandi tvořili čtvrtinu probandů s předpokládanou mikrocytární anemií.



## 12. Závěr

Cílem této práce bylo zjistit frekvenci anemií v náhodné populaci a dále diagnostikovat mikrocytární anemie. Bylo zapotřebí zpracovat biologický materiál probandů a vyhodnotit jejich krevní obrazy. Krevní obrazy bylo dále nutné doplnit o hodnoty železa, transferinu a feritinu. Tyto hodnoty bylo obtížné získat, jelikož soubor probandů byl z ambulantních ordinací. To zapříčinilo, že ne u všech probandů byla tato vyšetření vyžádané. Všechna získaná data byla využita pro diagnostiku mikrocytárních anemií.

Během zpracování dat bylo stanoveno několik předpokladů. Prvním předpokladem bylo, že výskyt probandů s anemií bude více než 30 %. Tento předpoklad, byl založen na průzkumech WHO. První předpoklad byl potvrzen. Druhým předpokladem bylo, že probandi z onkologické ambulance budou více postiženi anemií chronických chorob. Tento předpoklad nebyl potvrzen a probandi naopak vykazovali známky makrocytárních anemií. Dále byl stanoven cíl, kterým bylo potvrdit vyšší výskyt sideropenické anemie u mikrocytárních probandů než ostatních typů mikrocytárních onemocnění. Jelikož byl získán nedostatečný počet vyšetření železa, transferinu a feritinu, nebylo možné diferenciatně diagnostikovat sideropenickou anemii. Bylo pouze možné předpokládat insuficienci železa ze známek hypochromie erytrocytů z krevního obrazu.

Výsledky této práce mohou být přínosem pro diagnostiku, průzkum a léčbu pacientů s nediodagnostikovanou anemií.

## Seznam použitých zdrojů

1. ADAM, Z., VORLÍČEK, J., c2007. *Hematologie pro praktické lékaře*. Praha: Galén. ISBN 978-80-7262-453-9.
2. ALVAREZ-URIA, G., NAIK, P.K., MIDDE, M., YALLA, P.S., PAKAM, R., 2014. Prevalence and Severity of Anaemia Stratified by Age and Gender in Rural India. *Anemia* [online]. 2014, 1-5 [cit. 2022-2-9]. DOI: 10.1155/2014/176182. ISSN 2090-1267.
3. ANDĚL, M., KOZÁK, T., c2001. *Vnitřní lékařství*. Praha: Karolinum. Scripta. ISBN 80-726-2085-1.
4. ASADOV, C. et al., 2018. B-Thalassemia intermedia: a comprehensive overview and novel approaches. *International Journal of Hematology* [online]. 108(1), 5-21 [cit. 2021-10-20]. DOI: 10.1007/s12185-018-2411-9. ISSN 0925-5710.
5. BADIREDDY, H.S., BARADHI, K.M., 2021. *Chronic Anemia*. [online]. NCBI. Treasure Island (FL): StatPearls publishing [cit. 2022-2-10].
6. BERRY, J., *What is microcytic anemia?* [online]. Medical News Today. 22. srpna 2017 [cit. 2021-10-6].
7. BINDER, T., SALAJ, P., VAVŘINKOVÁ, B., 2004. *Hematologické nemoci a poruchy v porodnictví a gynekologii*. V Praze: Triton. ISBN 80-7254-540-x.
8. CARLOS, A.M. et al., 2018. Causes of microcytic anaemia and evaluation of conventional laboratory parameters in the differentiation of erythrocytic microcytosis in blood donors candidates. *Hematology* [online]. 23(9), 705-711 [cit. 2021-10-12]. DOI: 10.1080/10245332.2018.1446703. ISSN 1607-8454.
9. CHAPARRO, C.M., SUCHDEV, P.S., 2019. Anemia epidemiology, pathophysiology, and etiology in low- and middle-income countries. *Annals of the New York Academy of Sciences* [online]. [cit. 2021-10-12]. DOI: 10.1111/nyas.14092. ISSN 0077-8923.
10. CHAUDHRY, H.S., KASARLA, M.R., 2021. *Microcytic Hypochromic Anemia*. [online]. NCBI. Treasure Island (FL): StatPearls publishing, 26.8.2021 [cit. 2022-2-10].
11. DOBROTOVÁ, M., KUBISZ, P., 2006. *Hematológia a transfuziológia: učebnica*. Praha: Grada. ISBN 80-8090-000-0.
12. *Dorland's illustrated medical dictionary: over 100 years in print*, 2003. 30th ed. Philadelphia, Pa.: Saunders. ISBN 0-7216-0146-4.

13. FARID, Y., BOWMAN, N., LECAT, P., *Biochemistry, Hemoglobin Synthesis*. [online]. NCBI. StatPearls, 2021 [cit. 2021-10-6]
14. GALANELLO, R., ORIGA, R., 2010. Beta-thalassemia. *Orphanet Journal of Rare Diseases* [online]. 5(1) [cit. 2021-10-12]. DOI: 10.1186/1750-1172-5-11. ISSN 1750-1172.
15. GOLDEN, J.P., JUSTIN, G.A., NASIR, M., LIGLER, F.S., 2012. Hydrodynamic focusing—a versatile tool. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. 402(1), 325-335 [cit. 2021-10-13]. DOI: 10.1007/s00216-011-5415-3. ISSN 1618-2642.
16. INDRÁK, Karel, ed. *Hematologie a transfuzní lékařství*. V Praze: Triton, 2014. Lékařské repetitorium. ISBN 978-80-7387-722-4.
17. KENNELLY, P., RODWELL, V., 2012. Proteiny myoglobin a hemoglobin. In: MURRAY, R., BENDER, D., BOTHAM, K., KENNELLY, P., RODWELL, V., WEIL, P. *Harperova Ilustrovaná Biochemie*. Dvacáté osmé vydání. Praha: Galén, s. 47-55. ISBN 978-80-7262-907-7.
18. KING, T.C., 2007. Genetic and Perinatal Disease. In: *Elsevier's Integrated Pathology* [online]. Elsevier, 2007, s. 89-110 [cit. 2021-10-6]. DOI: 10.1016/B978-0-323-04328-1.50010-3. ISBN 9780323043281.
19. MALCOVÁ, M., 2016. *Stanovení látkové koncentrace celkového železa (čínidlem Ferrene) fotometricky na analyzátoru Architect ci8200*. Nemocnice Hořovice.
20. MALCOVÁ, M., 2017. *Stanovení hmotnostní koncentrace ferritinu turbidimetricky na analyzátoru Architect ci8200*. Nemocnice Hořovice.
21. MARENCO-ROWE, A.J., 2017. Structure-Function Relations of Human Hemoglobins. *Baylor University Medical Center Proceedings* [online]. 19(3), 239-245 [cit. 2021-10-6]. DOI: 10.1080/08998280.2006.11928171. ISSN 0899-8280.
22. MASSEY, A.C., 1992. Microcytic anemia: Differential Diagnosis and Management of Iron Deficiency Anemia. *Medical Clinics of North America* [online]. 76(3), 549-566 [cit. 2021-10-6]. DOI: 10.1016/S0025-7125(16)30339-X. ISSN 00257125.
23. MCKINNON, K.M., 2018. Flow Cytometry: An Overview. *Current Protocols in Immunology* [online]. 120(1) [cit. 2021-10-13]. DOI: 10.1002/cpim.40. ISSN 1934-3671.

24. MEREDITH, J.L., ROSENTHAL, N.S., 1999. Differential Diagnosis of Microcytic Anemias. *Laboratory Medicine* [online]. 30(8), 538-542 [cit. 2021-10-6]. DOI: 10.1093/labmed/30.8.538. ISSN 0007-5027.
25. MOUREK, J., VELEMÍNSKÝ, M., ZEMAN, M., 2013. *Fyziologie, biochemie a metabolismus pro nutriční terapeutu*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. ISBN 978-80-7394-438-4.
26. PECKA, M., BLÁHA, M., 2010. *Praktická hematologie: laboratorní metody*. Český Těšín: Infiniti art. ISBN 978-80-903-8719-5.
27. PECKA, Miroslav. *Laboratorní hematologie v přehledu*. Český Těšín: FINIDR, 2006. ISBN 80-86682-02-1.
28. *Pediatric pro praxi*: SMÍŠEK P., Diferenciální diagnostika anémie, s. 330-333, č. 15(6) [online], Olomouc: Solen, 2014(čís. 15) [cit. 2021-10-7]. ISSN 1213-0494.
29. PENKA, Miroslav. *Hematologie*. Praha: Grada, 2001. ISBN 80-247-0023-9.
30. PENKA, M., SLAVÍČKOVÁ, E., 2011. *Hematologie a transfuzní lékařství*. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-3459-0.
31. POSPÍŠILOVÁ, D. *Anémie chronických chorob ve světle nových poznatků*. *Pediatric pro Praxi*. 2007, 8(5), 276-280.
32. RACEK, J., c2006. *Klinická biochemie. 2.*, přeprac. vyd. Praha: Galén. ISBN 80-7262-324-9.
33. RODAK, B., CARR, J., 2017. *Clinical Hematology Atlas*. Páté vydání. St. Louis, Missouri: Elsevier. ISBN 978-0-323-32249-2.
34. ROSINA, J., NAVRÁTIL, L., ed., 2000. *Lékařská biofyzika*. Praha: Manus. ISBN 80-902318-5-3.
35. ROSINA, J., VRÁNOVÁ, J., KOLÁŘOVÁ, H., STANEK, J., 2013. *Biofyzika: pro zdravotnické a biomedicínské obory*. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-4237-3.
36. SAHOVIC, S., VUKOBRATBIJEDIC, Z., SAHOVIC, V., 2012. Importance of Sideropenic Anemia in the Diagnosis of Gastrointestinal Tract Tumors. *Materia Socio Medica* [online]. 24(2) [cit. 2021-10-6]. DOI: 10.5455/msm.2012.24.81-83. ISSN 1512-7680.

37. SEEGMILLER, Adam C. a Mary Ann THOMPSON. *Hematology and immunology*. New York: Demos Medical, c2014. Diagnostic standards of care. ISBN 978-1-62070-033-4.
38. STAUDER, R., BACH, V., SCHRUCKMAYR, G., SAM, I., KEMMLER, G., Prevalence and possible causes of anemia in the elderly: a cross-sectional analysis of a large European university hospital cohort. *Clinical Interventions in Aging* [online]. [cit. 2022-2-9]. DOI: 10.2147/CIA.S61125. ISSN 1178-1998.
39. SVAČINA, Štěpán. *Poruchy metabolismu a výživy*. Praha: Galén, c2010. ISBN 978-80-7262-676-2.
40. VÁCHOVÁ, Z., PŘIBYLOVÁ, Z., MALCOVÁ, M., 2017. *Mikroskopická analýza nátěru periferní krve*. Nemocnice Hořovice.
41. VÁCHOVÁ, Z., PŘIBYLOVÁ, Z., MALCOVÁ, M., 2020. *Obsluha Allinity hq*. Nemocnice Hořovice.
42. VYDRA, Jan a Petr CETKOVSKÝ. *Hematologie v kostce*. Praha: Mladá fronta, 2015. Aeskulap. ISBN 978-80-204-3698-6.
43. WALDVOGEL-ABRAMOWSKI, S. et al., 2014. Physiology of Iron Metabolism. *Transfusion Medicine and Hemotherapy* [online]. 41(3), 213-221 [cit. 2021-10-6]. DOI: 10.1159/000362888. ISSN 1660-3796.
44. WEATHERALL, D., 2005. Beginnings: the molecular pathology of hemoglobin. In: PROVAN, D., GRIBBEN, J.G. *Molecular Hematology*. Druhé vydání. Massachusetts: Blackwell Publishing, s. 1-17. ISBN 1-4051-1255-7.
45. WEATHERALL, D., 2016. The Thalassemias: Disorders of Globin Synthesis. In: KAUSHANSKY, K., PRCHAL, J., PRESS, O., LICHTMAN, M., LEVI, M., BURNS, L., CALIGUIRI, M. *Williams Hematology*. Deváté vydání. New York, Chicago, San Francisco, Athens, London, Madrid, Mexico City, Milan, New Delhi, Singapore, Sydney, Toronto: McGraw-Hill Education, s. 725-758. ISBN 978-0-07-183301-1.
46. YIANNIKOURIDES, A., LATUNDE-DADA, G., 2019. A Short Review of Iron Metabolism and Pathophysiology of Iron Disorders. *Medicines* [online]. 6(3) [cit. 2021-10-6]. DOI: 10.3390/medicines6030085. ISSN 2305-6320.
47. YUEN, H.W., BECKER, W., 2021. *Iron Toxicity*. [online]. NCBI. StatPearls, 25.7.2021 [cit. 2021-10-13].

## Seznam zkratk

WHO	Světová zdravotnická organizace (World Health Organisation)
MCV	Střední objem erytrocytu (mean corpuscular volume)
MCH	Střední obsah hemoglobinu v erytrocytu (mean corpuscular hemoglobin)
MCHC	Střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu (mean corpuscular hemoglobin concentration)
RDW	Distribuční šíře erytrocytu (red cell distribution width)
RI	Retikulární index
FPN1	Ferroportin, transportní enzym
IRPs	Regulační protein železa (iron regulation proteins)
IREs	Regulační gen (iron responsive elements)
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
mRNA	Přenašečová (messenger) ribonukleová kyselina
HbA	Adultní hemoglobin
HbF	Fetální hemoglobin
HbA2	Adultní hemoglobin druhého typu
HbS	Hemoglobin vyskytující se u srpkovité anemie
LIS	Laboratorní informační systém
ID	Identifikační označení
K <sub>3</sub> EDTA	Sodná sůl kyseliny ethylendiamintetraoctové
NEU	Neutrofil
LYM	Lymfocyty
MONO	Monocyty
EOS	Eozinfil
BASO	Bazofil

IG	Mladé formy granulocytů
RBC	Erytrocyty
HCT	Hematokrit
HGB	Hemoglobin
PLT	Množství trombocytů
MPV	Střední objem trombocytů
RETIC	Absolutní počet retikulocytů
IRF	Frakce nezralých retikulocytů
MCHr	Množství hemoglobinu v erytrocytu
NRBC	Počet normoblastů