

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Zdravotně sociální fakulta

**Stanovení krevního obrazu u sideropenických anemií a sledování  
závislosti výsledku léčby na míře vstřebávání železa**

Bakalářská práce

Autor: Daniela Panochová

Vedoucí práce: MUDr. Ivan Vonke

Datum odevzdání: 5. 5. 2011

Determination of blood counts at sideropenic anemia, and monitoring depending on the outcome rate of iron absorption.

#### Abstract

Sideropenic anemia (iron deficiency anemia) is the most common anemia all over the world. The cause of this anemia type is lack of iron. This thesis deals with the determination of blood picture treatment results and iron absorption in patients with sideropenic anemia.

In the practical part, the methods of blood picture determination as well as iron determination and the resorption curve are described. The blood picture is provided at the Clinical Haematology Ward of the České Budějovice Hospital, Corp. on the analyzer of company Beckman- Coulter Counter LH 455. Iron levels are provided in the laboratory of Clinical Chemistry of České Budějovice Hospital, Corp on the analyzer Advia. The primary goal of this thesis was proven; absorption has a significant impact on the effect of peroral treatment.

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma Stanovení krevního obrazu u sideropenických anemií a sledování závislosti výsledku léčby na míře vstřebávání železa vypracovala 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 Zdravotně sociální fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách.

V Českých Budějovicích .....

.....

Podpis studenta

**Poděkování:**

Ráda bych tímto chtěla poděkovat svému školiteli MUDr. Ivanu Vonkemu, za odborné vedení, poskytnutí důležitých informací k mé práci a za velkou trpělivost.

## Obsah

|   |    |
|---|----|
| Úvod .....  | 7  |
| 1. Současný stav .....                            | 8  |
| 1.1 Krev a její složení .....                     | 8  |
| 1.1.1 Krevní plazma .....                         | 8  |
| 1.1.2 Červené krvinky (erytrocyty) .....          | 8  |
| 1.1.3 Bílé krvinky (leukocyty) .....              | 9  |
| 1.1.4 Krevní destičky (trombocyty) .....          | 9  |
| 1.2 Fyziologie erytrocytů .....                   | 10 |
| 1.2.1 Hemoglobin .....                            | 11 |
| 1.3. Anemie .....                                 | 12 |
| 1.3.1 Definice .....                              | 12 |
| 1.3.2 Klinické příznaky .....                     | 13 |
| 1.3.3 Dělení anemií .....                         | 13 |
| 1.3.3.1 Anemie z poruchy krvetvorby .....         | 15 |
| 1.3.3.2 Anemie ze zvýšené ztráty erytrocytů ..... | 18 |
| 1.3.3.3 Akutní posthemoragické anemie .....       | 19 |
| 1.4 Sideropenická anemie .....                    | 19 |
| 1.5 Železo a jeho metabolismus .....              | 21 |
| 1.5.1 Transferin .....                            | 22 |
| 1.5.2 Feritin .....                               | 22 |
| 1.5.3 Hemosiderin .....                           | 23 |
| 1.5.4 Hepcidin .....                              | 23 |

|   |    |
|---|----|
| 2. Cíl práce a hypotézy .....                                       | 25 |
| 2.1 Cíl práce .....   | 25 |
| 2.2 Hypotézy .....  | 25 |
| 3. Materiál a metody .....  | 26 |
| 3.1 Materiál .....  | 26 |
| 3.2 Metody .....  | 26 |
| 3.2.1 Stanovení krevního obrazu .....                               | 26 |
| 3.2.1.1 Stanovení krevního obrazu hematologickými analyzátory ..... | 28 |
| 3.2.1.2 Mikroskopické stanovení krevního obrazu .....               | 28 |
| 3.2.1.2 Zhotovení a obarvení krevního nátěru .....                  | 28 |
| 3.2.2 Stanovení železa .....  | 29 |
| 3.2.3 Stanovení resorpční křivky .....                              | 30 |
| 3.2.4 Statistické vyhodnocení .....                                 | 30 |
| 4. Výsledky .....   | 31 |
| 5. Diskuze .....  | 36 |
| 6. Závěr .....  | 39 |
| 7. Seznam použitých zdrojů .....                                    | 40 |
| 8. Klíčová slova .....  | 44 |

## Úvod

Anemie neboli chudokrevnost, vzniká z různých příčin. U nemocného, který trpí anemií, nacházíme snížený počet červených krvinek, ale také sníženou hodnotu hemoglobinu a nízký hematokrit (poměr mezi červenými krvinkami a plazmou).

Sideropenická anemie patří mezi nejčastější anemie vůbec. Je to anemie způsobená nedostatkem železa. Anemie může mít několik příčin. Může se jednat o chronické ztráty krve při krvácení ze zažívacího traktu, z tlustého či tenkého střeva. Dále může být anemie způsobená nedostatečným příjmem železa z potravy, ať už špatným vstřebáváním, či špatnou výživou. A v neposlední řadě může mít žena v těhotenství nebo při menstruačním krvácení zvýšené nároky na železo, tudíž zvýšenou spotřebou. Vyskytuje se u obou pohlaví různého věku.

Nedostatek železa vzniká obvykle pomalu a rozlišujeme u něj tři fáze a to prelatentní, latentní a manifestní. V prelatentní fázi se objevuje jen vyčerpání zásob železa, tím pádem klesá hodnota feritinu. V latentním stádiu jsou zásoby už zcela vyčerpány, snižuje se i koncentrace železa v séru dostupného pro erythropoézu, tzn. i saturace transferinu. V manifestní fázi dochází k tomu, že nedostatek železa má negativní vliv na syntézu proteinů, které obsahují železo, což vede k symptomům, které charakterizují sideropenickou anémií. Mezi důležité symptomy sideropenické anemie patří slabost, ospalost, bledost, ztráta chuti k jídlu, pálení jazyka a úst a některé další.

Při těžkých formách je anemie hypochromní a mikrocytární. Nátěr periferní krve může odhalit, že erytrocyty jsou menší a světlejší, než by měly být a také mají rozdílnou velikost (anizocytóza) a rozdílný tvar jednotlivých erytrocytů (poikilocytóza).

Cílem mé práce bude stanovení výsledků léčby krevního obrazu a vstřebávání železa u pacientů se sideropenickou anemií. Jelikož se v léčbě sideropenických anemií uplatňuje podání železa v perorální formě, má předpokládaná hypotéza je, že výsledky při léčbě železem u pacientů s anemií z nedostatku železa jsou závislé na resorpční křivce. V praktické části se zaměřím na využití metod ke stanovení krevního obrazu, stanovení hladiny železa a stanovení resorpční křivky.

# 1. Současný stav

## 1.1 Krev a její složení

Krev je jednou z hlavních součástí vnitřního organismu. Svým složením a funkcemi představuje životně důležitou tekutinu, která jako pohyblivé médium spojuje všechny orgány v těle a má rozhodující homeostatický význam.

Krev je suspenze buněčných elementů – červených a bílých krvinek a destiček – v krevní plazmě (Trojan 2003). Tvoří cca 7% tělesné hmotnosti, tj. 4,5 – 5 litrů. Ženy mají o něco méně krve než muži, což je dáno opět větším podílem tukové tkáně u žen (na rozdíl o většího podílu svaloviny u mužů, která je metabolicky aktivnější než tuk).

### 1.1.1 Krevní plazma

Krevní plazma je nažloutlá kapalina, obsahující četné anorganické a organické látky. Hodnota pH plazmy (krve) je 7,4 a je poměrně velmi stabilní. Objem plazmy u dospělého člověka je cca 2,8 až 3,5 litrů (Mourek 2005). Hlavním extracelulárním kationtem je sodíkový ion. Mezi nejdůležitější anionty krevní plazmy patří chloridový a hydrogenuhličitanový aniont. Dále jsou v plazmě přítomny v menším množství draslík, vápník, hořčík. Ze stopových prvků je to např. nejdůležitější železo, jód apod. Z organických látek jsou v plazmě přítomny různé bílkovinné a nebílkovinné dusíkaté látky, sacharidy, lipidy, dále látky tvořící se při metabolismu bílkovin (bilirubin, močovina, acetonové látky) a látky, které jsou ve stopovém množství potřebné pro normální vývoj a funkci orgánů: vitamíny a hormony (Hrubiško et al. 1981).

Jak už bylo dříve zmíněno, buněčná složka krve se skládá z červených krvinek (erytrocytů), bílých krvinek (leukocytů) a krevních destiček (trombocytů).

### 1.1.2 Červené krvinky (erytrocyty)

O nich bude pojednávat později samostatná kapitola.



### *1.1.3 Bílé krvinky (leukocyty)*

Bílé krvinky představují mobilní jednotku obranného systému organismu. Na rozdíl od erytrocytů jde o morfologicky i funkčně heterogenní skupinu. Rozdělují se na granulocyty a agranulocyty. Granulocyty dělíme podle barvitelnosti a velikosti na neutrofilní, eosinofilní a basofilní. Agranulocyty nemají granula a dělí se na monocyty a lymfocyty. Počet leukocytů v krvi je  $4 - 10 \times 10^9$ /litr. Téměř stejné množství je ještě ve tkáních a lymfatických orgánech. Jejich počet se zvyšuje při infekčních onemocněních. Leukocyty (hlavně neutrofilní granulocyty a monocyty) mají schopnost fagocytózy, což je schopnost pohlcovat a posléze i usmrctvat buňky poškozené např. bakteriemi a viry. Protože monocyty při fagocytóze vykazují mnohem větší kapacitu, říkáme jim makrofágy (Mourek 2005).

### *1.1.4 Krevní destičky (trombocyty)*

Krevní destičky (trombocyty) jsou nejmenší formované elementy krve. Nemají jádro, mají tvar hladkých okrouhlých disků o průměru  $2 - 4 \mu\text{m}$ . Počet trombocytů je celý život stejný a pohybuje se v rozmezí  $150 - 400 \times 10^9$ /litr krve. Neustále se musí obměňovat, protože jejich životnost je poměrně krátká, cca 9 – 12 dní. Destičky obsahují četné granule; tzv. denzní granula obsahují např. kalcium, serotonin, ATP (adenozintrifosfát). Alfa-granula obsahují některé faktory, které jsou nutné pro hemokoagulaci, ale také velmi významný růstový faktor, který podporuje hojení poraněné cévní stěny. Nejdůležitější funkcí destiček je jejich úloha v ochraně organismu před ztrátami krve. Svým vybavením vlastně tvoří kompletní hemostatickou jednotku (Mourek 2005).

## 1.2 Fyziologie erytrocytů

Erytrocyty neboli červené krvinky jsou bezjaderné krevní elementy bikonkávního tvaru. Jsou ze všech krvinek nejpočetnější. Udává se, že celková masa erytrocytů je 40 – 45% celého objemu krve. Flexibilní membrána umožňuje červeným krvinkám projít i kapilárami s menším průměrem než jsou ony samy. Hlavním úkolem červených krvinek je zabezpečovat okysličování tkání. Erytrocyt po dobu svého života cirkuluje v krvi, aby mohl kyslík vratně navázaným složitým biochemickým dějem na železo v barevné složce bílkovinné molekule hemoglobinu lehko odevzdávat tkáním (Hrubíško et al. 1981). Fyziologické hodnoty jsou u obou pohlaví rozdílné. Muži mají  $4,5 - 5,9 \times 10^{12}$  l zatímco ženy mají  $3,9 - 5,1 \times 10^{12}$  erytrocytů.



Obr. 1: Erytrocyty

Zdroj: [www.allposters.com](http://www.allposters.com)

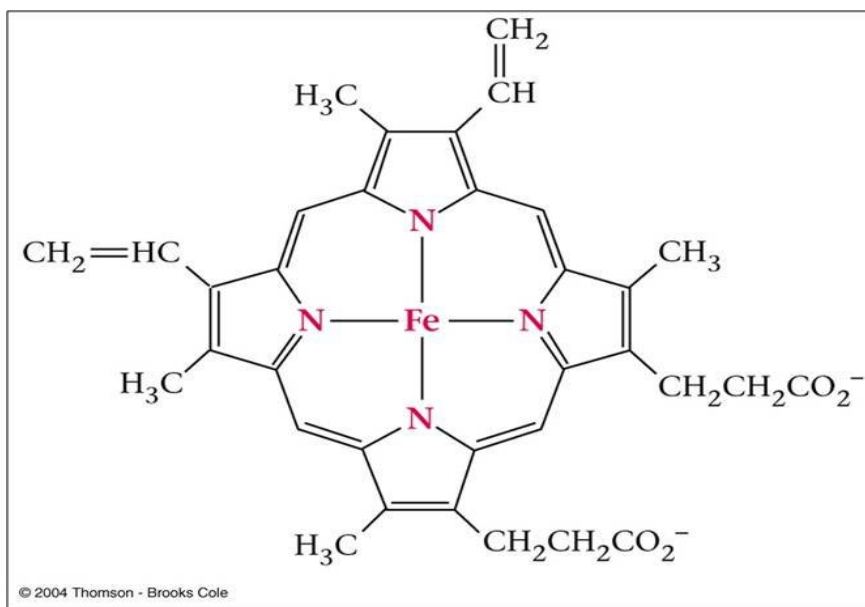
Tvorba červených krvinek je řízena hormonem – erytropoetinem, který vzniká v ledvinách. Produkce erytropoetinu je závislá na množství kyslíku. Klesá-li tlak kyslíku (např. ve vysokých výškách), tvoří se více erytropoetinu, který povzbuzuje kostní dřeň k tvorbě vyššího množství erytrocytů. Druhým regulátorem krvetvorby je samostatné množství erytrocytů. Při vyšším počtu červených krvinek v cirkulující krvi klesá jejich tvorba v kostní dřeni (Dylevský 2000).

Normální červené krvinky žijí v krevním oběhu přibližně 110 - 120 dní. Při stárnutí se zmenšuje a jejich membrána se ztenčuje. Erytrocyt dostává kulovitý (sférický) tvar. Takto změněný erytrocyt se obtížně pohybuje v kapilárním řečišti, zachycuje se zejména ve slezině a je fagocytován – erytrocyt zaniká (Pecka 2006).

### *1.2.1 Hemoglobin*

Nejdůležitější složkou červených krvinek je červené krevní barvivo – hemoglobin. Lidský hemoglobin je složitá krevní bílkovina (hemoprotein) o MW 64 450 Da. Hemoglobin vyplňuje zdravý erytrocyt a umožňuje mu plnit funkci přenosu kyslíku (Pecka 2002). Hemoglobin – jedna z nejvýznamnějších molekul živočišné říše - je konjugovaná bílkovina, která se skládá ze čtyř subjednotek. Každou subjednotku tvoří polypeptidový řetězec, ke kterému se váže prostetická skupina hem. Hem je komplexní sloučenina, tvořená protoporfirinem IX (tetrapyrolový kruh) s centrálním atomem dvojmocného železa (Trojan 2003). 96% celé molekuly hemoglobinu se skládá z globinu. Globin je bílkovina, která obsahuje čtyři polypeptidové řetězce. Struktura hemoglobinu je ukázána na obrázku 2.

Během vývoje člověka dochází k výměně typu hemoglobinu. V intrauterinním vývoji má plod k dispozici v krvi tzv. fetální hemoglobin (HbF), který se liší od hemoglobinu dospělého typu (HbA) ve své globinové složce. Význam HbF spočívá v tom, že jeho afinita vázat kyslík je vyšší, a proto se fetální krev (erytrocyty) plně sytí kyslíkem, i když  $pO_2$  v placentě je zřetelně nižší než v alveolárním vzduchu v plicích matky. Po narození se postupně HbF vyměňuje za HbA, což je spojeno s rozpadem erytrocytů u novorozence a následnou novorozeneckou žloutenkou (icterus neonatorum) (Mourek 2005). Fyziologické hodnoty hemoglobinu jsou u mužů 135 – 172 g/l a u žen 120 – 162 g/l.



Obr. 2: **Struktura hemoglobinu**

Zdroj: <http://www.nebrwesleyan.edu/people/nfackler/lecturelinks/images/Overheads/Fig%2015-A.jpg>

### 1.3 Anemie

#### 1.3.1 Definice

Anemie je definována snížením koncentrace hemoglobinu v krvi, tj. pod 135g u mužů, u žen pod 120g. Většinou je také snížen hematokrit a počet erytrocytů.

Anemie není choroba, ale syndrom vznikající z různých příčin, charakterizovaný především sníženou hodnotou hemoglobinu, sníženým počtem erytrocytů a sníženým hematokritem. Přesnější je definovat anemii jako poruchu přenosu kyslíku do tkání, neboť počet erytrocytů může být snížen jen relativně při hemodiluci (hypervolémie v graviditě, při městnavé srdeční slabosti aj.). Naproti tomu při sníženém počtu erytrocytů může zůstat hematokrit normální (např. při hypovolémii) (Klener et al. 1995).

### *1.3.2 Klinické příznaky*

Jelikož je hemoglobin nízký, je nízký i počet erytrocytů, takže nedochází ke správnému dokrvění tkání a orgánů. Tělo si rozdělí, kam krev za každých podmínek musí přicházet, (srdce, mozek, plíce) a tak dochází k úbytku krve ve tkáních jako je například kůže. Proto jsou lidé s anémií bledí nejvíce na kůži a sliznicích. Kvůli nedostatku kyslíku se neodvádí dostatečné množství oxidu uhličitého ze svalů, což má za následek celkovou únavu a vyčerpání organismu. Dostavuje se letargie, dušnost, tachykardie. U některých jedinců se může vyskytnout i porucha spánku. Pacienti, kteří trpí kardiovaskulární poruchou patří k ohrožené skupině, neboť u nich anémie může vyvolat i srdeční selhání.

Základní klinické příznaky lze rozdělit do 3 skupin:

- příznaky jež jsou důsledkem sníženého transportu kyslíku (únava, dušnost, angina pectoris, orgánové poruchy);
- příznaky ze sníženého plazmatického volumu (bledost, posturální hypotenze);
- příznaky ze zvýšeného srdečního objemu (palpitace, průtokové srdeční šelesty, tachykardie).

Další symptomy se liší podle druhu anemie (Klener et al. 1995).

### *1.3.3 Dělení anemií*

Anemie dělíme podle morfologické a etiopatogenetické klasifikace.

#### A. Morfologická klasifikace

U každého anemického pacienta musíme udělat krevní obraz, který musí mít tyto parametry: hodnotu hemoglobinu (Hb), počet erytrocytů, hematokrit (hkt), objem erytrocytů (MCV), množství hemoglobinu v 1 erytrocytu (MCH), počet leukocytů a trombocytů a při prvním vyšetření i počet retikulocytů (Klener et al. 1995). Důležité je také mikroskopické vyšetření krevního nátěru, kde se hodnotí tvar a velikost erytrocytů (např. ovalocyty, sférocyty).

Podle těchto údajů pak dělíme anémie morfologicky podle velikosti erytrocytů (normocytové, makrocytové a mikrocytové) a podle množství hemoglobinu v erytrocytu (normochromní a hypochromní).

## B. Etiopatogenetická klasifikace

Tato klasifikace rozděluje anemie podle příčiny vzniku a je tak východiskem pro přesné zařazení a cílenou léčbu. Podle této klasifikace můžeme rozdělit anemie do čtyř hlavních skupin:

- a) z poruchy krve tvorby,
- b) ze zvýšené destrukce erytrocytů (hemolytické),
- c) z krevních ztrát (posthemoragické) (Indrák et al. 2006).

### A. Anemie z poruchy krve tvorby patří:

- 1) Anemie z poruchy syntézy hemu
  - a. Sideropenická anemie
  - b. Sideroblastická anemie
- 2) Anemie chronických chorob
- 3) Anemie z poruchy syntézy globinu
  - a. Talasemie
- 4) Anemie z poruchy syntézy DNA
  - a. Megaloblastové anemie
- 5) Aplastické anemie
- 6) Dysplastické (dyserythropoetické) anemie

### B. Anemie ze zvýšené ztráty erytrocytů

## 1) Hemolytické anemie

### C. Akutní posthemoragická anemie

#### *1.3.3.1 Anemie z poruchy krvetvorby*

- *Anemie z poruchy syntézy hemu*

Do této skupiny patří sideropenické anemie a sideroblastické anemie. O sideropenické anemii budu psát v samostatné kapitole.

#### *Sideroblastické anemie*

Sideroblastické anemie jsou heterogenní skupinou onemocnění, která vznikají v důsledku nedostatečného využití železa, následkem poruchy některé z cest syntézy molekuly hemoglobinu. Přebytečné železo se hromadí v podobě granulí v mitochondriích erytroblastů, kde vytváří prstence kolem jádra (Pecka 2002).

Rozlišujeme vrozené a sekundární sideroblastické anemie. U vrozené sideroblastické anemie předpokládáme enzymatickou poruchu nebo blokádu v syntéze hemu a porfyrinu. Sekundární sideroblastické anemie jsou vyvolány účinkem různých chemických látek například některých léčiv a alkoholů. Laboratorní nález sideroblastické anemie je makrocytová hypochromií anemie a zvýšená hladina sérového železa.

- *Anemie chronických chorob*

Anemie je dosti běžným a banálním nálezem u většiny chronických a zánětlivých chorob a maligních nádorových procesů. Velká část anemií, které diagnostikujeme v běžné praxi, je často jen příznakem jiné základní choroby: čím je tato choroba těžší, tím je obvykle anemie hlubší. Nejnápadnější na těchto anemiích je jejich nenápadnost: anemie je mírná, nemocní jsou na ni většinou dobře adaptováni,

hemoglobin má hodnoty 80-110 g/l. Tuto anemii někdy diagnostikujeme dříve než základní chorobu.

Přežívání erytrocytů je téměř vždy mírně zkrácené a je zde porucha metabolismu železa. Zkrácené přežívání erytrocytů je způsobené mimokrvinkovými faktory (i transfundované erytrocyty zdravých jedinců žijí kratší dobu v oběhu těchto nemocných), ale mechanismus není jasný (Friedmann 1994).

- *Anemie z poruchy syntézy globinu*

#### *Talasemie*

Anemie, které jsou způsobeny poruchou tvorby jednoho nebo více polypeptidových řetězců globinu jsou označovány jako talasemie. Jde o vrozená, recesivně dědičná onemocnění s různou expresí mutovaných genů, což má za následek velmi variabilní klinickou manifestaci.

Podle toho, zda je v molekule globinu porušena především tvorba řetězce  $\alpha$  nebo  $\beta$ , rozlišujeme hlavní dva typy talasemie –  $\alpha$ -talasemii a  $\beta$ -talasemii, existuje však více typů talasemických syndromů. Struktura postiženého řetězce zůstává zachována, ale rychlost tvorby je snížena, nebo u těžkých forem není řetězec vůbec syntetizován (Penka 2009).

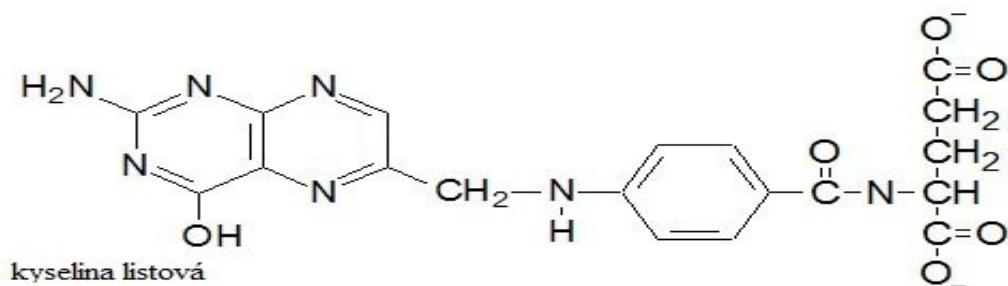
- *Anemie z poruchy syntézy DNA*

#### *Megaloblastové anemie*

Megaloblastové anemie jsou makrocytové anemie charakterizované přítomností velkých erytrocytů – makrocytů, případně makroovalocytů (megalocytů) v obvodové krvi a megaloblastovou přestavbou kostní dřeně s inefektivní hematopoézou (Indrák et al. 2006). Příčinou je buď porucha metabolismu vitamínu B<sub>12</sub> a kyseliny listové, nebo může porucha syntézy DNA vznikat v důsledku působení léků (antimetabolity, cytostatika), či je porucha přímo v genetickém vybavení buňky, jak je tomu například u myelodysplastických syndromů.



V nepřítomnosti obou vitamínů (vitamin B<sub>12</sub>, kyselina listová) dochází k poruše přenosu metylové skupiny nutné k metylaci deoxyuridinu na tymidin, a tím k poruše tvorby DNA, prodloužení metabolismu buněk a jejich setrvání v S-fázi mitózy. Výsledkem je tvorba krátkých tzv. Okazakiho fragmentů DNA, což se projeví poruchou zrání jádra.



Obr. 3: Molekulární struktura kyseliny listové

- *Aplastická anemie*

Aplastická anemie se charakterizuje poruchou krvetvorné činnosti kostní dřeně, při níž přes přítomnost všech látek nezbytných pro krvetvorbu vázne diferenciaci, zrání, dělení nebo vyplavování krevních elementů, buď jen erytrocytů, nebo také leukocytů a destiček (Netoušek 1962). Syndrom aplastické anemie může být vyvolán řadou možných mechanismů. Asi 43-50% aplastických anemií je idiopatických, asi 26% vzniká po chloramfenikolu, další po hepatitidě atd. Tato anemie se vyskytuje v každém věku a poskytuje stejně často muže i ženy.

- *Dysplastické (dyserytropaetické) anemie*

Anemie, které jsou charakterizovány dysplazií (poruchou vyžívání spojenou s morfoloickými abnormalitami v kostní dřeni) v erytropoéze, můžeme dělit na vrozené a získané. Vrozené patří do skupiny tzv. kongenitálních dyserytropaetických anemií, zatímco získané řadíme do skupiny myelodysplastického syndromu (Penka 2009).

### *1.3.3.2 Anemie ze zvýšené ztráty erytrocytů*

#### *Hemolytické anemie*

Je-li zkrácené přežívání erytrocytů příčinou poklesu hodnot hemoglobinu, hovoříme o hemolytické anemii. Je-li ale zkrácené přežívání erytrocytů dostatečně kompenzováno jejich zvýšenou reprodukcí v kostní dřeni a k poklesu hodnot hemoglobinu nedojde, hovoříme o hemolytickém syndromu. Podle příčiny zkráceného přežívání erytrocytů rozlišujeme:

Korpuskulární hemolytické anemie- příčinou zkráceného přežívání je nedostatečně stabilní erytrocyt. Tyto hemolytické anemie jsou, s výjimkou paroxysmální noční hemoglobinurie, vrozené a vesměs familiární. Dělíme je podle převažující příčiny nestability na hemolytické anemie:

- a) Membránové
- b) Enzymopatické
- c) Z nestabilních hemoglobinů
- d) Paroxysmální noční hemoglobinurie

Extrakorpuskulární hemolytické anemie jsou způsobeny hemolýzou jinak normálních erytrocytů v důsledku zevních vlivů (protilátky, neimunitní vlivy). Většinou se jedná o získané hemolytické anemie. Extrakorpuskulární anemie dělíme na:

- a) Imunitní hemolytické anemie způsobené buď autoprotilátkami, nebo aloprotilátkami
- b) Neimunitní hemolytické anemie při mikroangiopatii nebo z infekčních, fyzikálních či chemických příčin (Indrák et al. 2006).

### *1.3.3.3 Akutní posthemoragická anemie*

I když jde o anemii způsobenou nadměrnou ztrátou erytrocytů (a měla by tedy patřit do skupiny anemií ze zvýšené ztráty), je uváděn tento stav samostatně, neboť především v první fázi je problémem více hemodynamickým – oběhovým, než hematologickým. Nemocný je ohrožen prudkým snížením objemu cirkulující krve, hypovolemickým šokem a podle velikosti ztráty i úmrtím. Příčiny akutní ztráty jsou pestré – úrazy, jícnové varixy, rozsáhlé pooperační krvácení a jiné (Penka 2009).

### *1.4 Sideropenická anemie*

Nedostatek železa je jednou z nejčastějších poruch ovlivňující lidstvo, a anemie z nedostatku železa i nadále představuje velký problém pro veřejné zdraví po celém světě. Ta je běžná zejména mezi ženami v reprodukčním věku z důvodu těhotenství a menstruačních ztrát krve (Alleyne et al. 2008). Prevalence anemie z nedostatku železa je 2% u dospělých mužů, 9-12% u nehispanšských bílých žen a téměř 20% černých a mexicko-amerických žen. 9% pacientů starších 65 let s anémií z nedostatku železa měli při hodnocení gastrointestinální rakovinu (Killip et al. 2007). Sideropenická anemie vzniká poruchou bilanční rovnováhy mezi příjmem železa a jeho ztrátami nebo zvýšenou utilizací. Nedostatečný přívod železa může mít nejrůznější příčiny. Nejčastěji bývá důsledkem malabsorpce, průjmů a malnutrice (nadbytek fosfátů a fytátů) nebo vzniká při maldigesci zhoršeným uvolňováním železa z myoglobinu v potravě, např. při atrofické gastritidě nebo po resekcii žaludku. Zvýšené ztráty železa mohou být fyziologické nebo patologické. Pravidelnou fyziologickou ztrátou je menstruace, gravidita, porod a kojení. Patologické ztráty jsou nejčastější trávicím traktem. U žen jsou častou příčinou sideropenie gynekologické krvácení (poly a hypermenorea). Ztráty železa vedoucí k anemii mohou souviset též s opakovanými odběry krve nebo s častým dárcovstvím krve (Klener et al. 1995). Přestože etiologie anemie z nedostatku železa je mnohostranná, obecně výsledky, kdy nároky na železo v těle nejsou splněny, se vstřebává železo bez ohledu na důvod. U dospělých může vyústit sideropenická anemie v širokou škálu nepříznivých výsledků včetně snížení práce nebo zátěžové kapacity, poruchy termoregulace, poruchy imunitního systému, poruchy trávicího traktu a

neurokognitivní poškození. Kromě toho anemie z nedostatku železa současně s chronickým onemocněním ledvin nebo městnavým srdečním selháním může zhoršit výsledek obou podmínek (Clark 2008).

U některých pacientů s výrazným nedostatkem železa lze popřít společné syndromy únavy, slabosti či bušení srdce. Často se vyskytuje podrážděnost a bolesti hlavy. Děti mohou mít špatnou schopnost soustředění, špatnou reakci na smyslové podněty, vývojově retardovaný a behaviorální úspěch a retardovaný vzrůst. Pravděpodobně kvůli nedostatku tkáňového železa může nastat parestézie a pálení jazyka. Pica, touha jíst neobvyklé látky, jako je hlína nebo led, je klasickým projevem (Williams 2006). Sideropenickou anemii diagnostikujeme na základě důkazu celkové sideropenie. Anemie je mikrocytární (MCV pod 80 fl) a hypochromní, přítomná je anizocytóza se zvýšenou distribuční šířkou velikostí erytrocytů. Hladina železa je snižena pod

14  $\mu\text{mol/l}$  u mužů a 11  $\mu\text{mol/l}$  u žen. Při vyšetření resorpční křivky železa můžeme potvrdit zvýšenou resorpci železa, pokud nejde o jeho nedostatečné vstřebávání.

Na odlišení od tzv. anémie chronických chorob, která se totiž projevuje sníženou hladinou sérového železa důsledkem jeho přesunu do zásob, je nutné algoritmus doplnit důkazem zvýšené hladiny sérového transferinu, buď jako hladiny antigenu (norma 2 - 3,5 g/l) nebo jako vazbovou kapacitu železa (norma 45 - 70  $\mu\text{mol/l}$ ). Je vhodné vyšetřit i hladinu sérového feritinu (marker zásoby železa), která se při sideropenii blíží k nulovým hodnotám (< 20 ng/ml u mužů, < 10 ng/ml u žen) (Kubisz et al. 2006).

Nízkou koncentraci železa nacházíme i u chronických zánětlivých a nádorových chorob, ale celková vazebná kapacita transferinu je zde snižena. Mikrocyty a hypochromní erytrocyty jsou charakteristickým nálezem u talasemie minor, kde je však hladina železa normální nebo zvýšená.

## 1.5 Železo a jeho metabolismus

Železo je nezbytné pro život, protože je nepostradatelné pro několik biologických reakcí, jako je transport kyslíku, syntéza DNA a buněčná proliferace. Pokud je ale přítomen v přebytku, je jedovatý, neboť způsobuje poškození buněk prostřednictvím tvorby volných radikálů (Camaschella and Strati 2010). Je součástí nespočetných hemoproteinů a mnoho podstatných nehemových železných bílkovin, které jsou zapojeny do vázání kyslíku a metabolismu a přenosu elektronů. Přesto železo může také být toxické pro buňky, protože katalyzuje produkci kyslíkových radikálů. Jakákoliv nerovnováha v homeostaze železa může vést k vývoji patologických stavů spojených buď nadbytkem železa nebo nedostatkem železa (Horvathova and Ponka and Divoky 2010). Železo je v organismu těsně spjata s metabolismem kyslíku. Chemické vlastnosti železa umožňují transport a účast kyslíku na metabolických procesech. Nejběžnějšími oxidačními stupni železa jsou  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$  (Pecka 2002). Železo je základní kov u saveců a většina železa v těle se používá pro syntézu hemoglobinu (90%). Rovnováha železa je důležitá pro zajištění optimálních systémových dodávek železa za měnících se požadavků na tělo a různou úrovní příjmu živin. Rovnováha těla závisí na regulaci retikuloendoteliárního železa recyklací ze stárnoucích erytrocytů, střevní absorpce železa z potravy a nadměrné ukládání železa v tkáních parenchymu, především hepatocytech (Jacolot et al. 2010). Celkové množství železa v dospělém lidském organismu činí při normální stravě 3 – 5g a vyskytuje se v několika komplexech (Donner 1985). Vedle své nejznámější funkce transportu kyslíku plní železo i řadu dalších vitálních funkcí – je nutné pro syntézu nukleových kyselin (DNA i RNA), syntézu řady proteinů, účastní se řízení buněčné proliferace a diferenciaci a apoptózy, je nutné pro syntézu myelinu a formování dendritů neuronů, což se odráží v ovlivňování pochodů učení a paměti.

Hladina sérového železa jeví cyklické kolísání v průběhu dne (ráno je o 10-30 % vyšší než večer!). Celková plasmatická hotovost Fe je 0,5-0,7 mmol, rychlost přeměny je značná, 60-120 minut. Pro erytropoézu se využije 80-90 % denního obratu Fe

(Masopust 1998). Během těhotenství si bere plod od matky 140 – 160  $\mu\text{mol Fe}$ . Tabulka 1 zobrazuje fyziologická rozmezí u věkových skupin.

Tab. 1: **Fyziologické hodnoty železa**

| Skupina                    | Referenční rozmezí ( $\mu\text{mol/l}$ ) |
|----------------------------|--|
| novorozenci (při narození) | 19,7 – 48,3                              |
| děti                       | 9 – 26,9                                 |
| dospělí: muži              | 10,5 – 28,3                              |
| ženy                       | 6,6 – 25,9                               |

#### *1.5.1 Transferin*

Železo je v krevním proudu vázáno na bílkoviny. Z největší části jde o transportní protein transferin. Molekula transferinu váže dva atomy trojmocného železa  $\text{Fe}^{3+}$ . Denně dochází k obratu asi 25 mg železa v krvi. Za normálních okolností je transferin saturován pouze asi ze třetiny své vazebné kapacity. Při nedostatku železa saturace transferinu klesá, naopak při přetížení organismu železem stoupá. Molekula transferinu, obsahující železo má vysokou afinitu ke specializovaným receptorům, lokalizovaným na buněčných membránách s nejhustší expresí na buňkách hemopoézy (Novotný 2007).

#### *1.5.2 Feritin*

Feritin je reaktant akutní fáze, který je vyšší v průběhu infekčních, zánětlivých, autoimunitních a nádorových onemocnění a hemofagocytujícího syndromu (Álvarez-Coca-González et al. 2010). Feritin, hlavní zásobní protein, je důležitý v homeostáze železa a je zapojen do celé řady fyziologických a patologických procesů. V klinické medicíně je převážně feritin v séru ukazatel celkových zásob železa v organismu.

V případě nedostatku železa a přetížení, má sérový feritin rozhodující roli jak v diagnostice, tak v léčbě (Knovich et al. 2009). Feritin je bílkovina s obsahem 17-23% železa ze své hmotnosti. Díky vysokému obsahu železa je možné jej vidět v elektronovém mikroskopu ve formě krystalků. V nich je bílkovinná část – apoferitin složen ze 24 strukturálně stejných podjednotek, které vytváří dutinku. V ní je uloženo železo ve formě komplexu  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  s fosfátem.

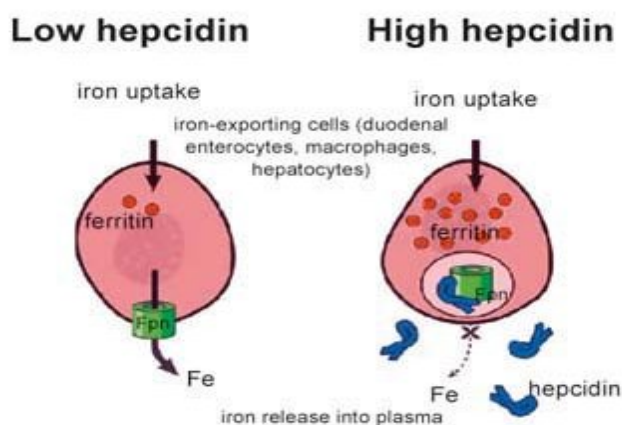
### *1.5.3 Hemosiderin*

Hemosiderin obsahuje 37% železa ze své molekulové hmotnosti, představuje vlastně málo rozpustné agregáty feritinu. Dává pozitivní reakci na barvení pruskou modří (Penka et al. 2001). Hemosiderin, stejně jako feritin, patří k zásobní formě železa.

### *1.5.4 Hepcidin*

Hepcidin, klíčový regulátor metabolismu železa, hraje rozhodující roli v patogenezi anémie chronických onemocnění (Vokurka et al. 2010). Lidský hepcidin, 25-amino peptidová kyselina vyrobená v hepatocytech, může být novým prostředníkem vrozené imunity a dlouho hledaným železo regulačním hormonem. Syntéza hepcidinu je do značné míry stimulována zánětem nebo železem. Důkazy z transgenních myších modelů naznačují, že hepcidin je rozhodující negativní regulátor vstřebávání železa v tenkém střevě, transportuje železo přes placentu a propouští železo z makrofágů (Granz 2003). Hepcidin odkazuje na ferroportin, regulující uvolnění železa do plazmy. Když jsou koncentrace hepcidinu nízké, molekuly ferroportinu jsou vystaveny na plazmatické membráně a uvolňují železo. Když se úroveň hepcidinu zvětší, hepcidin se váže na molekuly ferroportinu vyvoláním jeho internalizace a degradace a postupně snižuje uvolňování železa (Lemos et al. 2010). Tento proces je ukázán na obrázku 4. Syntéza hepcidinu je regulována na úrovni transkripce (ovlivnění promotoru genu pro hepcidin a tedy tvorby mRNA). Jeho sekreci tlumí snížená zásoba železa, anémie a hypoxie, stimuluje ji nadbytek železa a především zánět (prostřednictvím IL-6).

Zvýšená hladina hepcidinu je důležitým faktorem pro vznik anemie chronických chorob (Sedláčková 2009). Nedávné studie obvinily hepcidin z různých poruch železa, jak vedle své hlavní role, tak v systémové regulaci železa. Přebytek hepcidinu hraje klíčovou roli v patologické anémii zánětu, zatímco nedostatek hepcidinu je zodpovědný za většinu případů familiární hemochromatózy a zatížení železo-chudokrevností (Franchini and Montagnana and Lippi 2010).



Obr. 4: **Mechanismus hepcidin-buňka regulace železa**

Zdroj:

[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010442302010000500024&script=sci\\_arttext&tlng=en#fig01](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010442302010000500024&script=sci_arttext&tlng=en#fig01)

Významné pokroky v pochopení metabolismu železa byly provedeny v průběhu posledních deseti let s důrazem na mechanismy, jimiž dysregulace homeostázy železa vede k hematologickým, metabolickým a neurodegenerativním onemocněním. Zejména objev hepcidinu a jeho základní úlohy, jako regulační peptidový hormon metabolismu železa, navrhly organizace komplexní sítě proteinů, které regulují metabolismus železa v těle. Údržba homeostázy železa je důsledkem úzké spolupráce mezi vstřebáváním železa z potravy do enterocytů a recyklace železa makrofágy po degradaci stárnoucích erytrocytů. Tudíž každá odchylka těchto procesů vede k širokému spektru nemocí, v rozmezí od anémie z nedostatku železa k přetížení organismu železem (Beaumont and Delaby 2009).



## **2. Cíl práce a hypotézy**

### **2.1 Cíl práce**

Cílem práce je stanovení výsledků léčby krevního obrazu a vstřebávání železa u pacientů se sideropenickou anemií.

### **2.2 Hypotézy**

Hypotéza 1: Efekt perorální léčby je závislý na vstřebávání.

Hypotéza 2: Efekt léčby je závislý na dávce.

### **3. Materiál a metody**

Tato kapitola bude zaměřena na materiál, který se do laboratoře hematologie přijímá a na metody kterými se vzorek dále zpracovává. Tuto činnost jsem vykonávala na OKH Nemocnice České Budějovice a.s.

#### ***3.1 Materiál***

Vzorky od pacientů, které jsou přijímány na vyšetření do laboratoře, musí být čitelně označeny rodným číslem, jménem a k tomu nejlépe i pojišťovnou. Ke vzorečku musí být také přiložena žádanka k vyšetření, která obsahuje jméno a příjmení odebraného pacienta, rodné číslo, kód diagnózy a číslo pojišťovny. Dále se na žádance zaškrťává vyšetření. Každému vyšetření odpovídá různá zkumavka s různými srážlivými či nesrážlivými činidly. Vzorky pro vyšetření krevního obrazu se odebírají do zkumavky s fialovým uzávěrem, které obsahují antikoagulační přídatek K<sub>3</sub>EDTA. Pro vyšetření hladiny železa se používá zkumavka pro běžné biochemické vyšetření s červeným uzávěrem, která je bez přítomnosti protisrážlivého činidla. Železo vyšetřujeme ze séra.

#### ***3.2 Metody***

##### *3.2.1 Stanovení krevního obrazu*

Krevní obraz patří mezi základní vyšetření a využívá se k diagnostice a ke sledování léčby různých nemocí. Pod pojmem „krevní obraz“ se většinou rozumí stanovení počtu krevních buněk a jejich parametrů (Pecka et al. 2010). Parametry krevního obrazu se v současnosti provádějí automaticky hematologickými analyzátory – krvinkovými počítači. Poskytují 8 až 32 parametrů krevního obrazu, včetně diferenciálního rozpočtu leukocytů, histogramů erytrocytů, leukocytů a trombocytů. Uvádějí i komentáře k výsledkům vyšetření. Výhodou krvinkových analyzátorů je vedle rychlosti (100 a více krevních obrazů za hodinu), přesnosti a správnosti (vnitřní kontrola kvality laboratoře – každý den, externí kontrola – dvakrát do roka), je i minimální množství vyšetřované krvi (30 až 210 µl). Krvinkové

analyzátoři poskytují diferenciální rozpočty leukocytů a to: tři parametrové (lymfocyty, granulocyty, mix – ostatní) nebo pěti parametrové (lymfocyty, monocyty, neutrofilny, eozinofily, bazofily) (Kubisz et al. 2006). Referenční hodnoty krevního obrazu jsou uvedené v tabulce 2. Abychom mohli vyšetřit krevní obraz, musíme krev, ať už žilní, kapilární nebo arteriální, odebrat do zkumavky s K<sub>3</sub>EDTA. Krev se musí řádně promíchat s činidlem, aby došlo k vzájemnému vyrovnání koncentračních gradientů vně a uvnitř krvinky. Z tohoto důvodu není možné vzorek ihned po odběru vyšetřit.

**Tab. 2: Referenční hodnoty osmi parametrového krevního obrazu**

| <b>Jednotlivé složky KO</b>           | <b>Rozmezí</b>                    |
|---------------------------------------|-----------------------------------|
| erytrocyty (RBC)                      | muži: $4,3 - 5,7 \cdot 10^{12}/l$ |
|                                       | ženy: $3,8 - 4,9 \cdot 10^{12}/l$ |
| leukocyty (WBC)                       | $3,9 - 9,4 \cdot 10^9/l$          |
| trombocyty (Plt)                      | muži: $130 - 380 \cdot 10^9/l$    |
|                                       | ženy: $137 - 413 \cdot 10^9/l$    |
| hematokrit (Htc)                      | muži: 0,40 – 0,50                 |
|                                       | ženy: 0,35 – 0,47                 |
| střední objem erytrocytů (MCV)        | 82 – 98 fl                        |
| hemoglobin (Hb)                       | muži: 135 – 175 g/l               |
|                                       | ženy: 120 – 160 g/l               |
| střední množství Hb erytrocytu (MCH)  | 28 – 34 pg                        |
| střední koncentrace Hb v erytrocytech | 0,32 – 0,36                       |

### *3.2.1.1 Stanovení krevního obrazu hematologickými analyzátory*

Jak už bylo uvedeno, většina laboratoří vlastní automatický analyzátor. V posledním desetiletí zaznamenaly analyzátory, ať už hematologické, biochemické či jiné, výrazný rozvoj v užitých technologiích. Analyzátory nám poskytují informace o počtu, velikosti, tvaru a složení buněk. Princip stanovení počítání hematologického analyzátoru spočívá v tom, že se krev nebo jiný cytologický materiál ředí v určitém poměru ředicím roztokem, který buď po určitou dobu zachovává fyziologické vlastnosti krvinky, případně zvýrazní počítanou krevní buňku. Současně dochází k zakulacení buňky a vyhlazení jejích tvarových změn při zachování jejího objemu (izovolumetrické sférování). Ostatní elementy se buď rozruší, nebo jsou úpravou software eliminovány (Cornbleet 1983).

### *3.2.1.2 Mikroskopické stanovení krevního obrazu*

Dalším možným stanovením krevního obrazu je mikroskopické stanovení. Tyto metody se dnes už využívají v praxi velmi málo. Princip stanovení: Krev nebo jiný cytologický materiál se ředí v určitém poměru ředicím, barvicím či fixačním roztokem, který zvýrazní počítanou krevní buňku a ostatní elementy se potlačí nebo rozruší. Stanoví se počet krevních buněk v malém objemu naředěného média a přepočte se na počet v 1 litru krve. K mikroskopickému stanovení počtu krevních buněk se používá různých typů mikroskopů. Zvětšení se upravuje individuálně podle velikosti hodnocené buňky a typu počítací komůrky (Pecka et al. 2010). Nejčastěji používaná komůrka v hematologii byla Bürkerova komůrka. Podle toho jaké buňky počítáme, můžeme použít i jiné komůrky např. Fuschsova-Rosenthalova, Neubauerova nebo komůrku Nageotte uzpůsobenou pro nízký počet buněk.

### *3.2.1.3 Zhotovení a obarvení krevního nátěru*

Hematologický analyzátor nám poví, jaké množství buněk se v dané krvi objevuje, ale už nám nezobrazí, jaký mají krvinky tvar. K tomuto účelu se zhotovuje a barví krevní nátěr. Ke zhotovení nátěru potřebujeme kapku krve, odmaštěné podložní sklíčko a druhé sklíčko, kterým kapku rozetřeme jedním tahem po celé délce sklíčka až

do ztracena. Nátěr by měl být rovnoměrný, stejnorodý a přiměřeně tenký. Po rozetření necháme sklíčko uschnout a poté ho obarvíme standardním barvením pro krevní nátěry tzv. panoptickým barvením dle Pappenheima. Pozorujeme pod mikroskopem s imerzí.

Na oddělení Klinické hematologie (OKH) Nemocnice České Budějovice a.s. se ke stanovení krevních elementů využívá analyzátoru společnosti Beckman Coulter – Counter LH 755.

### *3.2.2 Stanovení železa*

Při stanovení železa je nutné dbát na to, abychom předešli vzniku hemolýzy (rozpad červených krvinek) a tím znehodnotily výsledek stanovení. Železo patří mezi stopové prvky a při jejich stanovení je důležitá preanalytická příprava vzorku. Při odběru krve i prvotního zpracování je důležité zabránit jakékoli kontaminaci. Používané chemikálie i laboratorní pomůcky musí být co nejčistší. Železo stanovujeme spektrofotometricky. Spektrofotometrické metody patří v soudobé chemické analýze mezi nejrozšířenější metody, což je dáno jejich specifitami, citlivostí a zejména experimentální a časovou nenáročností. Velká část praktických aplikací těchto metod spadá do oblasti stanovení anorganických látek, zejména kovů. To je dáno tím, že v těchto případech je k dispozici dostatečný výběr činidel, poskytujících se stanovovanou látkou barevný produkt s vysokou hodnotou absorpčního koeficientu, nutnou pro citlivé stanovení příslušného analytu. Ionty Fe reagují s mnoha anorganickými i organickými látkami za vzniku intenzivně zbarvených sloučenin, úspěšně použitelných ve spektrofotometrii ke stanovení jejich koncentrace (www.fch.upol.cz 2006). Možný způsob stanovení koncentrace železa je pomocí sekvenční injekční analýzy. Metoda je založená na silných, modrobarevných komplexech utvořených mezi železem (III) a tironem. Absorbance komplexů se měří spektrofotometricky při 635 nm (Kass and Ivaska 2002).

Hladinu železa stanovuje laboratoř klinické chemie Nemocnice České Budějovice a.s. na analyzátoru Advia.

### 3.2.3 Stanovení resorpční křivky

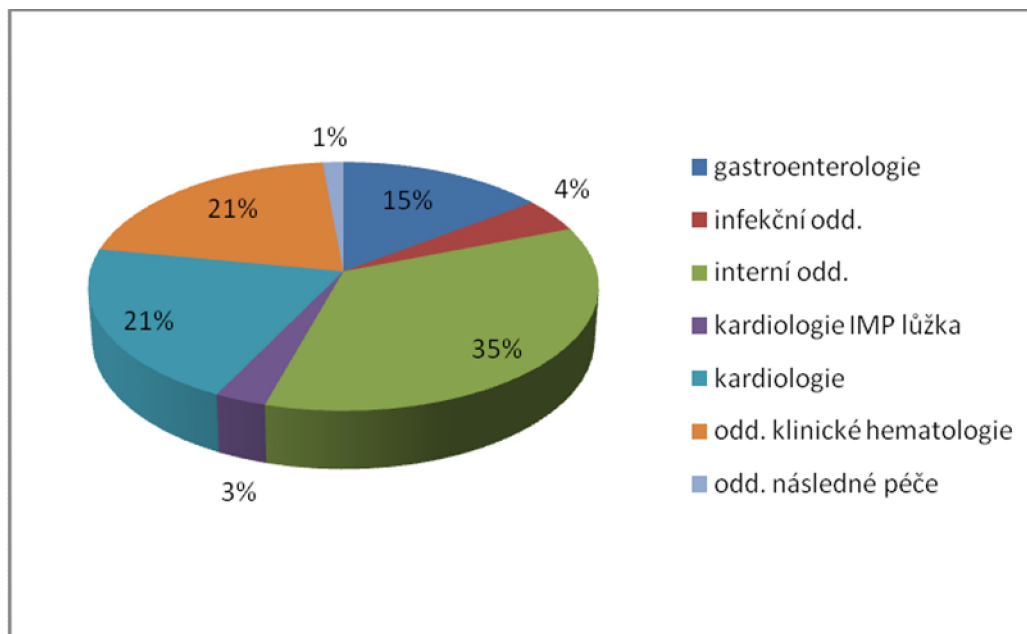
Stanovení resorpční křivky železa informuje o schopnosti resorbovat železo a současně informuje o kvalitě střevní stěny. Test provádíme až po předchozím vyšetření hladiny železa, transferinu a feritinu. Kontraindikován je při přetížení organismu železem nebo při nízké hladině vazebné bílkoviny pro toxicitu volného železa. Hlavním místem pro vstřebání železa je duodenum, pouze malá část železa je vstřebána v distálních částech tenkého střeva. Vstřebávání železa je řízeno jeho obsahem v organismu; při nedostatku železa v organismu je jeho resorpce zvýšena. Zdravý člověk bez nedostatku železa vstřebá jen 7 – 10 %, u nemocného se sideropenií bez anémie se vstřebá 15 – 17 %, pokud je přítomna sideropenická anémie, může se resorpce zvýšit až na 25 %. Ke zvýšenému vstřebávání železa dochází také u zvýšení erytropoézy, intenzita erytropoézy může převýšit účinek zásob železa na jeho resorpci (např. větší krvácení, hemolýza); snížená erytropoéza neovlivní resorpci železa. Ráno se provede odběr srážlivé žilní krve na stanovení sérové hladiny železa. ([www.fnplzen.cz](http://www.fnplzen.cz) 2005) Poté se podá 30 ml Aktiferrinu ve formě kapek (toto množství odpovídá 200 mg  $\text{Fe}^{2+}$ ). Další odběr na stanovení hladiny železa provedeme za hodinu a za dvě hodiny. Hodnotíme změnu hladiny sérového železa po podání Aktiferrinu.

### 3.2.4 Statistické vyhodnocení

Naměřené výsledky jsme zařadili do tabulky a pak následně rozdělili do dalších tabulek podle věku, pohlaví, vstřebávání a podle dávkování.

## 4. Výsledky

V Nemocnici České Budějovice a.s. bylo uděláno celkem 68 resorpčních křivek. Pacienti byli z různých oddělení (Obr. 1).



Obr. 1: Zastoupení jednotlivých oddělení nemocnice, kde byla křivka stanovena

Abychom mohli křivky určitým způsobem vyhodnotit, musíme si stanovit skupiny podle schopnosti vstřebávání železa. Toto rozdělení ukazuje tabulka 3.

Tab. 3: Rozdělení skupin podle hodnoty vstřebávání

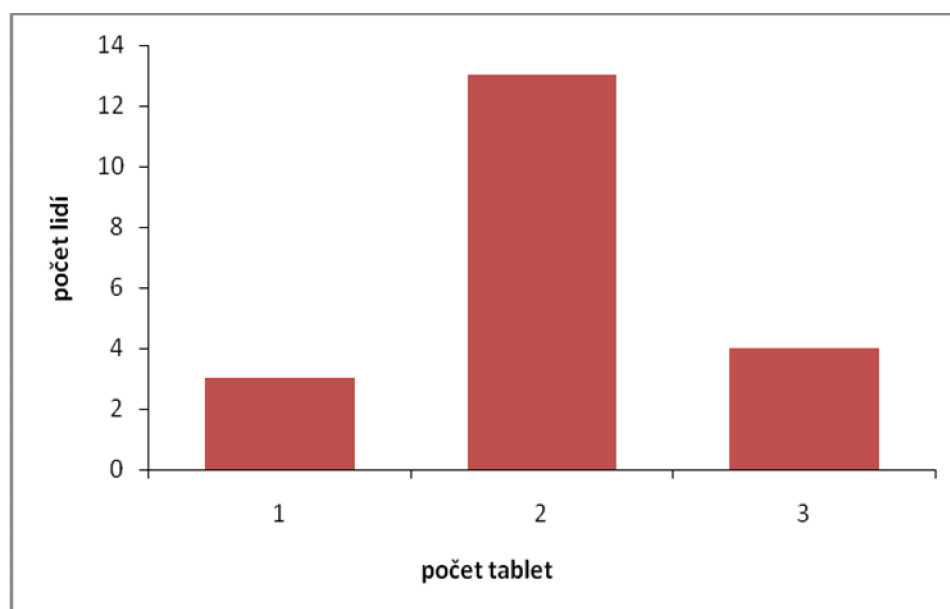
| Skupina               | Hodnoty ( $\mu\text{mol/l}$ ) |
|-----------------------|-------------------------------|
| Vstřebává velmi dobře | > 40                          |
| Vstřebává             | 20 - 40                       |
| Nevstřebává           | < 20                          |

Z celkového počtu pacientů bylo 41 žen a 27 mužů. Každý pacient vstřebával železo jinak. Tabulka 4 ukazuje rozdělení vstřebávání železa podle pohlaví. Tabulka ukazuje, že lépe vstřebávaly ženy než muži.

Tab. 4: Vstřebávání dle pohlaví

| Skupina               | Ženy | %    | Muži | %    |
|-----------------------|------|------|------|------|
| Vstřebává velmi dobře | 27   | 65,8 | 13   | 48,1 |
| Vstřebává             | 8    | 19,5 | 6    | 22,2 |
| Nevstřebává           | 6    | 14,6 | 8    | 29,6 |

Z celkového počtu pacientů bylo dvacet léčeno železem. U těchto pacientů máme další data, jako je počet tablet, které brali (Obr. 2). Z uvedeného grafu vyplývá, že dávkování v podobě dvou tablet bralo nejvíce lidí.



Obr. 2: Průměrné dávkování tablet



K dalším výpočtům bylo zapotřebí stanovit tzv. unifikovanou hodnotu. Unifikovaná hodnota je přepočet vzestupu hemoglobinu na efekt jedné tablety denně za třicet dní. U většiny pacientů máme dvě kontroly, proto jsme počítaly dvě hodnoty – Unifikovaná hodnota 1 a Unifikovaná hodnota 2. Z těchto dvou unifikovaných hodnot jsem provedla aritmetický průměr, který jsem uvedla do tabulky 5.

Tabulka 5 znázorňuje efekt léčby železem dle věku pacientů. Nejlépe reagovali na léčbu nejstarší lidé.

Tab. 5: **Rozdělení podle roku narození**

| <b>Rok narození</b> | <b>Průměrná unifikovaná hodnota</b> |
|---------------------|-------------------------------------|
| 1930 - 1939         | 2,16                                |
| 1940 - 1949         | -0,4                                |
| 1950 - 1959         | -1,68                               |
| 1960 - 1969         | 0,56                                |
| 1970 - 1979         | 1,1                                 |
| 1980 - 1989         | 0,47                                |

Jak bylo dříve zmíněno, na oddělení Klinické hematologie nemocnice České Budějovice a.s. se resorpční křivka stanovuje tak, že se nejprve odebere krev a změří se hladina železa v séru. Poté se podá velké množství železa a změří se hladina po hodině a poté po dvou hodinách od podání kapek železa. Získané hodnoty by se od sebe neměly příliš lišit. Toto tvrzení dokazuje tabulka 6, kde unifikovaná hodnota po jedné a druhé hodině se liší o jednotky setin. Každá laboratoř má stanovení různé. Některé laboratoře měří pouze první hodinu. V praxi se většinou počítá s vyšší hodnotou.

Tab. 6: **Průměrná unifikovaná hodnota po podání železa**

| <b>Doba od podání železa (hod)</b> | <b>Průměrná unifikovaná hodnota</b> |
|------------------------------------|-------------------------------------|
| 1.                                 | 0.679                               |
| 2.                                 | 0.693                               |

V následujících tabulkách (Tab. 7, 8) a obrázku 3 jsou rozdělené unifikované hodnoty podle vstřebávání, podle počtu podaných tablet a podle pohlaví. Tyto tabulky ukazují primární cíl práce a to, zda se efekt perorální léčby určitým způsobem liší dle vstřebávání železa. Tento cíl byl potvrzen. Jak lze vidět z tabulky 7, nejvyšší unifikované hodnoty má skupina „Vstřebává velmi dobře“. Pacienti, kteří nevstřebávají železo, mají hodnoty kolem nuly anebo záporné hodnoty.

Tab. 7: **Rozdělení unifikovaných hodnot podle úrovně vstřebávání**

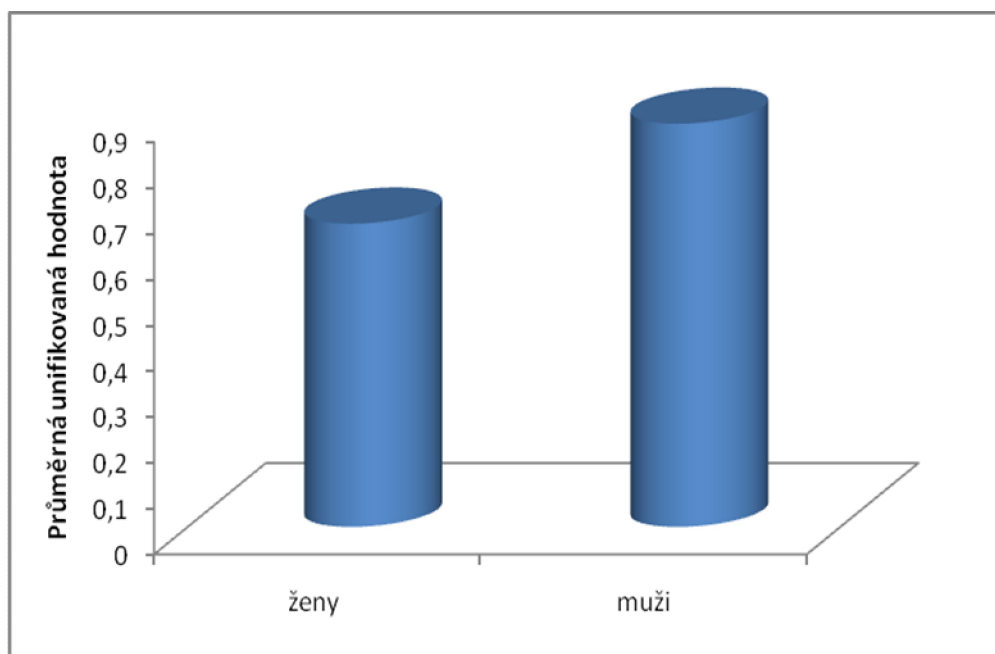
| <b>Doba od podání železa (hod)</b> | <b>Vstřebává velmi dobře</b> | <b>Vstřebává</b> | <b>Nevstřebává</b> |
|------------------------------------|------------------------------|------------------|--------------------|
| 1.                                 | 0,498                        | 1,088            | -0,4               |
| 2.                                 | 2,088                        | -1,05            | 0,27               |

Tabulka 8 ukazuje rozdělení unifikovaných hodnot podle dávky podaných tablet. Nejlepších unifikovaných hodnot dosahovali pacienti, kteří brali dvě tablety, což je doporučené dávkování. U lidí, kteří brali tři tablety lze spekulovat, že dávkování nedodržovali. Ale z naměřených dat vyplývá, že dávkování v podobě tří tablet nepřináší žádný přídatný efekt.

Tab. 8: Rozdělení unifikovaných hodnot podle dávky tablet

| Dávka | Unifikovaná hodnota 1 | Unifikovaná hodnota 2 |
|-------|-----------------------|-----------------------|
| 1     | 1,44                  | -4,2                  |
| 2     | 0,72                  | 1,96                  |
| 3     | -0,19                 | 0,21                  |

Obrázek 3 ukazuje efekt léčby u mužů a žen. Z grafu lze vyčíst, že jednoznačně lépe reagovali na efekt léčby muži než ženy. Toto může být způsobeno různými příčinami anemie, které jsou u mužů a žen rozdílné.



Obr. 3: Efekt léčby u mužů a žen

## 5. Diskuze

Cílem této práce bylo zkoumání vstřebávání železa u pacientů se sideropenickou anemií a jeho vliv na efekt léčby. V Nemocnici České Budějovice a.s. byla v letech 2009-2010 udělána resorpční křivka a vyšetřen krevní obraz 68 pacientům. Sledovali jsme vliv resorpční křivky na efekt perorální léčby železem a zjištěné hodnoty byly porovnány s údaji v literatuře.

U pacientů, kteří nevstřebávali železo, perorální léčba nefungovala vůbec anebo špatně, což odpovídá údajům v literatuře (Donner 1985). Obecně platí, že resorpce železa vzrůstá při deficitu (Irontherapy.org 2005). V našem souboru toto neodpovídalo pravdě, což je však způsobeno tím, že resorpční křivka je vyšetřována zpravidla u nedostatečného efektu perorální léčby železem. Jeden pacient, který měl při vyšetření vysokou hodnotu železa, skutečně nevstřebával vůbec.

Vstřebávání železa ovlivňuje spoustu mechanismů. Vstřebávání anorganického železa inhibují fyláty a fosfáty v zelenině a obilninách, vaječný žloutek, čaj, pankreatické sekrety, alkálie, některé infekce. Z léků snižuje resorpci železa magnesium, které je obsaženo v řadě antacid a tetracyklinu. Pro předpoklad, že stupeň vstřebaného železa je závislý na množství železa přítomného v organismu, svědčí skutečnost, že se u sideropenické anemie vstřebává asi 25 % léčebně podaného železa, zatímco u prelatentní a latentní sideropenie se vstřebává jen 17 % a u zdravých jedinců jen 7 %. Podporujícími činiteli pro větší vstřebávání je nedostatek železa v organismu, anorexie, těhotenství, zvýšená erythropoéza pro krvácení, hemolýza, pobyt ve vyšších polohách a nedostatek vitamínu C, vitamínu B<sub>6</sub> (Donner 1985). Data, jako je potrava či léky, které stanovovali pacienti užívali během léčby, nemáme. Nemůžeme je proto porovnat s literaturou.

Dále jsem se v práci zabývala dávkováním tablet. Množství resorbovaného železa klesá s rostoucí dávkou. Z tohoto důvodu se doporučuje, aby se většině lidí předepisoval denní doplněk železa rovnoměrně ve dvou nebo třech rozložených dávkách. Pro dospělé, kromě těhotných žen, CDC (Centers for Disease Control)

doporučuje použít 50 mg až 60 mg perorálního elementárního železa (přibližné množství elementárního železa v jedné tabletě je 300 mg síranu železnatého) dvakrát denně po dobu tří měsíců jako terapeutickou dávku sideropenické anemie. Elementární železo je množství železa v doplňku, který je v dispozici pro absorpci. Nicméně lékaři musí zhodnotit každou osobu individuálně a předepsat dávky podle individuálních potřeb (Office of dietary supplements 2007). Nám vyšla optimální dávka podaného železa ve dvou tabletách po 300 mg síranu železnatého. Další zvyšování dávky nemělo výraznější efekt, což se shoduje s literaturou.

Dalším vlivem, který jsme zkoumali, byl vliv věku na resorpci železa a efekt léčby železem. Dostupná literatura žádné významné rozdíly dle věkových skupin neuvádí. V našem souboru byly sice mezi jednotlivými věkovými skupinami značné rozdíly, nebyl však patrný jasný trend dle věku. Rozdíly byly způsobeny pravděpodobně velikostí zkoumaného souboru, tzn. šlo o chybu malých čísel.

Literatura neuvádí rozdíly ve vstřebávání dle pohlaví. Naše zjištěné poznatky však byly odlišné. Ve sledovaném souboru byly značné rozdíly mezi pohlavími v efektu perorální léčby. Ženy, které byly vyšetřeny, vstřebávaly lépe než muži. Naopak efekt léčby byl výrazně lepší u mužů než u žen. Tyto rozdíly jsou pravděpodobně dány rozdílnými příčinami sideropenické anemie, které se značně liší dle pohlaví (Irontherapy.org 2005).

Neúspěch léčby železem může být podmíněn několika příčinami. Především proto, že nejde o pouhou anemii z nedostatku železa, ale o anemii chronických chorob, tzn. že naše diagnosa byla nesprávná. Jindy je neúspěch zaviněn tím, že nemocný neužívá lék tak, jak byl předepsán, zejména tehdy, jestliže vyvolává gastrointestinální potíže. Dále může být neúspěch podmíněn stávajícím, zejména chronickým krvácením z gastrointestinálního ústrojí nebo dělohy. Méně častou příčinou neúspěchu je současná chronická infekce, onemocnění jater, malignita, urémie. Vzácně se nezlepší stav proto, že jde o poruchu vstřebávání železa při gastrektomii a gastroenteroanastomóze, u sprue, steatorhoi (Donner 1985). V našem souboru byl podíl nemocných s poruchou

vstřebávání relativně vysoký, což je však dáno tím, že toto vyšetření je prováděno zejména u osob s podezřením na tuto poruchu.

## 6. Závěr

Cílem této práce bylo sledování výsledku léčby sideropenické anemie v závislosti na vstřebávání železa. Praktickou část jsem vykonávala na oddělení Klinické hematologie nemocnice České Budějovice a.s. Hypotézy byly určeny dvě. První hypotéza byla, že efekt perorální léčby je závislý na vstřebávání. S porovnáním dostupné literatury a našimi výsledky práce můžeme říci, že tato hypotéza byla potvrzena. Druhá hypotéza předpokládala, že efekt léčby je závislý na dávce. Tato hypotéza byla potvrzena jen částečně. Dvě tablety denně dávaly lepší léčebné výsledky než jedna, další zvyšování dávky však již efekt nemělo. Důvodem mohla být řada faktorů např. horší vstřebávání vyšších dávek, chyba malých čísel, vyšší dávkování hlavně u problematických pacientů.

## 7. Seznam použitých zdrojů

ALLEYNE, M., HORNE, M. K., MILLER, J. L. Individualized treatment for iron deficiency anemia in adults. *American Journal of Medicine*, 2008, vol. 121, no. 11, p. 943-948.

ÁLVAREZ-COCA-GONZÁLES, J. et al. The hereditary hyperferritinemia-cataract syndrome: a family study. *European Journal of Pediatrics*, 2010, vol. 169, no. 12, p. 1553-1555.

BEAUMONT, C., DELABY, C. Recycling iron in normal and pathological states. *Seminars in hematology*, 2009, vol. 46, no. 4, p. 328-338.

CAMASCHELLA, C., STRATI, P. Recent advances in iron metabolism and related disorders. *Internal and Emergency Medicine*, 2010, vol. 5, no. 5, p. 393-400.

CLARK, S.F. Iron deficiency anemia. *Nutrition in clinical practice*, 2008, vol. 23, no. 2, p. 128-141.

CORNBLEET J. Spurious results from automated hematology cell counters. *Lab Med*, 1983, vol. 14, p. 509-514

DONNER, L. *Klinická hematologie*. 1. vydání. Praha 1 : Avicenum, 1985. 448 s.

DYLEVSKÝ, I. *Somatologie*. 2. vydání. Olomouc: Epava, 2000. 480 s.

FRANCHINI, M., MONTAGNANA, M., LIPPI, G. Hepcidin and iron metabolism: from laboratory to clinical implications. *Clinica chimica acta*, 2010, vol. 411, no. 21-22, p. 1565-1569.

FRIEDMANN, Bedřich . *Hematologie v praxi*. 1. vydání. Praha : Galén, 1994. 368 s.



GRANZ, T. Hcpidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood*, 2003, vol. 102, no. 3, p. 783-788.

HORVATHOVA, M., PONKA, P., DIVOKY, V. Molecular basis of hereditary iron homeostasis defects. *Hematology*, 2010, vol. 15, no. 2, p. 96-111.

HRUBIŠKO, M. et al. *Hematológia a transfuziológia : Učebnica pre SZŠ*. 1. vydání. Martin : Osveta, 1981. 493 s.

[Http://fch.upol.cz/](http://fch.upol.cz/) [online]. 27.12.2006 [cit. 2010-12-30]. Spektrofotometrické stanovení celkového Fe a jeho oxidačních forem . Dostupné z WWW: <<http://fch.upol.cz/skripta/zfcm/fero/fero.pdf>>.

INDRÁK, Karel, et al. *Hematologie*. 1. vydání. Praha : Triton, 2006. 278 s.

*Irontherapy.org* [online]. 2005 [cit. 2011-04-27]. Iron metabolism. Dostupné z WWW: <[http://www.irontherapy.org/a.php3?d=iron-metabolism--56&a=ITO-Textbook-Chapter-1:-Iron-Metabolism--4233#\\_Toc104027271](http://www.irontherapy.org/a.php3?d=iron-metabolism--56&a=ITO-Textbook-Chapter-1:-Iron-Metabolism--4233#_Toc104027271)>.

JACOLOT, S. et al. Iron metabolism in macrophages from HFE hemochromatosis patients. *Molecular Genetics and Metabolism*, 2010, vol. 101, no. 2-3, p. 258-267.

KASS, M., IVASKA, A. Spectrophotometric determination of iron (III) and total iron by sequential injection analysis technique. *Talanta*, 2002, vol. 58, no. 6, p. 1131-1137.

KILLIP , S., BENNETT, J. M., CHAMBERS , M. D. Iron deficiency anemia. *American Family Physician*, 2007, vol. 75, no. 5, p. 671-678.

KLENER, P. et al. *Vnitřní lékařství Díl II*. 1. vydání. Praha: UNITISK, 1995. 149 s.

KNOVICH, M. A. et al. Ferritin for the Clinician. *Blood Reviews*, 2009, vol. 23, no. 3, p. 95–104.

KUBISZ, P. et al. *Hematológia a transfuziológia : Učebnica*. 1. vydání. Bratislava : Grada Slovakia, 2006. 323 s.

LEMOS, A. D. et al. Hcpidin as a biochemical parameter for the assessment of iron deficiency anemia. *Revista da Associacao Medica Brasileira*, 2010, vol. 56, no. 5, p. 596-599.

MASOPUST, Jaroslav. *Klinická biochemie : Požadování a hodnocení biochemických vyšetření. I. část*. 1. vydání . Praha: Karolinum, 1998. 429 s.

MOUREK, J. *Fyziologie : Učebnice pro studenty zdravotnických oborů*. 1. vydání. Praha : Grada Publishing a.s., 2005. 204 s.

NETOUŠEK, Miloš. *Klinická hematologie*. 1. vydání. Praha : Státní zdravotnické nakladatelství, 1962. 928 s.

NOVOTNÝ, J. Sideropenická anémie. *Medicína pro praxi*, 2007, vol. 10, no. 4, p. 390-394.

*Office of dietary supplements : National institutes of health* [online]. 2007 [cit. 2011-04-27]. Dietary Supplement Fact Sheet: Iron. Dostupné z WWW: <<http://ods.od.nih.gov/factsheets/iron/>>.

PECKA M. et al. *Praktická hematologie : Laboratorní metody*. 1. vydání. Český Těšín: Infiniti ART, 2010. 343 s.

PECKA, M. *Laboratorní hematologie v přehledu : Buňka a krvetvorba*. 1. vydání. Český Těšín : Finidr, 2002. 160 s.

PECKA, M. *Laboratorní hematologie v přehledu : Fyzilogie a patofyziologie krevní buňky*. 1. vydání. Český Těšín: Finidr, 2006. 304 s.

PECKA, Miroslav. *Laboratorní hematologie v přehledu : Ultrastruktura, funkce, fyziologie a patofyziologie krevních buněk*. 2002. Hradec Králové : [s.n.], 2002. 253 s.

PENKA, M. et al. *Hematologie 1 : Neonkologická hematologie*. 1. vydání. Praha : Grada, 2001. 201 s.

PENKA, Miroslav, et al. *Neonkologická hematologie : 2., doplněné a zcela přepracované vydání*. 2. vydání. Praha : Grada Publishing, a.s., 2009. 240 s.

SEDLÁČKOVÁ, T., RACEK, J. Metabolismus železa a jeho regulace. *Klin. Biochem. Metab.*, 2009, vol. 17, no. 38, p. 17-23.

TROJAN, S. et al. *Lékařská fyziologie*. 4. vydání. Praha 7 : Grada Publishing a.s., 2003. 772 s.

VOKURKA, M. et al. Hepcidin expression in adipose tissue increases during cardiac surgery. *Physiological Research*, 2010, vol. 59, no. 3, p. 393-400.

WILLIAMS, W. J. et al. *Williams Hematology : Companion Handbook*. 5th edition. New York : McGraw-Hill, 1996. 452 s.

*Www.fnplzen.cz* [online]. 1.2.2005 [cit. 2010-12-30]. Funkční a zátěžové testy.

Dostupné z WWW:

<<http://www.fnplzen.cz/kliniky/ukbh/zdroj/metody/funkcni.html#resorpcni>>.

## **8. Klíčová slova**

Anemie

Erytrocyty

Sideropenická anemie

Stanovení resorpční křivky

Železo