



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Studies

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

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zdravotně sociální fakulta
Ústav laboratorní diagnostiky a veřejného zdraví

Bakalářská práce

Anémie se zaměřením na makrocytární anémie

Vypracoval: Edita Šťastná
Vedoucí práce: MUDr. Ivan Vonke MBA

České Budějovice 2016

Abstrakt

Obsahem mé bakalářské práce jsou makrocytární anémie. Zabývám se celkovou problematikou anémií, jelikož se jedná o rozšířené onemocnění. Jednotlivé anémie rozdělují podle MCV na mikrocytární, normocytární a makrocytární. Dále se věnuji pouze tématu makrocytárních anémií. Makrocytární anémie nepatří mezi často se vyskytující anémie. Mezi hlavní příčiny vzniku makrocytózy patří deficit kyseliny listové a vitamínu B12. Ve své práci pracuji se souborem pacientů, kteří měli vyšetřený krevní obraz za období jednoho měsíce v Nemocnici České Budějovice a.s.. U těchto pacientů jsem zjišťovala frekvenci výskytu anémií, které jsem dále rozdělila podle MCV a zaměřila se na anémie makrocytární. Pracovala jsem s automatizovaným analyzátozem Unicel DxH 800 Beckman Coulter. U 12 % ze všech pacientů byla zjištěna makrocytární anémie. Výskyt tohoto onemocnění jsem pozorovala ve větším počtu případů u mužů a převážně ve věkové kategorii pacientů starších 50 let. U všech anemických pacientů jsem sledovala závažnost onemocnění. Většina pacientů byla vyšetřována pro lehký stupeň anémie popřípadě stupeň středně těžký, těžké případy pouze vyjíměčně. Poté jsem u jednotlivých pacientů, kteří trpí makrocytární anémií, dohledala, zda bylo provedeno biochemické vyšetření vitamínu B12 a kyseliny listové pomocí ADVIA analyzátoru. Zjistila jsem, že pouze u 12 % v případě vitamínu B12 a pouze 11 % v případě kyseliny listové, bylo dodatečné vyšetření k odhalení příčiny provedeno. Zajímalo mě, proč dané parametry nejsou vyšetřovány, sledovala jsem tedy na jakých odděleních tyto dva nejčastější deficity vyšetřují, a zda existuje spojitost mezi četností požadavků na toto vyšetření spolu s hodnotou MCV či závažností anémie. Na základě mých výsledků jsem zjistila, že v případě makrocytárních anémií často nedochází k hledání příčiny onemocnění a tím se snižuje i efektivita léčby.

Klíčová slova

makrocytární anémie
megaloblastová anémie
vitamin B12
kyselina listová

Abstract

The content of my thesis are macrocytic anaemia. I deal with overall issues of anaemia because it is a widespread disease. According to MCV, I divided individual anaemia into microcytic, normocytic and macrocytic. Then I focused only on the topic of macrocytic anaemia. Macrocytic anaemia is not a frequently occurring type of anaemia. The main causes of macrocytosis include deficiency of folic acid and vitamin B12. I worked with a group of patients, who had examined blood counts for one month in the hospital České Budějovice a. s. In these patients, I examined the frequency of anaemia, which I further divided by MCV into microcytic, normocytic and macrocytic. Then I focused on the macrocytic anaemias. I worked with an automated hematology analyzer Unicel DxH 800 Beckman Coulter. In 12 % of all patients was detected macrocytic anaemia. According my observing, this disease appears more often with men and mostly in the age of 50 and older. In all cases I observed severity of this illness. Majority of patients was examined either for mild degree, or for moderate degree of anaemia. Severe cases were only rare. After that I traced back, if causes of macrocytosis were examined in cases, when patient suffer from anaemia. I worked with ADVIA analyzer and I found out that only 12 % patients were examined for vitamin B12 deficiency and only 11 % were examined for folic acid deficiency. I was wondering, why these parameters weren't examined. I watched therefore, which department examine these two parameters and if there is a connection between frequency of requests for this examination, together with the value of MCV or severity of anaemia. Based on my results, I realized that in cases of macrocytic anaemia often no search was done and that reduces the effectiveness of treatment.

Key words

macrocytic anaemia

megaloblastic anaemia

vitamin B12

folic acid

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracoval(a) samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených 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 – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných fakultou – elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich 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 kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 3.5. 2016

.....

Edita Šťastná

Poděkování

Chtěla bych poděkovat především vedoucímu své bakalářské práce panu MUDr. Ivanu Vonkemu za jeho ochotu, cenné rady, připomínky a především trpělivost. Zároveň bych chtěla poděkovat laborantkám z oddělení Klinické hematologie Nemocnice České Budějovice a.s. za ochotu a spolupráci.

Obsah

Úvod.....	9
1 Anémie	10
1.1 Výskyt	11
1.2 Diagnostika	12
1.2.1 Anamnéza.....	12
1.2.2 Klinické příznaky	12
1.2.3 Laboratorní diagnostika	14
2 Dělení anémií.....	16
2.1 Morfologické dělení	16
2.2 Etiopatogenetické dělení	16
2.2.1 Anémie z nedostatečné tvorby erytrocytů	17
2.2.2 Anémie z akutní a chronické ztráty krve	17
2.2.3 Anémie ze zvýšené destrukce erytrocytů	18
2.2.4 Anémie z kombinovaných příčin	18
3 Makrocytární anémie.....	19
4 Megaloblastové anémie	20
4.1 Definice	20
4.2 Výskyt	20
4.3 Etiopatogeneze	20
4.4 Klinické projevy	21
5 Megaloblastové anémie z nedostatku vitamínu B12.....	22
5.1 Vitamin B12.....	22
5.1.1 Zdroj vitamínu B12	23
5.1.2 Metabolismus vitamínu B12.....	23
5.1.3 Deficit vitamínu B12	23
5.1.4 Výskyt deficitu vitamínu B12.....	25
5.2 Perniciózní anémie.....	25
5.2.1 Epidemiologie	25

5.2.2	<i>Etípatogeneze</i>	26
5.2.3	<i>Klinické projevy</i>	26
5.2.4	<i>Diagnostika</i>	27
6	Megaloblastové anémie z nedostatku kyseliny listové.....	28
6.1	<i>Kyselina listová</i>	28
6.1.1	<i>Zdroj kyseliny listové</i>	28
6.1.2	<i>Metabolismus kyseliny listové</i>	29
6.1.3	<i>Deficit kyseliny listové</i>	29
6.1.4	<i>Výskyt deficitu kyseliny listové</i>	30
7	Nonmegaloblastové anémie.....	31
8	Cíle práce a hypotézy.....	32
8.1	<i>Cíle</i>	32
8.2	<i>Hypotézy</i>	32
9	Metodika.....	33
9.1	<i>Příjem materiálu</i>	33
9.2	<i>Stanovení krevního obrazu</i>	34
9.2.1	<i>Princip metody</i>	34
9.3	<i>Zhotovení krevního nátěru</i>	35
9.4	<i>Stanovení vitamínu B12</i>	36
9.4.1	<i>Princip metody</i>	36
9.5	<i>Stanovení kyseliny listové</i>	37
9.5.1	<i>Princip metody</i>	37
10	Výsledky.....	38
11	Diskuze.....	50
12	Závěr.....	54
13	Seznam použitých zdrojů.....	55

Seznam použitých zkratek

CBC analýza – kompletní krevní obraz (Complete blood count)

CNS – centrální nervová soustava

DNA - deoxyribonukleová kyselina

DTT - dithiotreitol

EPO – erytropoetin

Hb - hemoglobin

HCT - hematokrit

HIV - virus získané imunitní nedostačivosti (Human Immunodeficiency Virus)

HoloTC - holotranscobalamin

IF - vnitřní faktor (Intrinsic factor)

i.m. – intramuscular

K₃EDTA - sodná sůl kyseliny ethyléndiamintetraoctové

LDH - laktátdehydrogenáza

LIS – laboratorní informační systém

MCH – střední obsah hemoglobinu v erytrocytu (Mean corpuscular hemoglobin)

MCHC – střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu (Mean cell hemoglobin concentration)

MCV – střední objem erytrocytu (Mean corpuscular volume)

p.o. – per os

RBC – erytrocyty

RDW – šíře distribuce erytrocytů (Red cell distribution width)

RNA – ribonukleová kyselina

THF – tetrahydrofolát

TRN – oddělení tuberkulózy a respiračních nemocí

WHO – Světová zdravotnická organizace (World Health Organization)

Úvod

Tématem mé bakalářské práce jsou makrocytární anémie. Toto téma jsem si vybrala z důvodu, že se anémie stávají celosvětovým problémem. Jedná se o rozšířené onemocnění, které může být způsobeno mnoha příčinami. Anémie se často rozdělují podle MCV, jedná se o hodnotu středního objemu erytrocytu. Já jsem se ve své práci zaměřila na anémie při kterých dochází ke zvětšování červených krvinek, zvyšování MCV a tedy vzniku makrocytózy. Makrocytární anémie mají mnoho různých příčin, z nichž i ty nejčastější příčiny jsou v počtu výskytu velmi nízké. Mezi typické příčiny makrocytózy patří především deficit vitamínu B12 nebo kyseliny listové. O frekvenci a zastoupení dalších příčin vzniku makrocytózy u anémií není příliš známo.

Zaměřila jsem se na zjišťování frekvence výskytu anémií a dále na zjišťování frekvence výskytu anémií makrocytárních. U těchto forem jsem se zaměřila na nejčastější příčiny vzniku a zároveň na jejich vyšetřování.

1 Anémie

Anémie neboli chudokrevnost je stav, kdy dochází k poklesu hladiny hemoglobinu v organismu pod stanovenou normu, v důsledku které dochází ke snížení schopnosti okysličování tkání. (Brančíková, 2012) Anémie patří mezi nejčastěji se vyskytující chorobné stavy v celosvětovém měřítku, postihují téměř třetinu populace. (Bulíková, 2011) Anémie mohou být způsobeny řadou chorobných stavů. Primární, avšak podle četnosti výskytu pouze minoritní příčinou, bývá porucha kostní dřeně a krvinek. Častěji dochází ke vzniku anémie v důsledku jiného onemocnění. Podle Stibůrka se jedná především o důsledek nedostatečné a špatné výživy. (Stibůrek, 2010)

Pro definování anémie je rozhodující hladina hemoglobinu, počet erytrocytů není pro diagnostiku anémií podstatný, jelikož u některých typů anémií nemusí docházet ke snížení počtu erytrocytů, naopak někdy může docházet i ke zvýšenému počtu erytrocytů. (Penka, 2001)

Mezi nejčastější příčiny vzniku anémie patří nedostatek železa, který podle WHO postihuje až 50% pacientů s anémií. (WHO, 2015)

Tab. 1 Normální hodnoty červeného krevního obrazu u dospělých

Veličina	Muži	Ženy
Hemoglobin (Hb)	135-175 g/l	120-160 g/l
Hematokrit (HCT)	40-52 %	35-75%
Erytrocyty (RBC)	4,3-5,7 x 10 ¹² /l	3,9-5,3 x 10 ¹² /l
Střední objem erytrocytu (MCV)	85-98 fl	
Střední množství hemoglobinu v jednom erytrocytu (MCH)	28-34 pg	
Střední koncentrace hemoglobinu v jednom erytrocytu (MCHC)	32-37 g/dl	
Průměr erytrocytu	6,8-7,3 μm	
Retikulocyty	0,3-1,5 %	

Zdroj: Vydra, 2015

1.1 Výskyt

Anémie patří k nejčastějším chorobným stavům vůbec. (Penka, 2001, s. 13)
Podle WHO až 40 % populace trpí anémií. Nejvyšší prevalence tohoto onemocnění, až 50%, je u těhotných žen a u starších osob. (Ramakrishnan, 2001)

Podle WHO se k roku 2011 u dětí v předškolním věku a těhotných žen vyskytuje nejvíce anémií s nejnižší hladinou hemoglobinu v Afrických státech, Jihovýchodní Asii a ve Východním středomoří. (WHO, 2015) V Evropě se anémie vyskytují u 10% populace. (Ramakrishnan, 2001) Podle WHO postihují anémie až 30 % lidstva převážně v důsledku nedostatečné výživy, jedná se o tzv. nutriční anémie. (Penka, 2001)

Nejčastěji dochází ke vzniku anémie z nedostatku železa, avšak existuje mnoho dalších příčin jako například deficit kyseliny listové, deficit vitamínu B12 nebo hemolýzy. Anémii mohou způsobovat i různá onemocnění jako například malárie v tropických oblastech. (Ramakrishnan, 2001) V menším množství vznikají i v důsledku infekcí jako jsou malárie, HIV nebo tuberkulóza. Příčiny vzniku tohoto chorobného stavu mohou být i vrozené poruchy jako například hemoglobinopatie. (WHO, 2015)

Anémie je celosvětovým problémem postihující rozvojové i vyspělé země. (Benoist et al., 2008) V rozvojových zemích jako je Afrika a Jižní Asie se nejčastěji vyskytují talasemie a srpkovitá anémie, jedná se o choroby, které jsou geneticky podmíněné. Těmito letálními onemocněními trpí až 40 % lidstva v rozvojových zemích. V naší zeměpisné šířce se jedná hlavně o sideropenické anémie a anémie chronických chorob. (Friedmann, 1994)

Výskyt v populaci je ovlivněn užitou dolní hranicí normy hemoglobinu, v rozvinutých zemích je anemických cca 4 % mužů a 8% žen, v rozvojových zemích je prevalence anémie 2-5krát vyšší. (Vydra, 2015, s. 12)

1.2 Diagnostika

Pro základní diagnostiku anémií je důležité sestavit anamnézu pacienta, sledovat klinické příznaky onemocnění a provedení laboratorních vyšetření. (Krč, 2001)

1.2.1 Anamnéza

Anamnéza pacienta přináší informace o vzniku a příčinách chudokrevnosti. (Krč, 2001) Jedná se především o údaje o prodělané infekci, žloutence, kožních změnách, změnách nehtů, o předčasném šedivění vlasů, nádorovém onemocnění. Zjišťuje se přítomnost krvácivých projevů jako jsou modřiny, epistaxe, menstruační krvácení, krev ve stolici, urogenitální krvácení, teploty a noční pocení. Dále je nutné získat informace o stravování pacienta, dietních zvyklostech, hubnutí nebo nechutenství, o toxických vlivech jako je užívání léků popřípadě drog nebo abúzus alkoholu. Gastrointestinální obtíže, bolesti a charakter stolice, změna barvy moče (tmavé zbarvení), předchozí onemocnění, neurologické projevy jako poruchy chůze, soustředění, parestezie. V neposlední řadě zjišťujeme rodinnou anamnézu, rodinný výskyt chudokrevnosti, krvácivé obtíže nebo údaje o splenektomii. Dále anemický syndrom, kdy pacient trpí pocíty slabosti, nevykonností, poruchou soustředění, pacient je bledý, má závratě, palpitace a trpí dušností. (Krč, 2001; Vydra, 2015)

1.2.2 Klinické příznaky

Klinické příznaky anémie souvisí s poruchou prokrvení tkání a jejich nedostatečným zásobováním kyslíkem. (Penka, 2001, s. 13)

Mezi klinické příznaky patří bledost kůže a viditelných sliznic, slabost, únava, intolerance tělesné námahy, bušení srdce a tachykardie, která se objevuje hlavně u pacientů s hlubokou chronickou anémií, dochází k systolické šelesti na hrudi.

Dalším příznakem je dušnost, u lehčích případů se projevuje pouze při námaze, u těžších případů k dušnosti dochází i v klidu. (Stibůrek, 2010; Friedmann, 1994) Další příznaky, které se mohou objevovat u anémií jsou poruchy CNS projevující se poruchou čítí nebo demence zvláště u deficitu vitamínu B12. (Krč, 2008)

Intenzita těchto příznaků souvisí nejen s hloubkou anémie tj. hodnoty hemoglobinu, ale i od rychlosti jejího vzniku.. (Penka, 2001, s. 13) Hloubka anémie souvisí s hodnotou Hb, při jeho velkém snížení dochází ke snížené schopnosti transportovat kyslík. Příznaky se současně odvíjí od věku pacienta a stavu jeho kardiovaskulární soustavy (Friedmann, 1994).

U pomalu se vyvíjejících případů mohou být příznaky nevýrazné a často se projeví až při výrazném snížení hemoglobinu. V těchto případech dochází k uplatnění tzv. kompenzačních mechanismů, které umožňují organismu adaptaci na snížené množství hemoglobinu. (Penka, 2001)

Mezi kompenzační mechanismy patří lepší využití kyslíku, redistribuce krve, zvýšení erythropoézy a zvýšení srdečního výdeje.

K lepšímu využívání kyslíku (posunu disociační křivky) dochází pomocí 2,3difosfoglycerátu, který je přítomný v erythrocytech. Dochází k jeho vazbě na střední část hemoglobinu A, dojde ke snížení afinity ke kyslíku a kyslík se tak snáze uvolňuje.

K posunu disociační křivky doprava dochází v důsledku snížení pH ve tkáních po akumulaci kyseliny mléčné – tzv. Bohrov efekt. (Pecka, 2006) Jedná se o bezprostřední odpověď organismu na hypoxii. (Penka, 2001)

Dalším kompenzačním mechanismem je redistribuce krve. (Pecka, 2006) Pomocí redistribuce krve, dochází ke zvýšenému zásobování orgánů, které vyžadují více kyslíku (mozek, srdce). Naopak orgány jako je kůže nebo ledviny, které jsou na nedostatek kyslíku méně citlivé jsou vlivem vazokonstrikce, díky které dochází ke sníženému průtoku krve, méně zásobené. (Pecka, 2006)

Zvýšení erythropoézy je dalším kompenzačním mechanismem. Zvýšená erythropoeza je způsobena zvýšením produkce erytopoetinu, ta je nepřímou úměrnou koncentrací hemoglobinu a celkovému počtu erythrocytů. (Friedmann, 1994) Jedná se o nejpomalejší kompenzační mechanismus, k vzestupu krvinek dochází až po zhruba 5ti dnech

po zvýšení produkce EPO v důsledku tkáňové hypoxie. (Pecka, 2006) Avšak obrat kostní dřeň se může zvýšit až desetkrát. (Penka, 2001)

Snížení viskozity krve u anemických pacientů umožňuje zvýšení srdečního výdeje, což se uplatňuje jako další z kompenzačních mechanismů. (Penka, 2001) Tento mechanismus se projevuje převážně u akutních forem, u pacientů s hladinou hemoglobinu nižší než 80 g/l se klinicky projevuje tachykardií. U starších jedinců může vyvolat až srdeční selhání. (Friedmann, 1994) Po určité době dojde k normalizaci srdečního výdeje. (Pecka, 2006)

1.2.3 Laboratorní diagnostika

V současnosti je laboratorní diagnostika krevních chorob na vysoké úrovni. Jednotlivé metody jsou plně automatizované. Pro další diferenciální diagnostiku slouží specializovaná vyšetření.

Základní informace o stavu pacienta získáme na základě krevního obrazu s diferenciálním rozpočtem leukocytů a kontrolou pod mikroskopem. (Vydra, 2015) Charakteristickými znaky pro diagnostiku anémie je snížená hladina hemoglobinu a hematokritu pod fyziologickou mez. (Kozák, 2001) Kromě těchto dvou znaků se stanovují další erytrocytární indexy získané z automatického analyzátoru.

Jedním z nejdůležitějších je střední objem červené krvinky – mean corpuscular volume (MCV), podle kterého se anémie dělí na mikrocytární, normocytární a makrocytární. (Krč, 2001)

Dalším parametrem je střední hmotnost hemoglobinu v erytrocytu – mean corpuscular hemoglobin (MCH). Hodnota koncentrace hemoglobinu v krvince – MCHC je pro stanovení anémie méně významná.

Pro anémie z nedostatku železa a perniciózní anémie je typická zvýšená hodnota variační šíře erytrocytů – RDW (nad 15 %). RDW poukazuje i na poškozené erytrocyty, které jsou ve formě schizocytů. (Krč, 2001)

Hodnoty hemoglobinu a hematokritu mohou být změněny v důsledku odchylek v množství cirkulující plazmy. Ke zvýšenému množství cirkulující plazmy, může docházet např. v těhotenství nebo u hypersplenismu – jedná se tak o tzv. relativní anémii. Naopak ke sníženému množství cirkulující plazmy dochází např. při dehydrataci v důsledku nadměrného pocení nebo dlouhotrvajících průjmů, nebo u nedostatečnosti nadledvinek. V těchto případech je hladina Hb a Hct normální, přesto že pacient trpí anémií. (Pecka, 2006)

Po zhotovení krevního nátěru se hodnotí morfolgie a velikost erytrocytů, z tvarových abnormalit erytrocytů napomáhá k diagnóze nález anulocytů u nedostatku železa, sférocytů u hemolýz, slzičkovitých erytrocytů u myelofibróz, stomatocytů u alkoholismu, hypersegmentace neutrofilů u megaloblastické anémie. (Krč, 2001)

Zvýšená pozornost by měla být věnována nejen erytrocytární řadě, ale i ostatním krevním řadám, kde se sledují změněné nebo abnormální buňky. (Vydra, 2015) Dalším kritériem je počet retikulocytů, pro určení hloubky anémie – zda se jedná o zvýšené ztráty nebo nedostatečnou krvetvorbu. (Vydra, 2015)

2 Dělení anémií

Anémie můžeme klasifikovat podle morfologických nebo etiopatogenetických kritérií, která se při diagnóze navzájem doplňují.

2.1 Morfologické dělení

Morfologické dělení rozděluje anémie na mikrocytární, normocytární a makrocytární na základě morfologických charakteristik erytrocytů. (Kozák, 2001) Hlavním ukazatelem je střední objem erytrocytu (MCV). Podle šíře distribuce erytrocytů (RDW) lze posoudit, zda se jedná o anizocytózu nebo homogenní populaci. (Penka, 2001) Patologická anizocytóza u makrocytárních anémií se objevuje u perniciózních anémií, u megaloblastické anémii nebo autoimunitní hemolytické anémii, naopak v případě aplastické anémie je populace homogenní. (Kozák, 2001)

Dále se anémie klasifikují podle středního obsahu hemoglobinu (MCH) nebo podle střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu (MCHC), rozdělují se pak na hypochromní, hyperchromní normochromní (Penka, 2001).

Morfologické dělení se využívá již od poloviny 20. století, jeho využívání se posílilo vývojem automatizovaných analyzátorů krevních elementů. (Penka, 2001)

2.2 Etiopatogenetické dělení

Etiopatogenetické dělení rozděluje anémie podle příčiny vzniku. (Pecka, 2006) Zjištění příčiny vzniku anémie je před zahájením cílené léčby nezbytné. (Penka, 2001) Rozlišujeme anémie z nedostatečné tvorby erytrocytů, anémie z akutní a chronické ztráty krve, anémie se zvýšené destrukce erytrocytů a anémie z kombinovaných příčin.

2.2.1 Anémie z nedostatečné tvorby erytrocytů

Jedná se o anémie s poruchou proliferace nebo s poruchou diferenciací kmenových buněk, anémie z poruchy tvorby hemoglobinu a anémie s poruchou syntézy DNA.

V případě poruchy diferenciací kmenových buněk dochází ke snížené tvorbě červených krvinek, mluvíme o čistě erytroidní anémii. Pokud dochází k celkově neefektivní tvorbě erytrocytů a jedná se o tzv. dyserythropoetické anémie.

Další skupinou jsou anémie způsobené poruchou tvorby hemoglobinu, nejčastější příčinou těchto anemií bývá deficit železa. V důsledku deficitu železa, dochází ke snížené produkci hemoglobinu a tím i snížené produkci erytrocytů. Porucha syntézy hemoglobinu je způsobena buďto poruchou syntézy hemu jako u sideropenických anemií nebo anemií z chronických chorob nebo je způsobena poruchou globinu jako v případě talasemií. (Pecka, 2006)

Poslední skupinou těchto anemií jsou anémie způsobené poruchou syntézy DNA. Touto skupinou anemií se budu ve své práci podrobněji věnovat. Jedná se o megaloblastové anémie, které mohou být způsobeny nejčastěji deficitem vitamínu B12 jako je tomu v případě perniciózní anémie nebo deficitem kyseliny listové. (Pecka, 2006)

2.2.2 Anémie z akutní a chronické ztráty krve

Anémie způsobené ztrátou krve neboli posthemoragické anémie se rozdělují na anémie z akutní ztráty krve a anémie z chronických ztrát krve. V případě akutních ztrát krve se jedná o ztráty způsobené v důsledku traumatu nebo poškození cév. (Pecka, 2006)

2.2.3 Anémie ze zvýšené destrukce erytrocytů

Do této kategorie patří hemolytické stavy a choroby v jejichž důsledku dochází k předčasnému zániku erytrocytů – k hemolýze. Mezi tyto anémie patří dědičná sferocytóza, paroxysmální noční hemoglobinurie, choroby na imunitním pokladě jako jsou autoimunitní hemolytické anémie, hemolytické transfúzní reakce nebo hemolytické onemocnění novorozence. (Pecka, 2006)

2.2.4 Anémie z kombinovaných příčin

Do této skupiny anémii se řadí anémie, které vznikly druhotně k jinému onemocnění. Ke vzniku těchto anémií dochází u maligních nádorů, kdy dochází v důsledku množení nádorových buněk k potlačení krvetvorby. Kromě maligních nádorů mohou anémii zapříčinit i chronické infekty a záněty. (Pecka, 2006)

3 Makrocytární anémie

Anémie je klasifikována jako makrocytární pokud MCV překročí 98 fl. (Hoffbrand et al., 2011)

Makrocytární anémie se rozdělují na anémie s přítomností megaloblastů a anémie bez přítomnosti megaloblastů. Mezi anémie s přítomností megaloblastů patří anémie způsobené deficitem vitamínu B12 a kyseliny listové nebo myelodysplastický syndrom. (Klener, 2006). Do skupiny anémií bez přítomnosti megaloblastů s normoblastickou erytropoézou patří anémie u jaterních chorob, především u alkoholiků nebo u hypotyreózy. (Erbenová, 2007)

Toto rozdělení je však použitelné pro identifikaci převládajících příčin. Například alkoholismus je považován za primární příčinu nonmegaloblastové makrocytózy, nicméně v důsledku chronického alkoholismu se objevuje současně i deficit kyseliny listové. Alkoholismus zapříčiňuje více než 80% případů makrocytózy. V posledních letech se ukazuje, že vliv na vznik makrocytózy má i infekce bakterií *Helicobacter pylori*, nebo léky pro léčbu HIV. (Kaferle; Strzoda, 2009)

Pro rozlišení, zda se jedná o megaloblastickou nebo nonmegaloblastickou anémii, slouží krevní obraz, případně vyšetření kostní dřeně. Pokud jsou v krevním nátěru nalezeny makroovalocyty a hypersegmentované erytrocyty, jedná se o anémii megaloblastickou. V případě nonmegaloblastové anémie slouží počet retikulocytů k určení, zda se jedná o alkoholismus, o příčinu toxicity léků, nebo se jedná o hemolýzy popřípadě krvácení. (Kaferle; Strzoda, 2009)

Pro účinnou léčbu těchto stavů je potřeba zjistit příčinu vzniku anémií. (Brančíková, 2012) U pacientů s makrocytární anémií v důsledku nedostatečné výživy je léčba velmi jednoduchá. Tato léčba spočívá v pouhém podání vysoké dávky vitamínu B12 (1 – 2 mg/den) v případě deficitu vitamínu B12 a nebo podáním kyseliny listové (1mg/den) v případě jejího deficitu. (Bross et al, 2010)

4 Megaloblastové anémie

4.1 Definice

Anémie způsobené poruchou syntézy DNA, nejčastěji na podkladě deficitu vitamínu B12 nebo folátu, pro které je charakteristická makrocytóza a megaloblastová přestavba kostní dřeně. (Vydra, 2015)

K megaloblastové přestavbě kostní dřeně dochází v důsledku poruchy syntézy DNA (vzestup RNA/DNA) (Indrák, 2014). Porucha syntézy DNA se projevuje především u buněk, které se rychle dělí a obměňují jako jsou buňky kostní dřeně nebo buňky sliznice trávicího ústrojí. (Klener, 2006).

Výsledkem této poruchy je „plazmojaderná maturační asynchronie“, která se projevuje opožděním vyžrávání jádra erytroblastů vůči cytoplazmě (Indrák, 2014) Charakteristickým morfologickým znakem je tedy přítomnost megaloblastických buněk. Megaloblastické prekurzory červených krvinek jsou větší než normální a mají více cytoplazmy vzhledem k velikosti jádra. (Beutler, 1995)

4.2 Výskyt

Megaloblastové anémie se vyskytují v každém věku, nejčastěji u lidí starších 60 let. Tato forma anémie se vyskytuje spíše u žen v poměru 2:3. (Vydra, 2015) Nejedná se však o příliš častou skupinu anémií co se epidemiologie týče. (Indrák, 2014)

4.3 Etiopatogeneze

Podle Indráka (2014) je asi 95% makrocytárních anémií způsobeno nedostatkem kyseliny listové nebo vitamínu B12. Příčiny deficitu obou vitamínů jsou způsobeny v důsledku mnoha příčin, jedná se zejména o snížený příjem v potravě, poruchu

vstřebávání nebo v důsledku polékových vlivů. Mezi vzácnější příčiny jejich deficitu patří vrozené metabolické poruchy nebo nadměrné ztráty či zvýšená spotřeba hlavně v případě kyseliny listové (Indrák, 2014)

4.4 *Klinické projevy*

Jedná se o makrocytovou – normochromní anémii, která se projevuje jak obecnými projevy anemického syndromu, tak projevy specifickými pro megaloblastové anémie. (Indrák, 2014)

Specifické projevy se liší podle příčiny vzniku anémie. Dojde-li ke vzniku megaloblastické anémie v důsledku deficitu vitamínu B12 klinické projevy jsou spíše neurologické. Jedná se o poruchu všech částí nervového systému, periferních nervů a CNS. V případě deficitu kyseliny listové se neurologické příznaky projevují mírně, zejména jako zapomnětlivost, neuropatie nebo dráždivost. (Vydra, 2015)

5 Megaloblastové anémie z nedostatku vitamínu B12

Anémie vznikající v důsledku nedostatku vitamínu B12 jsou ve většině případů způsobeny autoimunitním dějem. Mezi příčiny vzniku deficitu tohoto vitamínu patří i stravovací návyky, hlavně u vegetariánů a starších lidí dochází ke sníženému příjmu vitamínů v potravě. Důvodem deficitu mohou být i poruchy resorpce v trávicím traktu v důsledku různých zánětlivých onemocnění střev a dalších chorob. (Krč, 2001)

5.1 Vitamin B12

Vitamin B12 patří do skupiny kobalaminů, které mají společnou základní strukturu s atomem kobaltu v centru molekuly. (Hoffbrand et al., 2011) Jedná se o ve vodě rozpustný vitamin. Jeho přítomnost je důležitá pro normální funkci mozku a nervového systému, pro syntézu DNA a pro celkovou krevtvorbu. (Qatatsheh, 2011).

Vitamin B12 je důležitou součástí tří enzymatických procesů. Jedná se o přeměnu homocysteinu na methionin; přeměnu kyseliny methylmalonové na sukcinyl koenzymu A; a konverzi 5-methyltetrahydrofolátu na tetrahydrofolát. Všechny tyto procesy jsou nezbytné pro syntézu DNA a pro červenou krevtvorbu. (Langan; Zawistoski, 2011) Vznikající tetrahydrofolát (THF) je hlavní formou folátu v cytoplasmě, zároveň jako substrát napomáhá při syntéze polyglutamátů, které tvoří zásobní formu folátu. (Vydra, 2015)

Jmenovaný vitamin slouží také jako koenzym, který se účastní přenosu jednoulíkatých skupin. Je tedy důležitou součástí pro syntézu nukleových kyselin a aminokyselin. (Sobotka, 2003)

5.1.1 Zdroj vitamínu B12

Vitamin B12 se vyskytuje ve většině potravin zvířecího původu, jako je maso (převážně býložravců), ryby, vejce nebo mléko a mléčné produkty. (Vydra, 2015) Denní spotřeba kobalamínu je velmi malá (1,6 – 4 µg/den), zároveň jeho zásoba v organismu je poměrně velká (2-4 mg). Fyziologická hladina vitamínu B12 v organismu za normálních podmínek je 160 – 900 ng/l. (Penka, 2001)

5.1.2 Metabolismus vitamínu B12

Vitamin B12 se z potravy váže na vnitřní faktor v žaludku. Vnitřní faktor (intrinsic factor – IF) je glykoprotein, který je tvořen parietálními buňkami žaludku. V terminální oblasti ilea dochází k resorpci vzniklého komplexu vnitřního faktoru a vitamínu B12 (zevní faktor). Jedná se o jedinou možnou cestu vitamínu B12 přes sliznici střeva do krve. V plazmě se vitamin B12 váže na transportní bílkovinu transkobalamin, krevním oběhem se dostává do míst krvevotvorby nebo se ukládá do zásoby například v játrech. (Vydra, 2015; Penka, 2001)

5.1.3 Deficit vitamínu B12

S deficitem vitamínu B12 se můžeme setkat u vegetariánů nebo veganů, kteří nekonzumují živočišnou stravu. (Fajfrová, 2011) Vzhledem k vysokým zásobám vitamínu B12 především v játrech (asi 80%) dojde k projevům tohoto deficitu až za několik let. U poruchy vstřebávání se může projevit po 2 až 3 letech, při nedostatku vitamínu dokonce až v průběhu 10 let. (Stibůrek, 2010)

Hlavní příčinou deficitu je nedostatečný příjem vitamínu v potravě, nedostatečná absorpce, gastrointestinální příčiny a vzácně i genetické choroby.

Za nejčastější příčinu deficitu vitamínu B12 se považuje porucha absorpce v důsledku nedostatečného množství vnitřních nebo střevních faktorů. (Qatatsheh, 2011)

K nedostatečné absorpci vitamínu dochází při malaabsorbčním syndromu jako v případě celiakální sprue, Crohnovy choroby nebo po resekci tenkého střeva. Podíl na nedostatečné absorpci mohou mít i červy jako *Diphyllobotrium latum* po nedostatečné úpravě mořských ryb. (Kubisz t al., 2006)

5.1.4 Výskyt deficitu vitamínu B12

Výskyt tohoto deficitu se v běžné populaci navyšuje spíše u starších lidí. (Qatatsheh, 2011). V našich podmínkách se deficit vitamínu B12 projevuje převážně u alkoholiků v důsledku nedostatečného příjmu v potravě. (Stibůrek, 2010) Rizikovou skupinou jsou především striktní vegetariáni. (Palacios, 2013) V Evropě a Americe se zvyšuje výskyt deficitu vitamínu B12 u starších lidí, pravděpodobnou příčinou je atrofie žaludeční sliznice v důsledku které nedochází k jeho absorpci. (Ramakrishnan, 2001)

Ke klinickým symptomům patří anémie, periferní neuropatie a omezení růstu. Dále deficit B12 způsobuje zvýšení hladin homocysteinu v plazmě. (Fajfrová, 2011)

5.2 Perniciózní anémie

Perniciózní anémie je onemocnění na autoimunitním podkladě, u kterého v důsledku přítomnosti jedné nebo několika různých protilátek dochází k narušení resorbce vitamínu B12 z gastrointestinálního traktu. (Pecka, 2006, s. 189) K poruše resorbce dochází v distálním úseku ilea v důsledku chybějícího vnitřního faktoru. (Indrák, 2014)

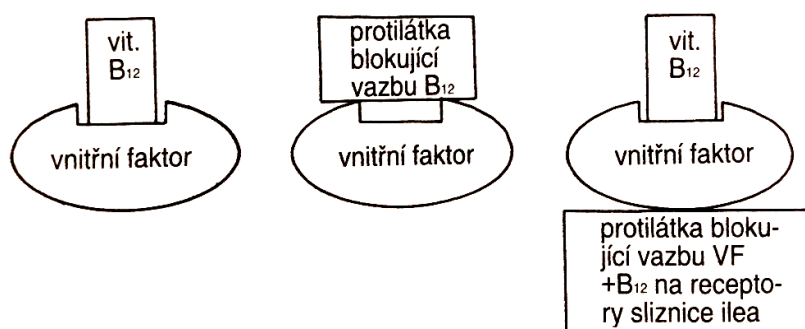
5.2.1 Epidemiologie

Přestože je perniciózní anémie jednou z nejčastějších anémií z nedostatku vitamínu B12 jedná se o vzácné onemocnění s incidencí 10:100 000 obyvatel. Perniciózní anémie postihuje spíše ženy a to ve středním nebo vyšším věku (> 40 let). (Indrák, 2014)

5.2.2 Etiopatogeneze

Jedná se o autoimunitní onemocnění, způsobené v důsledku poruchy tvorby vnitřního faktoru v žaludku. Zároveň jsou přítomny specifické autoprotilátky, které zabraňují vazbě vitamínu B₁₂ a vnitřního faktoru, jedná se o tzv. blokující protilátky I. typu. Dále dochází k poruše resorbce komplexu vnitřního faktoru a vitamínu B₁₂ v oblasti dolního ilea, způsobené protilátkami II. typu, které zabraňují vazbě komplexu na střevní sliznici. (Indrák, 2014)

obr. 1 Dva typy protilátek proti vnitřnímu faktoru u perniciózní anémie



Zdroj: Friedmann, 1994

5.2.3 Klinické projevy

Nástup perniciózní anémie je pozvolný a v důsledku postupné adaptace organismu se subjektivní příznaky objevují až při velmi snížených hodnotách. (Kozák, 2001) Kromě anémie se objevují poruchy trávicího traktu a nervového systému. (Indrák, 2014) Vedle obecných projevů anémie se vyskytují symetrické parestázie a poruchy chůze v důsledku pocitů slabosti dolních končetin (neuroanemický syndrom). (Kozák, 2001) Vzhledem ke kombinaci bledosti a současně přítomného ikteru dostává kůže citrónový nádech. (Penka, 2001) V souvislosti s pálením jazyka je typický i nález hladkého vyhlazeného jazyka v důsledku atrofie papil, jedná se o tzv. Hunterova glostritidu. (Kozák, 2001; Penka, 2001) U pacientů s perniciózní anémií se objevují těžké formy anémií s výraznou makrocytózou. (Unnikrishnan et al., 2008)

5.2.4 Diagnostika

U perniciózní anémie je přítomna výrazná makrocytóza s MCV větším než 100 fl, většinou se jedná o hypochromní anémii. (Penka, 2001) Mezi laboratorní nálezy v krevním nátěru patří makroovalocytóza, anizocytóza a poikilocytóza. Dále jsou nalézány hypersegmentované neutrofilie, jejichž jádra mají až 5 laloků a snížené množství retikulocytů. (Friedmann, 1994) Makrocyty mohou dosahovat až neobyčejných velikostí od 12 - 20 μ m, takto obrovské buňky označujeme jako megalocyty nebo gigantocyty. Vzhledem k již zmiňované asynchronii ve vyžívání mají makrocyty sytě růžovou barvu s hnědým nádechem. (Hrubíško, 1983) Změny jsou zaznamenávány ve všech hemopoetických řadách. V případě řady granulocytární nacházíme obrovské metamyelocyty a tyčky, dále se objevují megakaryocyty s hypersegmentovanými jádry. (Indrák, 2014)

Vzhledem k obtížnému rozlišení příčiny vzniku anémie na podkladě vyšetření kostní dřeně, slouží k diagnostice především hladina vitamínu B12 v séru. Mezi vedlejší laboratorní ukazatele patří zvýšená hladina nepřímého bilirubinu, LDH a železa v séru. (Indrák, 2014) Dříve sloužil k diagnostice tzv. Schillingův test, který spočíval v i.m. podání vitamínu B12, který vysytil receptory ve tkáních, poté následovalo p.o. podání vitamínu B12 označeného radionuklidem. Pokud bylo vstřebávání neporušeno, došlo ke vstřebání radioaktivního vitamínu a následnému vyloučení močí. V případě poruchy vstřebávání se do moči dostalo jen malé množství a zbytek odešel stolicí. (Penka, 2001) Tento test se již nepoužívá a je nahrazen tzv. CibaSorb testem. Jedná se o testování vstřebávání vitamínu B12 pomocí hodnocení vzestupu holoTC v séru po perorálním podání vitamínu B12. HoloTC je vitamin B12 navázaný na transkobalamin. (Indrák, 2014) Jedná se o biologicky aktivní frakci vitamínu B12. (Palacios at al., 2013)

6 Megaloblastové anémie z nedostatku kyseliny listové

Anémie z nedostatku kyseliny listové vznikají především v důsledku nedostatečného příjmu v potravě. Příčinou mohou také poruchy vstřebávání nebo zvýšené nároky na příjem kyseliny listové během těhotenství. (Kubisz et al., 2006)

6.1 Kyselina listová

Kyselina listová patří do skupiny vitamínů ve vodě rozpustných, jedná se o vitamin ze skupiny B. (Penka, 2001) Je potřebná především pro tvorbu nukleových kyselin. Spolu s vitamínem B12 je nezbytná pro regeneraci methioninu z homocysteinu. Methionin resp. adenosyl-methionin je látkou, která se účastní celé řady metylačních reakcí (např. metylace nukleových kyselin). Ovlivňuje syntézu histidinu, cholinu, serinu, methioninu, purinů a pyrimidinů. Potřeba kyseliny listové se projevuje zejména v rychle se dělících buňkách, a to zejména v buňkách hematopoetické tkáně. (Sobotka, 2003)

6.1.1 Zdroj kyseliny listové

Zdrojem kyseliny listové v potravě je převážně listová zelenina, kvasnice, maso a vnitřnosti. (Penka, 2001) Nejbohatší zeleninou na kyselinu listovou je chřest, brokolice, špenát, hlávkový salát a bílé fazole. Mezi ovoce nejvíce obohacené o kyselinu listovou patří citrony, banány a melouny. Mezi zdroje tohoto vitamínu se řadí i houby nebo droždí. (Beutler, 1995) Avšak pokud jsou tyto zdroje tepelně upravovány, dojde až k 95% zničení kyseliny listové. (Koucký, 2011)

6.1.2 *Metabolismus kyseliny listové*

Kyselina listová sama o sobě není biologicky aktivní. Biologické účinky mají až její metabolity, které vznikají v játrech po enzymatickém štěpení. Kyselina listová spolu s jejími metabolity je nazývána skupinou folátů. (Koucký, 2011)

Nejvýznamnějším metabolitem je 5-methyltetrahydrofolát (metafolin), jedná se o metabolit, který se účastní přeměny homocysteinu na methionin. (Koucký, 2011) Přírodní foláty jsou do značné míry ve formě polyglutamátů, které jsou absorbovány horní částí tenkého střeva po dekonjugaci a konverzi na monoglutamát 5-methyl-tetrahydrofolátu. (Hoffbrand; Provan, 1997)

6.1.3 *Deficit kyseliny listové*

K deficitu kyseliny listové může dojít v důsledku několika příčin. Jednou z příčin je nedostatečný příjem kyseliny listové stravou. Především v těhotenství je větší nárok na její příjem a doporučené denní množství se navyšuje. (Hoffbrand; Provan, 1997) Pro dospělé je doporučené denní množství 200 μ g, u těhotných se doporučené denní množství zvyšuje až dvojnásobně na 400 μ g. V případě jejího nedostatku by mohlo dojít k defektu neuronální trubice plodu. (Fajfrová, 2011) Nedostatečný příjem potravy je častý především u alkoholiků nebo u osob s mentální anorexií. (Vydra, 2015) Další příčinou může být malabsorpce především u osob s celiakií, sklerodermií nebo po resekcích střeva. (Vydra, 2015)

Tento deficit se projeví především u rychle se dělících buněk jako například v již zmíněném těhotenství, při růstu nebo malignitách. (Fajfrová, 2011; Vydra, 2015) Deficit kyseliny listové se projevuje megaloblastickou anémií, trombocytopenií i leukopenií. Projevují se poruchy růstu, záněty v dutině ústní, poruchy zažívacího traktu a zároveň obecné příznaky jako je slabost nebo únava. Stejně jako u vitamínu B12 se deficit kyseliny listové projevuje zvýšenou hladinou homocysteinu v plazmě. (Fajfrová, 2011)

6.1.4 Výskyt deficitu kyseliny listové

Deficit kyseliny listové se vyskytuje nejčastěji v Africe a Asii, naopak v oblastech jako je Thajsko, Guatemala nebo Mexiko se téměř neobjevuje. Vzhledem ke zvýšené konzumaci rostlin v chudších oblastech se anémie z nedostatku kyseliny listové vyskytují spíše v průmyslově vyspělých zemích. V Africe mohou být deficity folátů a megaloblastové anémie způsobeny malárií. K malapsorbci kyseliny listové dochází i sekundárně po infenci *Giardia lamblia* nebo při přemnožení bakterií. (Ramakrishnan, 2001)

7 Nonmegaloblastové anémie

Nonmegaloblastové anémie jsou formy anémií u kterých je přítomna makrocytóza, ale erythropoéza je zachována. V důsledku narušeného poměru mezi cholesterolem a fosfolipidy dochází u těchto anémií ke změnám na membránách erytrocytů, buňky v kostní dřeni nejsou pozměněny. U těchto forem anémií dochází ke vzniku erytrocytů s MCV 110 - 115 fl. (Rodak et al., 2013)

Nonmegaoblastové anémie se vyvíjejí z různých mechanismů, které nebyly plně popsány. K makrocytóze může docházet díky zvýšené tvorbě erytrocytů v důsledku destrukce buněk (hemolýzy) nebo v důsledku ztrát (krvácením), které vedou k vývoji retikulocytozy. Retikulocyty jsou částečně nevyvinuté erytrocyty, které se zdají být větší než normální erytrocyty. (Kaferle; Strzoda, 2009)

Makrocytóza s normální erythropoézou je často spojována s alkoholismem a chorobami jater. Jedná se o jedny z nejčastějších příčin nonmegaloblastových anémií. (Aslinia et al., 2006)

8 Cíle práce a hypotézy

8.1 Cíle

- zjistit frekvenci makrocytárních anemií
- zjistit frekvenci nejběžnějších příčin makrocytární anemie
- optimalizace pracovního postupu

8.2 Hypotézy

- frekvence výskytu anemií stoupá s věkem
- výskyt makrocytárních anemií je vyšší u ženského pohlaví

9 Metodika

Vzorky pro svou praktickou část bakalářské práce jsem získala v Nemocnici České Budějovice a.s.. Jedná se o veškeré vzorky, které byly přijaty v termínu od 1. do 31. října 2015 na oddělení klinické hematologie. U všech těchto pacientů bylo provedeno hematologické vyšetření, podle kterého jsem vyhodnotila pacienty, kteří trpí anémií. Pacienty s anémií jsem dále rozdělila podle hodnoty MCV na mikrocytární, normocytární a makrocytární. Zaměřila jsem se na pacienty s makrocytární anémií. U těchto pacientů bylo následně provedeno biochemické vyšetření pro zjištění příčiny vzniku dané anémie.

Hlavním předpokladem pro správné zhotovení a vyhodnocení laboratorních výsledků je správný odběr a příjem materiálu, používání vhodných metod a přístrojů, samotná analýza podle správných operačních postupů a v závěru správná interpretace výsledků.

9.1 Příjem materiálu

Po odběru by měl být materiál v nejkratší době dopraven do příslušné laboratoře, v mém případě se jednalo o centrální příjem v Nemocnici České Budějovice a.s.. Materiál musí být přijat spolu s žádankou o vyšetření, která musí obsahovat veškeré informace o pacientovi jako je jméno a příjmení, identifikační číslo, základní diagnózu a číslo zdravotní pojišťovny. Dále musí obsahovat přesný čas odběru, jméno sestry, která pacientovi odběr prováděla, oddělení a jméno doktora, který si o vyšetření žádá, v neposlední řadě druh primárního vzorku. Zároveň se musí kontrolovat stav přijatého materiálu. Zkumavka musí být stejně jako žádanka náležitě označena jménem pacienta a identifikačním číslem. Materiálu musí být dostatek pro požadované vyšetření a musí být odebrán do příslušné vakuity. V případě nesrážlivé krve se kontroluje, zda se krev nesrazila například v důsledku nedostatečného promíchání při odběru materiálu.

Po zkontrolování všech údajů a stavu materiálu se pomocí elektronické tužky zapíše datum a čas příjmu materiálu spolu se jménem laborantky na žádanku. Každá zkumavka i žádanka dostane svůj identifikační kód, pod kterým je vedena po celou dobu analýzy. Podle žádanky se následně informace o pacientovi a požadovaném vyšetření zadají do laboratorního informačního systému (LIS).

V případě odběru materiálu pro vyšetření krevního obrazu je potřeba nesrážlivá krev. Musí být použita zkumavka s fialovým uzávěrem, která obsahuje antikoagulační činidlo K_3EDTA . Pro vyšetření hladiny vitamínu B12 a kyseliny listové se využívá sérum a proto se vyžaduje plná krev s heparinem. Foláty i kyselina listová jsou citlivé na světlo. Při manipulaci se vzorkem a skladování minimalizujeme vystavení světlu.

9.2 Stanovení krevního obrazu

Pro stanovení jednotlivých parametrů krevního obrazu se v Nemocnici České Budějovice a.s. využívá automatizovaný hematologický analyzátor Unicel DxH 800 Beckam Coulter. Pro analýzu je potřeba vzorek čerstvé plné krve s přípravkem EDTA.

9.2.1 Princip metody

Tento typ analyzátoru pracuje na principu CBC analýzy. Jedná se o analytickou metodu založenou na Coulterově principu, kterým lze stanovit počet a velikost buněk. Jednotlivé krvinky procházejí spolu s diluentem vodivou aperturou, kterou prochází elektrický proud. Ve chvíli, kdy buňka prochází aperturou, způsobí snížení vodivosti mezi dvěma elektrodami. Vzniklý elektrický impulz lze kvalitativně i kvantitativně vyhodnotit. Velikost elektrického impulzu odpovídá objemu buňky, tedy velikosti buňky a četnost impulzů odpovídá počtu buněk. Zároveň probíhá hemoglobinometrie, pomocí které je změřena hodnota hemoglobinu. Pomocí lytického činidla dojde k rozrušení erytrocytů a dojde tak k přeměně hemoglobinu na stabilní barvivo.

Výsledná absorbance je přímo úměrná koncentraci hemoglobinu ve vzorku. Hemoglobin je měřen fotometricky při vlnové délce 525 nm.

Součástí této metody je i měření diferenciálního rozpočtu leukocytů. Jedná se o VCS technologii, která je tvořena kombinací 3 parametrů – nízkofrekvenčního proudu, vysokofrekvenčního proudu a rozptylu laserového světla. Princip analýzy objemu leukocytů (V-analýza) využívá nízkofrekvenčního proudu. C-analýza využívá vysokofrekvenčního proudu, pro který buněčná stěna působí jako vodič a který při průniku buněčnou stěnou i buněčným obsahem odhaluje rozdíly ve vlastnostech buněčného jádra či granulózní složky buňky. Povrch a tvar buňky je měřen odrazem laserového paprsku (S-analýza). Spojením těchto analýz jsou leukocyty rozděleny do jednotlivých populací.

9.3 Zhotovení krevního nátěru

Pro zhotovení krevního nátěru je nutné zkumavku se vzorkem promíchat. Na střed podložního sklíčka se asi v $\frac{1}{4}$ od okraje kápne kapka krev. Roztětové sklíčko se přiloží před kapku krve, která se rozprostře po celé délce hrany sklíčka. Pod úhlem 30-40° se pomocí roztětového sklíčka zhotoví nátěr směrem ke kapce a k opačnému konci sklíčka. Zhotovený krevní nátěr musí být rovnoměrný, tenký, s rovnými okraji a cca 2 cm před koncem sklíčka musí přecházet do ztracena. Sklíčko s nátěrem se nechá zaschnout a popíše se příjmením pacienta a jeho přiřazeným číslem.

Po zaschnutí zhotoveného nátěru necháme preparát fixovat po dobu 5 minut v methanolu. Po fixaci nátěru následuje barvení podle Pappenheima za použití barviv May-Grünwald a Giemsa-Romanowski.

Nejprve zafixovaný preparát vložíme asi pětkrát na sekundu do roztoku May-Grünwald. Následně vložíme preparát do roztoku Giemsa-Romanowski a opět asi desetkrát opakujeme. Obarvený preparát opláchneme a necháme zaschnout. Obarvený a zafixovaný preparát následně hodnotíme pod mikroskopem. K hodnocení je důležité použít imerzní roztok pro lepší zobrazení.

9.4 Stanovení vitamínu B12

Pro kvantitativní stanovení vitamínu B12 v séru se v Nemocnici České Budějovice a.s. využívá analyzátor ADVIA Centaur XP. Jedná se o analýzu ADVIA Centaur VB12 (100 testů) Doporučenými vzorky pro tuto metodu jsou sérum, heparinovaná plazma nebo EDTA plazma. Tato metoda vyžaduje 100 μ l vzorku pro jednotlivé stanovení.

9.4.1 Princip metody

Stanovení ADVIA Centaur VB12 je kompetitivní imunoanalytická metoda založená na přímé chemiluminescentní technologii, ve kterém vitamin B12 ze vzorku od pacienta soutěží s vitaminem B12 značeným akridinium esterem v reagenzii lité o vazbu na omezené množství vnitřního faktoru, který je kovalentně vázaný na paramagnetické částice v pevné fázi. Toto stanovení využívá reagenzii Releasing Agent (hydroxid sodný) a DTT pro uvolnění vitamínu B12 z vnitřních vazebných proteinů ve vzorku, a také aby se zabránilo zpětnému navázání na proteiny potom, co je pevná fáze přidána do vzorku.

9.5 Stanovení kyseliny listové

Pro kvantitativní stanovení kyseliny listové v séru se v Nemocnici České Budějovice a.s. využívá analyzátor ADVIA Centaur XP. Jedná se o analýzu ADVIA Centaur folate (100 testů). Pro tuto analýzu je doporučeným typem vzorku sérum. Tato analýza vyžaduje pro jedno stanovení 150 µl vzorku.

9.5.1 Princip metody

Analýza ADVIA Centaur folate je kompetitivní imunitní test používající přímou chemiluminescentní technologii. Kyselina listová ve vzorku od pacienta soutěží s kyselinou listovou označenou akridinium esterem v reagentii lite o omezené množství biotinem označeného proteinu vázajícího kyselinu listovou. Biotinem označený protein vázající kyselinu listovou váže avidin, který je kovalentně vázán na paramagnetické částice v pevné fázi. V analýze ADVIA Centaur Folate je vzorek předupraven, aby se kyselina listová uvolnila z endogenních vázajících proteinů ve vzorku.

10 Výsledky

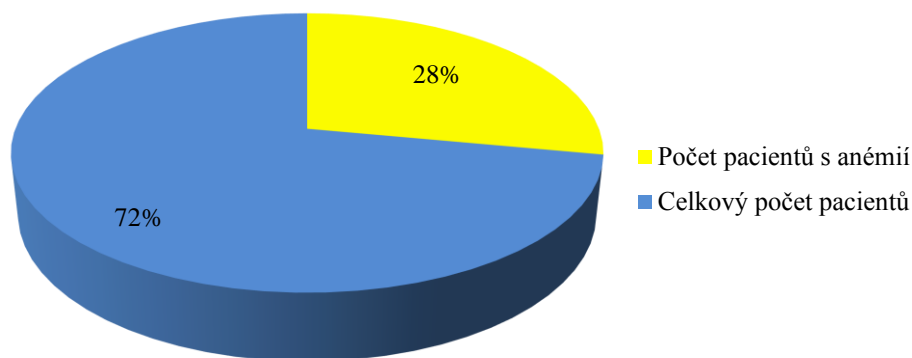
Po dobu jednoho měsíce v období od 1. října do 31. října 2016 bylo v Nemocnici České Budějovice a.s. vyšetřeno přes 7 tisíc vzorků na oddělení klinické hematologie. Tyto vzorky jsem dále statisticky zpracovala pro zjištění frekvence výskytu anémií a následně pro zjištění frekvence makrocytárních anémií, které jsem dále analyzovala.

Nejprve jsem celý soubor pacientů rozdělila podle hladiny hemoglobinu na pacienty, kteří trpí anémií. Jednalo se o ženy, které měly hladinu hemoglobinu nižší než 120 g/l a o muže, kteří měli hladinu hemoglobinu pod 135 g/l.

Tab. 2 Zastoupení anemických pacientů

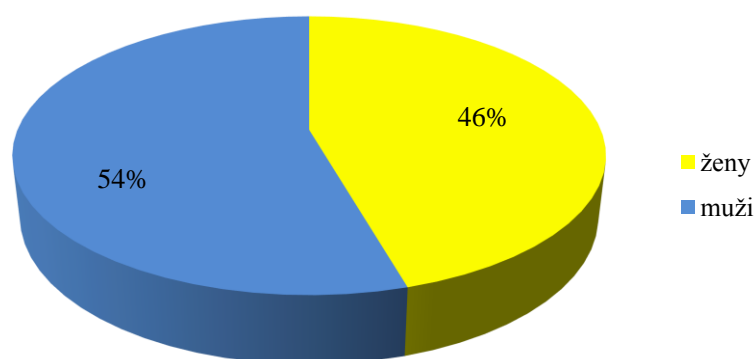
% ZASTOUPENÍ ANEMICKÝCH PACIENTŮ	Počet anemických pacientů	Celkový počet pacientů
28%	2974	7664

Obr. 2 % zastoupení anemických pacientů



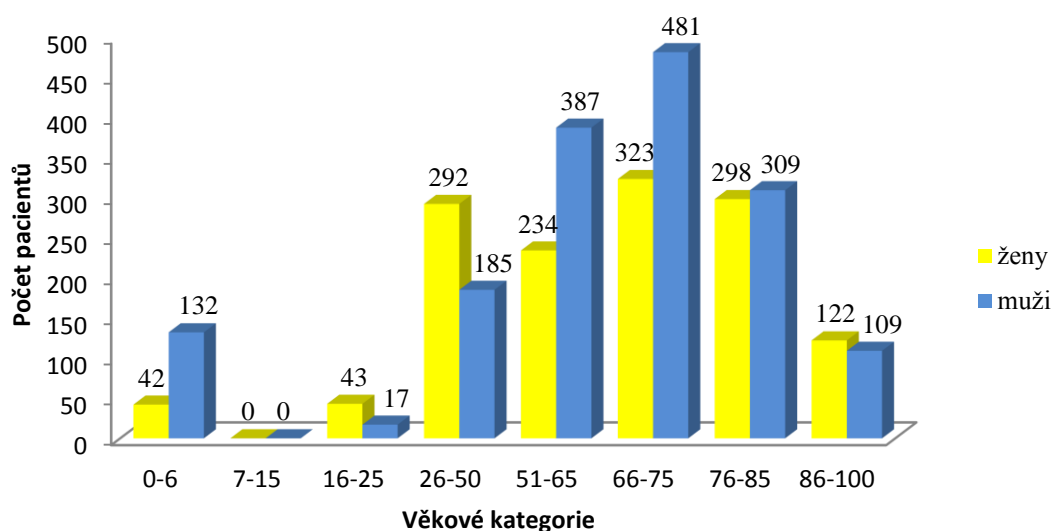
U souboru anemických pacientů jsem sledovala výskyt tohoto onemocnění podle pohlaví.

Obr. 3 Rozdělení anemických pacientů dle pohlaví



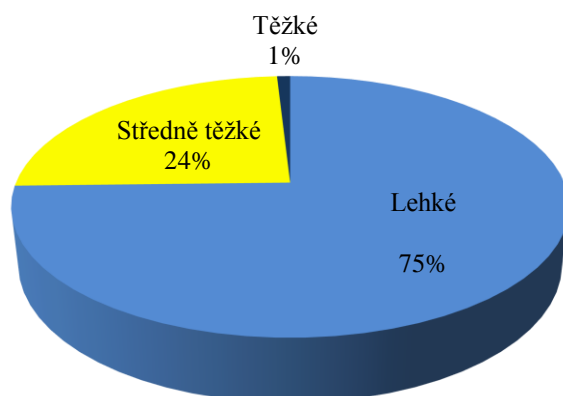
Dále jsem celý soubor pacientů rozdělila podle výskytu anémií na základě jednotlivých věkových kategorií. Stanovila jsem si 8 základních věkových skupin – 0-6, 7-15, 16-25, 26-50, 51-65, 66-75, 76-85, 86-100 let. Zastoupení anémií podle věkových kategorií je samostatné pro ženy i muže.

Obr. 4 Výskyt anémie dle věkové kategorie



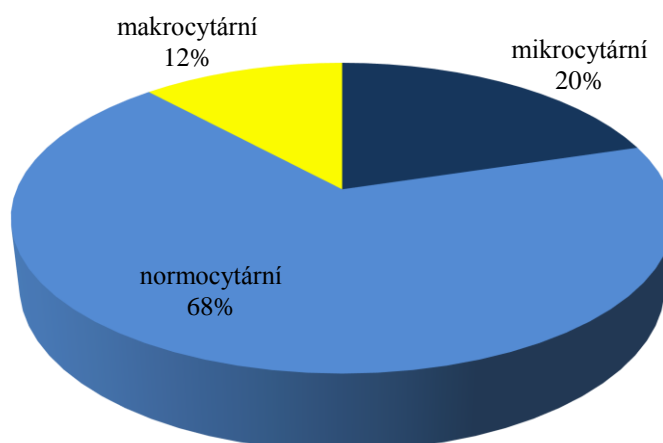
U pacientů, kteří trpí anémií jsem zjišťovala stupeň a závažnost tohoto onemocnění. Podle hladiny hemoglobinu jsem vymežila 3 kategorie – lehký stupeň (Hb 135 – 100 g/l), středně těžký stupeň (Hb 99 – 70 g/l) a těžký stupeň anémie (Hb < 69 g/l).

Obr. 5 Rozdělení dle závažnosti anémie



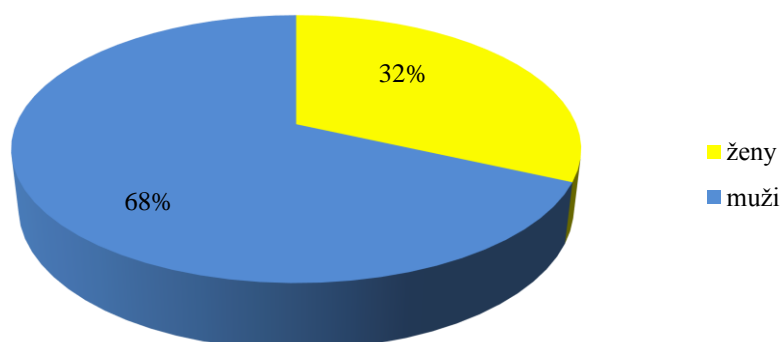
Na základě hodnot MCV jsem celý soubor pacientů, kteří trpí anémií rozdělila na mikrocytární, normocytární a makrocytární anémie. V případě mikrocytární anémie se jednalo o hodnoty MCV < 84 fl, hodnoty MCV u normocytárních anémií se nacházejí v rozmezí od 85 fl do 98 fl a v případě anémií makrocytárních MCV překračuje 98 fl.

Obr. 6 Rozdělení anémii podle MCV



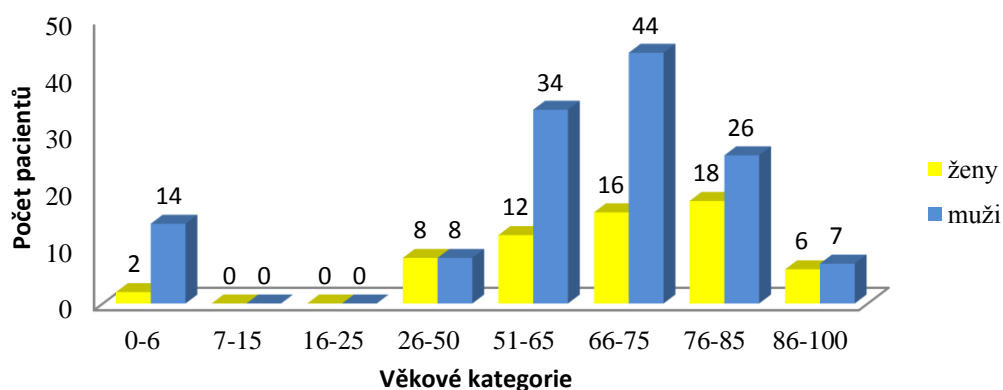
Po tomto rozdělení jsem zjistila, že za měsíc Říjen 2016 bylo vyšetřeno 12% pacientů s makrocytární anémií, které jsem podrobněji analyzovala. Především jsem se snažila dohledat, zda pacienti, kteří trpí makrocytární anémií, byli následně vyšetřováni na hlavní příčiny vzniku tohoto stavu. Jednalo se o biochemické vyšetření na deficit kyseliny listové a vitamínu B12. Z laboratoře klinické biochemie jsem získala vzorky pacientů, kterým byly tyto deficity vyšetřovány. Získaná data jsem porovnávala s daty pacientů z hematologické laboratoře. V tomto souboru bylo vyšetřeno 195 pacientů s makrocytární anémií. Jednalo se převážně o pacienty mužského pohlaví.

Obr. 7 Makrocytární anémie dle pohlaví



Veškeré pacienty jsem opět rozdělila do věkových skupin jako v případě anémií. Jednalo se především o starší pacienty, průměrný věk těchto pacientů byl 63 let.

Obr. 8 Zastoupení dle věkových kategorií



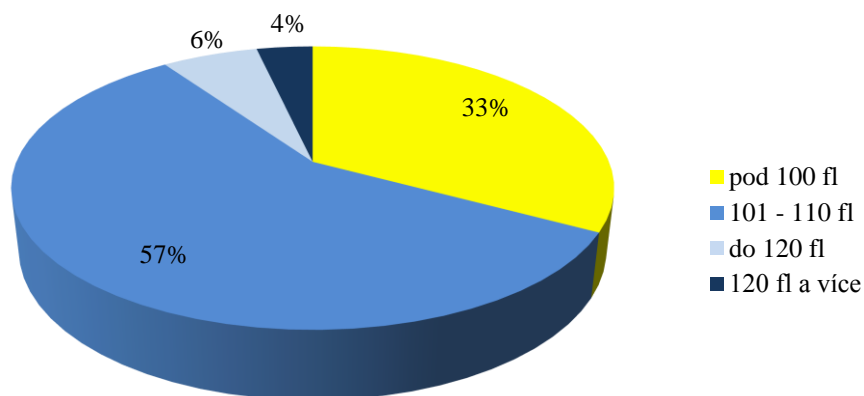
Jednalo se především o pacienty s lehkým popřípadě středně těžkým stupněm onemocnění. Těžké případy makrocytární anémie byly vyšetřeny pouze 2.

Tab. 3 Rozdělení anemických pacientů na základě závažnosti anémie

Závažnost anémie	Počet pacientů
Lehký stupeň (Hb > 135 g/l)	159
Středně těžký stupeň (Hb >100 g/l)	34
Těžký stupeň (Hb < 69 g/l)	2

MCV u těchto pacientů přesahovalo 98 fl. Maximální naměřená hodnota MCV byla 136,3 fl. Průměrná hodnota MCV u pacientů s makrocytární anémií byla 104 fl. Nejvíce pacientů se pohybuje mezi hodnotou 101 – 110 fl.

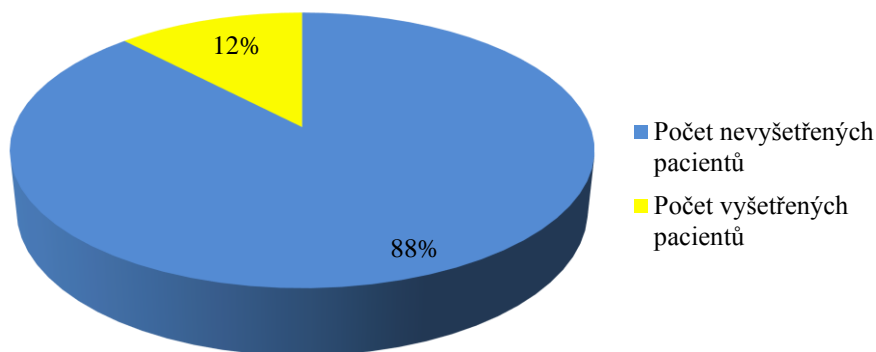
Obr. 9 Hodnota MCV u pacientů s makrocytární anémií



Jelikož mezi hlavní příčiny vzniku makrocytární anémie patří deficit vitamínu B12 a kyseliny listové, zaměřila jsem se na zjišťování, zda vyšetření na odhalení příčiny u těchto pacientů proběhlo.

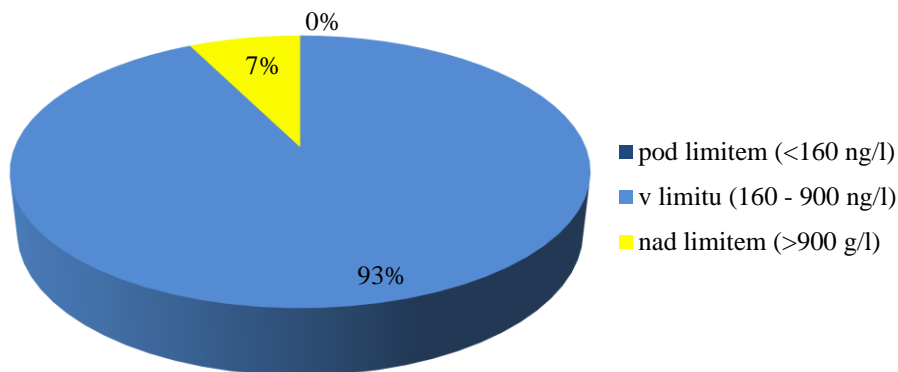
Z celkového množství makrocytárních anémií bylo provedeno vyšetření hladiny vitamínu B12 pouze u 12 % pacientů. Vyšetřeno bylo 27 pacientů, jednalo se o 15 mužů a 12 žen.

Obr. 10 Vyšetření makrocytárních pacientů na deficit vitamínu B12



Fyziologické rozmezí vitamínu B12 je 160 – 900 ng/l. Podle tohoto limitu jsem rozlišila pacienty, kteří mají nižší hladinu vitamínu než je fyziologická mez (< 160 ng/l), na pacienty, kteří jsou v normě a pacienty s vyšší hladinou vitamínu (> 900 ng/l). Podle těchto kritérií jsem došla k výsledku, že v souboru pacientů, který jsem analyzovala, se nevyskytuje žádný pacient s deficitní hladinou vitamínu B12. Většina pacientů měla hladinu vitamínu B12 v referenčních mezích a 2 pacienti měli hladinu vitamínu B12 dokonce zvýšenou.

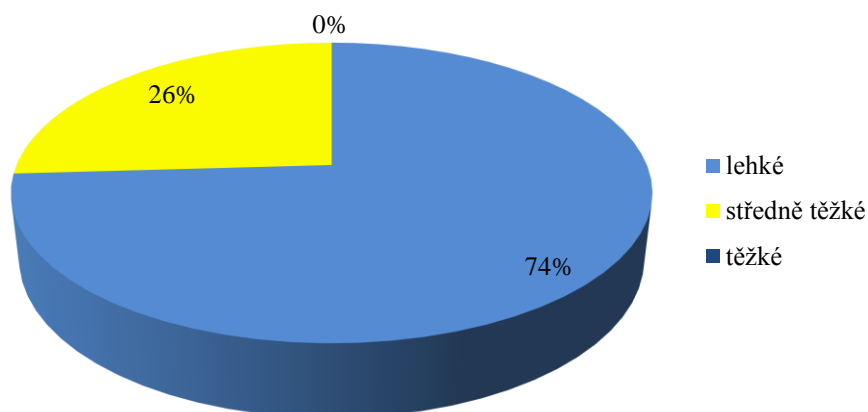
Obr. 11 Hladina vitamínu B12 u pacientů s makrocytární anémií



Nejvyšší hladinou vitamínu B12 u vyšetřovaných pacientů je hodnota 1440 ng/l, naopak nejnižší hladina byla naměřená 198 ng/l.

Jelikož počet vyšetřených pacientů na deficit vitamínu B12 byl nižší než jsem očekávala, zaměřila jsem se na hledání pravděpodobné příčiny. Zaměřila jsem se na sledování pacientů, kteří jsou vyšetřováni a jakou souvislost s požadavkem na vyšetření by mohl mít stupeň anémie. U těžkých anémií hladina naměřená nebyla, převážně se jednalo o anémie lehké, popřípadě středně těžké.

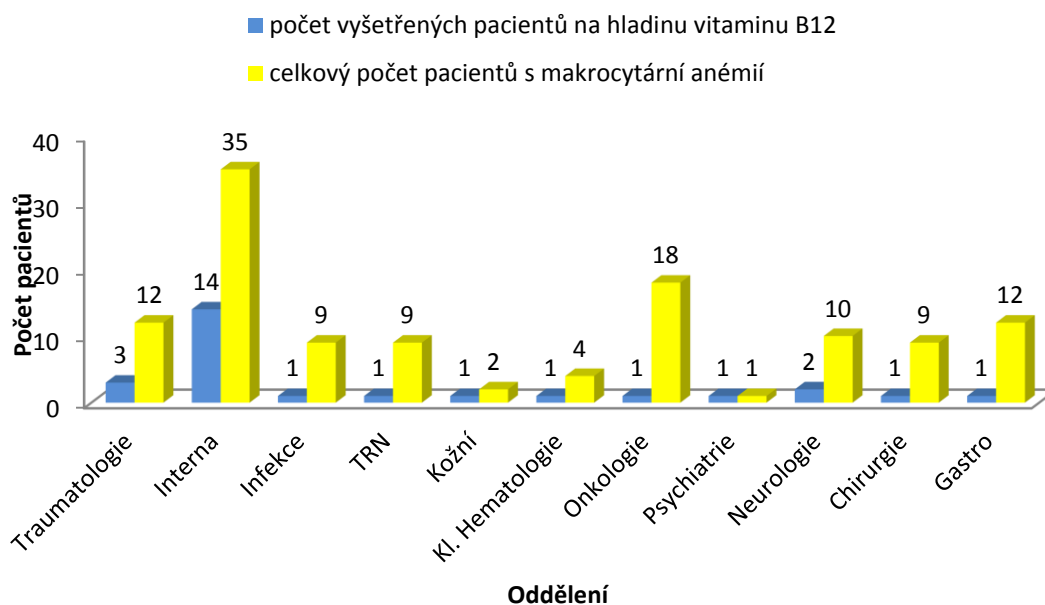
Obr. 12 Vyšetření hladiny vitamínu B12 dle stupně anémie



Dále jsem sledovala, jaká oddělení častěji požadují vyšetření vitamínu B12. Nejvíce hladin vitamínu B12 bylo naměřeno na požadavek interního oddělení a v menším množství na požadavek traumatologie. Naopak některé oddělení jako například gastro, onkologie, neonatologie nebo celý dolní areál vyšetření neprovedli ani v jediném případě. Ovšem existuje možnost, že vyšetření bylo provedeno mimo můj časový rozsah nebo bylo provedeno mimo nemocnici.

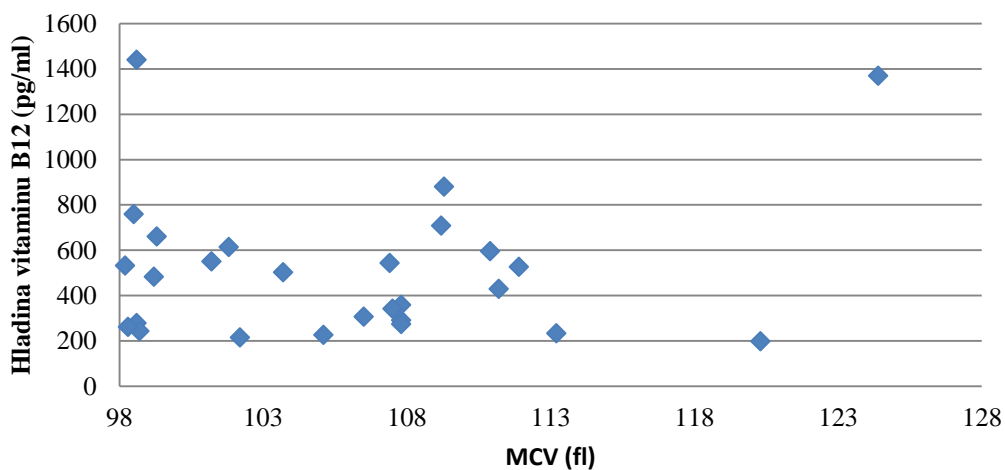
Porovnála jsem kolik pacientů s makrocytární anémií na jednotlivých odděleních bylo a kolik z nich bylo vyšetřeno na deficit vitamínu B12.

Obr. 13 Vyšetření vitamínu B12 dle oddělení



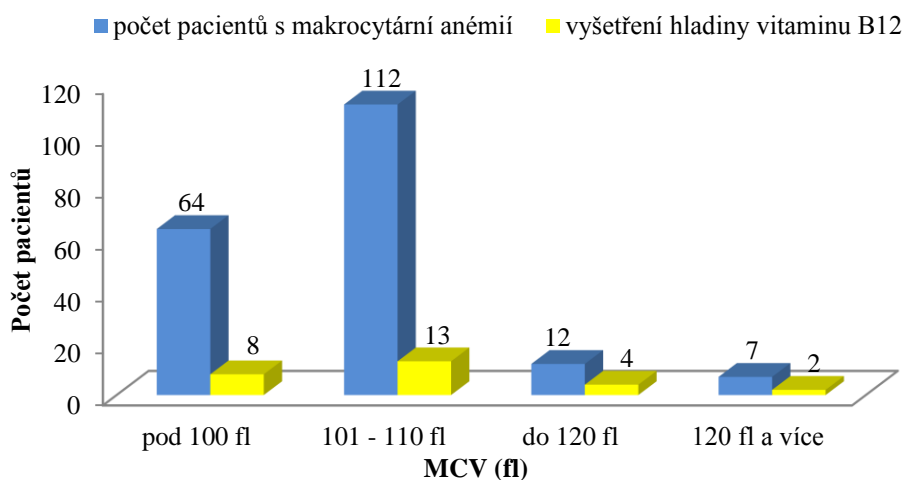
Zároveň jsem zjišťovala, jaká je závislost MCV na hladině vitamínu B12.

Obr. 14 Závislost MCV na hladině vitamínu B12



Podle již uvedených kategorií MCV jsem zkoumala, zda se vyšetřuje hladina vitamínu B12 v závislosti na velikosti hodnoty MCV.

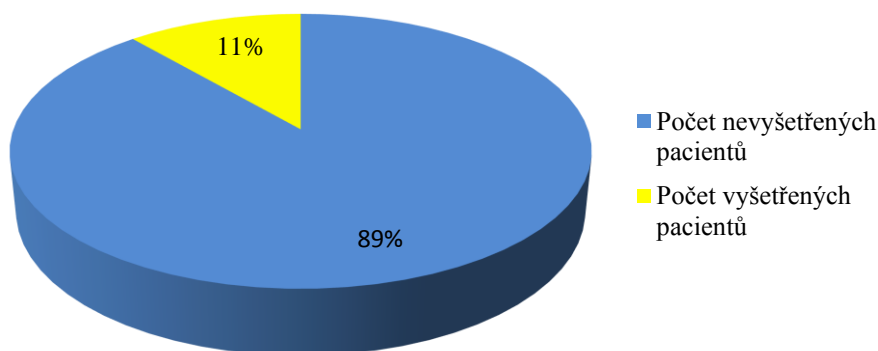
Obr. 15 Vyšetření vitaminů B12 v závislosti MCV



Další příčinou vzniku makrocytární anémie je deficit kyseliny listové. Vyšetření a hladiny kyseliny listové jsem zjišťovala stejně jako v případě vitamínu B12.

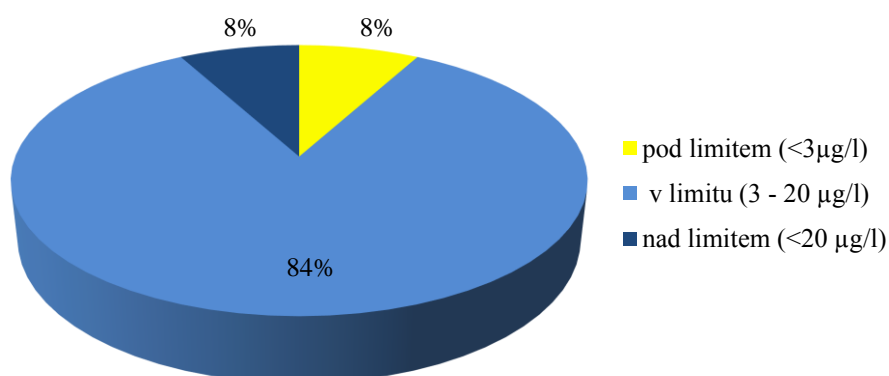
Ze všech makrocytárních pacientů na deficit kyseliny listové bylo vyšetřeno pouze 11% pacientů. Jednalo se o 25 pacientů. Stejně jako v případě vitamínu B12 bylo vyšetřeno větší množství pacientů mužského pohlaví.

Obr. 16 Vyšetření makrocytárních pacientů na deficit kyseliny listové



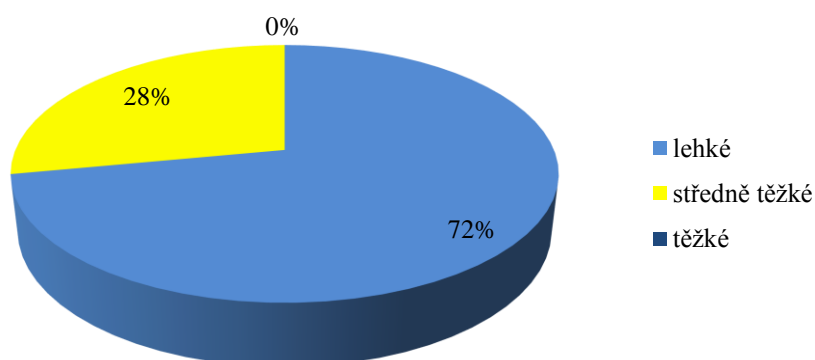
Fyziologické hodnoty kyseliny listové v séru jsou 3 – 20 µg/l. Podle tohoto kritéria jsem rozdělila vyšetřované hladiny kyseliny listové do tří skupin. Pod limitem (<3 µg/l), v limitu (3 – 20 µg/l) a hodnoty přesahující limit (>20 µg/l). Bylo vyšetřeno 8 % deficitních pacientů a 8 % pacientů s navýšenou hodnotou kyseliny listové.

Obr. 17 Hladina kyseliny listové u pacientů s makrocytární anémií



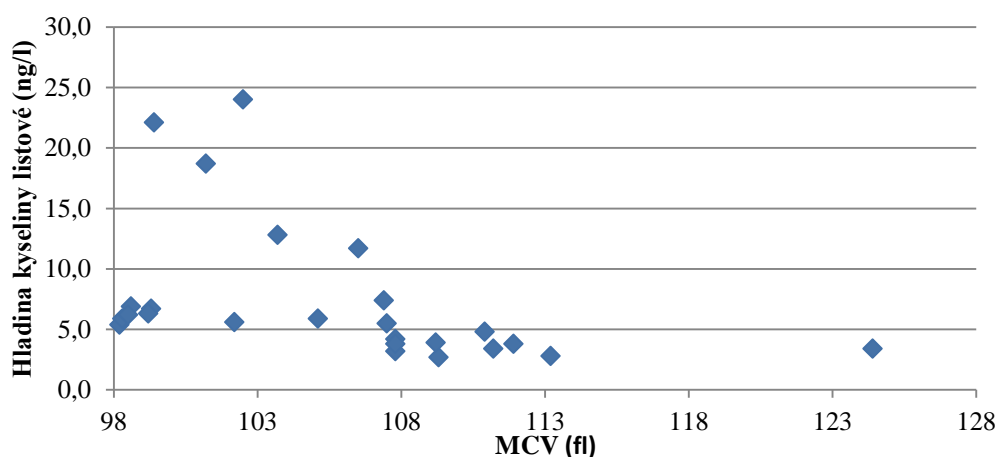
Stejně jako u vitamínu B12 jsem se snažila zjistit, zda požadavky na vyšetření hladiny kyseliny listové souvisí se závažností anémie. V případě kyseliny listové bylo vyšetřeno právěžně lehké anémie, případně anémie středně těžké, těžké anémie za tento časový úsek opět vyšetřeny nebyly.

Obr. 18 Vyšetření kyseliny listové dle stupně anémie



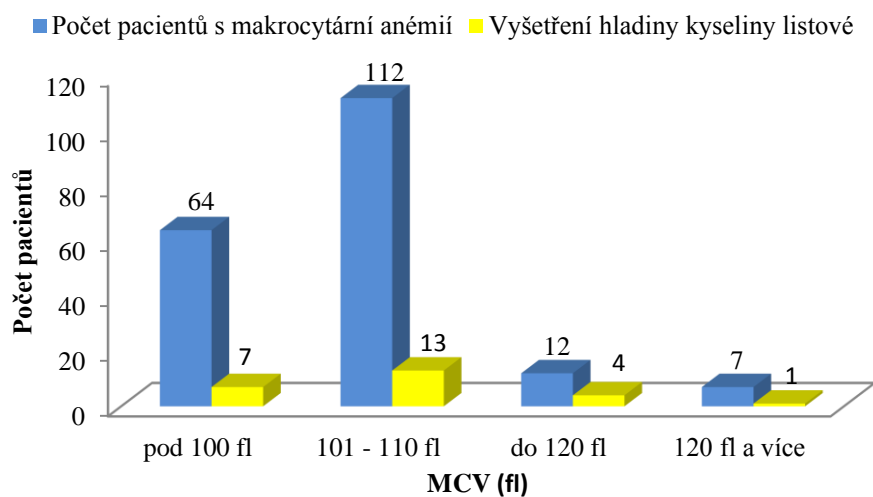
Jelikož stejně jako v případě vyšetřování hladin vitamínu B12 u makrocytárních pacientů, bylo vyšetřeno malé množství pacientů na deficit kyseliny listové, zajímalo mě, zda požadavek na vyšetření této hladiny souvisí s velikostí MCV.

Obr. 19 Závislost MCV na hladině kyseliny listové



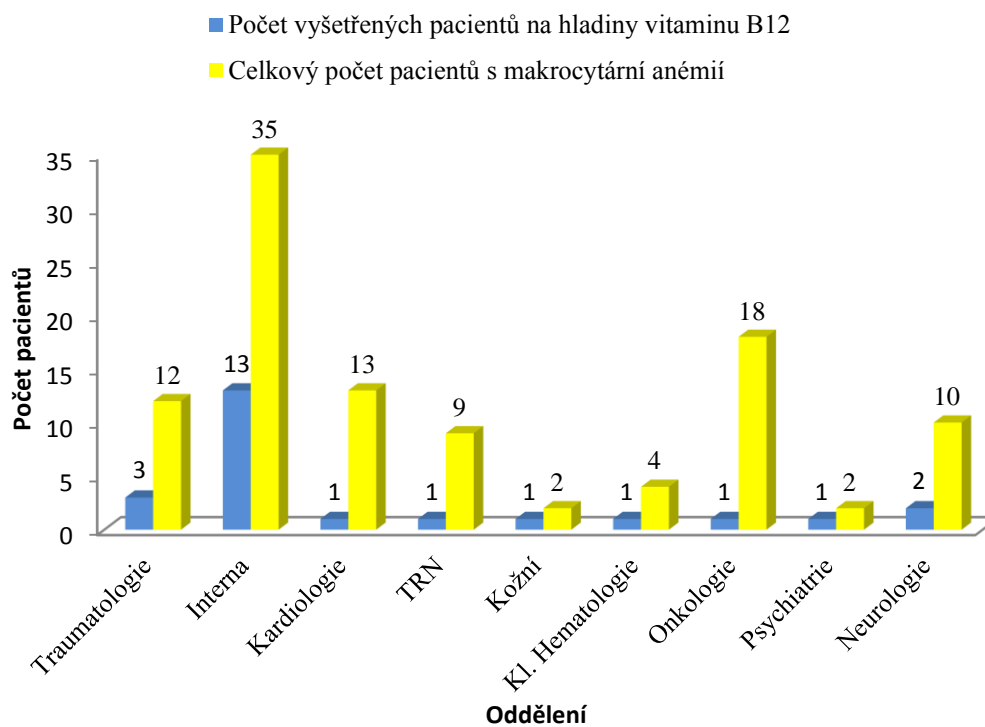
MCV jsem následně podle již dříve zvolených kategorií porovnála, kolik pacientů bylo vyšetřeno na deficit kyseliny listové v souvislosti s MCV.

Obr. 20 Vyšetření kyseliny listové v závislosti na MCV



U vyšetřených pacientů jsem se opět zabývala frekvencí požadovaného vyšetření na jednotlivých odděleních. Stejně jako u vyšetření vitamínu B12 ani hodnota kyseliny listové na mnohých odděleních nebyla požadována.

Obr. 21 Vyšetření hladiny kyseliny listové dle oddělení



11 Diskuze

Souborem dat pro tuto práci byly krevní obrazy za období od 1. do 31. Října 2015 vyšetřené v Nemocnici České Budějovice a.s. na oddělení Klinické hematologie. Jednalo se o více než 7 tisíc vzorků, které jsem podrobně analyzovala pro zjištění frekvence anémií celkově, frekvenci makrocytárních anémií a v závěru pro pozorování vyšetřování příčiny vzniku anémie.

Podle Ramakrishnana (2001) postihují anémie 10% populace v Evropě. V mém souboru dat bylo za daný měsíc zjištěno 28 % pacientů s anémií. Zdá se, že je výskyt tohoto onemocnění vyšší, musíme však přihlídnout k faktu, že daný soubor pacientů je z nemocničního prostředí, kam pacienti přicházejí s určitým problémem na základě kterého jsou dále vyšetřováni.

V rozvinutých zemích se anémie vyskytuje u cca 4 % mužů a 8% žen. (Vydra, 2015) V mém případě byla anémie nalezena častěji u mužů než u žen, přesněji v 54% případech u mužů a 46 % případů u žen.

Nejvyšší prevalence tohoto onemocnění, až 50%, je u těhotných žen a u starších osob. (Ramakrishnan 2001) V mém statistickém souboru bylo nejvíce anemických pacientů po 50 roce věku. Zastoupení žen dominovalo spíše ve fertilním věku do 50 let, naopak starší pacienti s anémií byli převážně mužského pohlaví.

Po sledování závažnosti anémie jsem zjistila, že většina anémií vyšetřených za daný měsíc byla pouze lehká (u 75% pacientů), což je nejspíš důsledkem zahrnutí pacientů, kteří jsou již léčeni.

Až 72 % pacientů bylo klasifikováno jako normocytární, což mě zaskočila, vzhledem k tomu, že nejčastějším typem anémie jsou anémie z nedostatku železa, které patří do skupiny mikrocytárních anémií. (WHO, 2015) Makrocytárních pacientů v celém souboru dat bylo vyšetřeno pouze 12 %, což se dalo očekávat vzhledem k nízkému výskytu těchto forem anémie.

Podle Vydry (2015) se megaloblastové anémie vyskytují nejčastěji u lidí starších 60 let, což se potvrdilo i v mém souboru dat. Zároveň však říká, že se tato forma anémie vyskytuje spíše u žen.

V mém případě byla zjištěna makrocytární anemie z 68 % u mužů a pouze z 32 % u žen. Počet megaloblastických anemií byl příliš malý a nelze ho statisticky hodnotit.

Většina anemií byla vyšetřena jako lehká, popřípadě středně těžká, pouhé dva případy těžkých anemií, což je vzhledem k pravděpodobnosti záchyty pacientů, kteří jsou již léčeni, samozřejmé.

Podle Indrák,a (2014) je asi 95% makrocytárních anemií způsobeno nedostatkem kyseliny listové nebo vitamínu B12. Jelikož se jedná o nejčastější příčiny vzniku makrocytární anémie, očekávala jsem, že většina pacientů bude na hladinu těchto vitamínů dovyšetřena. Zarazilo mě, že pouze malý počet ze všech makrocytárních pacientů bylo na zmíněné deficity dodatečně vyšetřeno. V případě deficitu vitamínu B12 bylo vyšetřeno 12 % pacientů s makrocytární anémií, deficit nebyl prokázán ani v jednom případě. V případě kyseliny listové bylo vyšetřeno 11 % pacientů s makrocytární anémií, u Musíme však vzít v potaz, že někteří z pacientů mohli být vyšetřeni již dříve, vzhledem ke krátkému období mého pozorování, případně mohli být vyšetřeni mimo nemocnici.

Z celkového počtu makrocytárních pacientů bylo vyšetřeno 27 pacientů na deficit vitamínu B12, jednalo se o 12 žen a 15 mužů. Opět se objevuje převaha mužského pohlaví, což je vzhledem k makrocytárním pacientům, kde převažovali muži, pravděpodobné.

V souboru vyšetřených pacientů na deficit vitamínu B12 neměl žádný pacient sníženou hladinu vitamínu B12, přes 90 % pacientů mělo hladinu v normě a 7 % bylo dokonce nad limitem. Důvodem pro toto zjištění by mohlo být, že většina pacientů je již léčena, případně je hladina vitamínu B12 u deficitních pacientů známa. Dalším důvodem je i nízký výskyt perniciozních anemií na našem území (Indrák, 2014), které jsou způsobeny právě deficitem vitamínu B12.

Snažila jsem se zjistit, zda jsou pacienti s makrocytární anémií vyšetřováni v závislosti na závažnosti anémie. Většina vyšetřených pacientů trpěla pouze lehkým stupněm anémie, 26 % pacientů mělo středně těžký průběh a v celém souboru se nevyskytovaly anémie s těžkým průběhem. Zarazilo mě, že nebyly vyšetřeni pacienti,

kteří měli těžkou anémií. Dohledala jsem si tedy, zda u těchto pacientů byla hladina vitamínu B12 vyšetřena dříve, případně jinde. Jednalo se o dvě pacientky s makrocytární anémií a těžkým stupněm anémie. V prvním případě se jednalo o starší ženu, která měla po pádu rozsáhlý hematón do kterého krvácela, čímž se dostala do anemického stavu. V případě druhém se také jednalo o starší pacientku, která měla diagnostikovaný karcinom močového měchýře, ze kterého krvácela. U obou případů bylo důvodem anémie krvácení, nebylo tedy nutné hledat příčinu v deficitu vitamínu B12 ani kyseliny listové.

Závislost MCV na hladině vitamínu B12 nebyla přímo prokázána, tudíž se ukazuje, že u nižších hladin vitamínu B12 se MCV nezvyšuje. Ale vzhledem k tomu, že se v celém souboru nevyskytoval ani jeden pacient s deficitem vitamínu B12 není možné tuto teorii vyvrátit.

Dále jsem sledovala, zda se deficit vitamínu B12 vyšetřuje v závislosti na velikosti hodnoty MCV. Nejvíce bylo vyšetřeno pacientů s hodnotou MCV pod 100 fl. Ale v závislosti na počtu pacientů s makrocytární anémií, bylo nejvíce pacientů 33,4 % vyšetřeno na deficit vitamínu B12 s hodnotou MCV do 120 fl a téměř 29 % vyšetřených pacientů mělo hodnotu vyšší než 120 fl.

V poslední řadě mě zajímalo, zda existuje spojitost mezi požadavkem na vyšetření hladiny vitamínu B12 a jednotlivými odděleními. Nejvíce pacientů na deficit vitamínu B12 bylo vyšetřeno na interním oddělení, celkem 13 pacientů. Ale vzhledem k počtu makrocytárních pacientů na jednotlivých odděleních bylo nejvíce pacientů vyšetřeno na kožním oddělení a na oddělení psychiatrickém, kdy na obou odděleních byli dva pacienti s makrocytární anémií a jeden z nich byl vyšetřen na deficit vitamínu B12, tedy 50 % pacientů bylo dovyšetřeno. V případě interního oddělení bylo vyšetřeno 37 % pacientů s makrocytární anémií.

Ve druhé části jsem zjišťovala frekvenci makrocytárních anémií s deficitem kyseliny listové. Na deficit kyseliny listové bylo vyšetřeno pouze 11 % z celkového počtu makrocytárních pacientů, u dvou pacientů byl deficit prokázán. Jednalo se o 25 pacientů, opět s mírnou převahou u mužů. V případě kyseliny listové bylo vyšetřeno 8 % pacientů s deficitem a 8 % s vyšší hladinou kyseliny listové, ostatní pacienti měly

naměřeny normální hladiny vitamínu. Stejně jako u vitamínu B12 jsem zjistila, že v souboru pacientů nebyl žádný pacient s těžkým stupněm anémie, 28 % pacientů bylo se středně těžkým průběhem a ostatní pacienti s průběhem lehkým.

Jelikož v souboru pacientů vyšetřených na deficit kyseliny listové se vyšetřilo 8 % deficitních pacientů, je viditelná větší závislost vyššího MCV na nižší hladině kyseliny listové. Když jsem se zaměřila na porovnání, zda se hladiny kyseliny listové vyšetřují v závislosti na hodnotě MCV, zjistila jsem, že nejvíce pacientů bylo vyšetřeno na základě hodnoty do 120 fl.

Na závěr jsem sledovala, která oddělení nejvíce požadují vyšetření kyseliny listové. Stejně jako v případě vitamínu B12, nejvíce pacientů je vyšetřeno z interního oddělení. Avšak vzhledem k počtu pacientů s makrocytární anémií bylo nejvíce pacientů vyšetřeno na psychiatrii, kde byl pouze jeden pacient s makrocytární anémií a současně byl i vyšetřen na deficit kyseliny listové. Jeden ze dvou pacientů byl vyšetřen i na kožním oddělení. 40 % pacientů bylo vyšetřeno na interním oddělení.

12 Závěr

Cílem mé práce bylo zjistit frekvenci výskytu makrocytárních anémií a jejich nečastějších příčin. Zjistila jsem, že v souboru pacientů za jeden měsíc se vyskytovalo 12% makrocytárních pacientů. Přesto, že nejběžnější příčiny byly u pacientů s makrocytární anémií vyšetřovány pouze zřídka, zjistila jsem, že v daném souboru pacientů s makrocytární anémií se neobjevil žádný případ deficitu vitamínu B12 a u dvou pacientů byl prokázán deficit kyseliny listové. Požadované cíle jsem tedy splnila.

Dále jsem si stanovila dvě základní hypotézy vztahující se k mému tématu. První hypotézou bylo, že frekvence výskytu anémie stoupá s věkem. Tuto hypotézu jsem potvrdila, jelikož v mém souboru dat se výskyt anémií zvyšoval po 50. roce věku pacientů. Druhou hypotézou bylo, že se makrocytární anémie vyskytuje častěji u ženského pohlaví. Tuto hypotézu jsem naopak nepotvrdila, jelikož v mém souboru pacientů převažoval výskyt těchto forem anémií u pohlaví mužského. Doufám, že mé poznatky a výsledky napomohou k dalšímu řešení této problematiky a přispějí k častějšímu hledání a vyšetřování příčin vzniku anémií a tím dojde ke zlepšení efektivity léčby.

13 Seznam použitých zdrojů

1. ASLINIA, F., J. J. MAZZA a S. H. YALE. Megaloblastic Anemia and Other Causes of Macrocytosis. *Clinical Medicine & Research*. Marshfield Clinic, 2006, **4**(3), 236 - 241.
2. BENOIST, B. et al. Worldwide prevalence of anaemia 1993–2005 : WHO global database on anaemia, 2008
3. BEUTLER, E. et al. *Williams Hematology*. 5th edition. New York: McGraw-Hill, 1995. 1168 s. ISBN 0–07-070386–8.
4. BULIKOVÁ, A. Anemie v praxi. *Interní medicína pro praxi* . 2011, **13**(1), 31 – 34.
5. BRANČÍKOVÁ, D. Jak ovlivnit anémii stravováním? *Interní medicína pro praxi*. 2012, **14**(5), 231 - 234.
6. BROSS, M. H., K. SOCH a T. SMITH-KNUPPEL. Anemia in Older Persons. *American Family Physician*. 2010, **82**(5), 480 - 487.
7. ERBENOVÁ, O. Anémie - diferenciální diagnóza na základě laboratorních dat. *Practicus*. 2007, **6**(8), 9-12.
8. FAJFROVÁ, Jana. Vitaminy a jejich funkce v organismu. *Interní medicína* . 2011, **13**(12), 466 – 468.
9. FRIEDMANN, B. *Hematologie v praxi*. 1. vyd. Praha: Galén, 1994. ISBN 80-858-2405-1.

10. HOFFBRAND, V., D. PROVAN. ABC of clinical haematology. Macrocytic anaemias. *BMJ: British Medical Journal*. 1997; **314**(7078):430-433.
11. HOFFBRAND, A., P. MOSS a J. PETTIT. *Essential haematology*. 6th ed. Malden, Mass.: Wiley-Blackwell, 2011. ISBN 978-140-5198-905.
12. HRUBIŠKO, M. *Hematologie a krevní transfúze: Hematologie*. 1. české vyd. Praha: Avicenum, 1983.
13. INDRÁK, K. *Hematologie a transfuzní lékařství*. Vyd. 1. V Praze: Triton, 2014. ISBN 978-80-7387-722-4.
14. KAFERLE, J. a CH. E. STRZODA. Evaluation of Macrocytosis. *American Family Physician*. 2009, **79**(3), 203 - 208.
15. KLENER, Pavel. *Vnitřní lékařství*. 3., přeprac. a dopl. vyd. Praha: Karolinum, 2006. ISBN 80-246-1252-6.
16. KOUCKÝ, J. Patologie kyseliny listové a těhotenství. *Praktické lékařství*. 2011, **7**(4), 166-170.
17. KOZÁK, T. et al. *Vnitřní lékařství: Hematologie*. 1. vyd. Praha: Karolinum, c2001. ISBN 80-726-2085-1.
18. KUBISZ, P. et al. *Hematológia a transfuziológia: učebnica*. 1. vyd. Praha: Grada, 2006. ISBN 80-247-1779-4.
19. KRČ, I. Diagnostika nejběžnějších typů anémie. *Interní medicína pro praxi*. 2001, **3**(2), 84-88.

20. KRČ, I. Řešení anemického syndromu pro lékaře v praxi. *Interní medicína pro praxi* . 2002, **9**(1), 452 – 456.
21. LANGAN, R. C. a K. J. ZAWISTOSKI. Update on Vitamin B12 Deficiency. *American Family Physician* . 2011, **83**(12), 1425 – 143.
22. PALACIOS, G. at al. Algorithm for the Early Diagnosis of Vitamin B12 Deficiency in Elderly People. *Nutrición Hospitalaria*. 2013, **28**(5), 1447 - 1452.
23. PECKA, M. *Laboratorní hematologie v přehledu: Fyziologie a patofyziologie krevní buňky*. 1. Český Těšín: FINIDR, 2006. ISBN 80-866-8200-5.
24. PENKA, M. et al. *Hematologie I: Neonkologická hematologie*. 1. vyd. Praha: Grada, 2001. ISBN 80-247-0023-9.
25. QATATSHEH, A. Vitamin B12 Status in Males and Females of different Age Groups. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* . 2011, **6**(2), 221-226.
26. RAMAKRISHNAN, U. *Nutritional anemias*. Boca Raton: CRC Press, 2001. ISBN 978-142-0036-787.
27. RODAK, B. F., G.A. FRISTMA a E. KEOHANE. *Hematology: Clinical Principles and Applications*. 4. Elsevier Saunders, 2012. ISBN 9781437706925.
28. SOBOTKA, L.. Vitaminy. *Interní medicína pro praxi* . 2003, **2**(1), 61-67.
29. STIBŮREK, O. Anémie při chorobách gastrointestinálního traktu. *Medicína pro praxi* . 2010, **7**(2), 64-68.

30. UNNIKRISHNAN, V. a et al. Clinico-aetiologic Profile of Macrocytic Anemias with Special Reference to Megaloblastic Anemia. *Indian Journal of Hematology & Blood Transfusion*. 2008, **24**(4), 155 - 165.
31. VYDRA, J. et al. *Hematologie v kostce*. 1. Praha: Mladá fronta, 2015. Aeskulap. ISBN 978-80-204-3698-6.
32. WHO. The global prevalence of anaemia in 2011. Geneva: World Health Organization; 2015.