



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 mikrocytární anémie

Vypracoval: Eliška Remtová  
Vedoucí práce: MUDr. Ivan Vonke MBA

České Budějovice 2016

## **Abstrakt**

Tématem mé bakalářské práce je anémie se zaměřením na mikrocytární anémie. V úvodu popisuji pouze obecná fakta týkající se tohoto onemocnění, dále se zabývám pouze anémií mikrocytární. V samostatné teoretické části popisuji jednotlivé druhy. Sideropenická anémie neboli anémie z nedostatku železa je vůbec nejčastějším typem. Celosvětově se vyskytuje až u 1/3 obyvatelstva v rozvojových i rozvinutých zemích. Dále popisuji druhou nejčastější anémii chronických chorob a na závěr vzácnější talasemii. V praktické části se věnuji analýze získaných dat. Nejprve jsem hodnotila výsledky krevních obrazů u pacientů, kteří byli vyšetřeni během jednoho měsíce na oddělení Klinické hematologie Nemocnice České Budějovice a.s. Vyhodnocení vzorků se provádí na automatizovaném hematologickém analyzátoru Unicel DxH 800 Beckman Coulter. Z celkového počtu 7664 vyšetřených jsem zjišťovala frekvenci anemických a následně mikrocytárně anemických pacientů. U 28% ze všech pacientů byla potvrzena mikrocytární anémie. Dále jsem se zaměřila na hodnocení parametrů železa, transferinu a feritinu, které se stanovují na analyzátoru Advia. Potřebná data jsem získala na oddělení Klinické chemie. Nejdůležitější bylo zjistit, kolik z mikrocytárních pacientů bylo vyšetřeno na deficit železa. Výsledná hodnota činila pouze 18% takto vyšetřených pacientů. Následně jsem vyhledala, kolik z tohoto počtu, bylo dovyšetřeno na transferin a feritin. U mnoha pacientů tyto hodnoty zcela chyběly, tak nebylo možné určit přesný počet. Z těchto všech zjištěných parametrů jsem mohla na konci vyhodnotit, kteří pacienti trpěli jakou anémií. Nejvíce se vyskytovala anémie chronických chorob a byla zjištěna u 24 pacientů. Sideropenickou anémií trpělo pouze 11 vyšetřovaných.

### **Klíčová slova**

Mikrocytární anémie; Sideropenická anémie; Anémie chronických chorob; železo; transferin; feritin

## **Abstract**

The theme of my bachelor thesis is focused on the anemia, especially microcytic anemia. The introduction describes only the general facts about this disease and further focuses only on the microcytic anemia. Every single type is described in the separate theoretical part. Iron deficiency anemia or anemia caused by the lack of iron is the most common type at all. It occurs in up to one third of the population in developing and also developed countries all over the world. I describe the second most common chronic disease anemia as well and then rarer thalassemia at the end of this paper. The practical part is devoted to analyze all of the collected data. At first the results of blood counts of the patients, who were examined by the Department of Clinical Hematology at the Ceske Budejovice Inc. hospital, are evaluated. The evaluation is performed on an automated hematology analyzer Unicel DxH 800 Beckman Coulter. I had examined the frequency of an anemic and subsequently microcytic patients from a total of 7,664 tested patients. The resulting number with this anemia was 28%. I had also focused on the evaluation of iron, transferrin and ferritin parameters which are determined on the analyzer ADVIA. I gained the necessary data at the Department of Clinical Chemistry of Ceske Budejovice Inc. hospital. The most important goal was to determine how many of microcytic patients were tested for iron deficiency. The resulting number was only 18% examined patients in this way. Then I had looked up how many of these patients were subsequently examined to transferrin and ferritin. There were many patients who were completely missing the results of these tests, so it was not possible to determine the exact number. Based on all these detected parameters I could evaluate the patients, who suffered the anemia and which type they suffered. The anemia of chronic disease was the most often type and it was found in 24 patients. The iron deficiency anemia suffered only 11 of the examined patients.

### **Key words**

Microcytic anemia; Iron deficiency anemia; Anemia of chronic disease; Iron, Transferrin; Ferritin

## **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

.....

Eliška Remtová

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala MUDr. Ivanu Vonkemu za cenné rady, pomoc a trpělivost při zpracování této bakalářské práce. Zároveň bych chtěla poděkovat celému oddělení Klinické hematologie Nemocnice České Budějovice a.s. za jejich spolupráci.

## Obsah

Úvod.....	9
1 Anémie.....	10
1.1 Definice .....	10
1.2 Dělení anémií .....	11
1.2.1 Morfologické dělení .....	11
1.2.2 Etionatogenetická klasifikace.....	12
2 Sideropenická anémie .....	13
2.1 Definice .....	13
2.2 Epidemiologie .....	13
2.3 Klinické příznaky.....	14
2.4 Železo a výskyt železa v organismu.....	14
2.4.1 Příjem železa potravou.....	15
2.5 Metabolismus železa.....	15
2.5.1 Regulace metabolismu železa.....	15
2.5.2 Resorpce železa .....	16
2.5.3 Transport železa v plazmě .....	17
2.5.4 Zásoby železa .....	18
2.5.5 Hepcidin .....	18
2.6 Etiologie a patogeneze .....	19
2.7 Diagnostika .....	19
2.8 Diferenciální diagnóza.....	21
3 Anémie chronických chorob .....	22
3.1 Definice .....	22
3.2 Etiopatogeneze .....	22
3.3 Diagnostika .....	23
3.4 Diferenciální diagnóza.....	24
4 Talasemie .....	25
4.1 Definice .....	25
4.2 Epidemiologie .....	25
4.3 Etiopatogeneze .....	25
5 $\beta$ - talasemie.....	26

5.1	<i>Talasemie minor</i> .....	26
5.1.1	<i>Diagnostika</i> .....	26
5.2	<i>Talasemie major</i> .....	27
5.2.1	<i>Diagnostika</i> .....	27
6	$\alpha$ - talasemie.....	28
6.1	<i>Alfa-thalassemia minor</i> .....	28
6.1.1	<i>Diagnostika</i> .....	28
6.2	<i>Choroba hemoglobinu H</i> .....	28
6.2.1	<i>Diagnostika</i> .....	29
6.3	<i>Choroba hemoglobinu Barts</i> .....	29
7	Cíle a hypotézy.....	30
7.1	<i>Cíl práce</i> .....	30
7.2	<i>Hypotézy</i> .....	30
8	Metodika.....	31
8.1	<i>Charakteristika dat</i> .....	31
8.2	<i>Přijem materiálu</i> .....	31
8.3	<i>Metody</i> .....	32
8.3.1	<i>Krevní obraz</i> .....	32
8.3.2	<i>Stanovení krevního obrazu hematologickým analyzátozem</i> .....	33
8.3.3	<i>Mikroskopické stanovení krevního obrazu</i> .....	34
8.3.4	<i>Zhotovení krevního nátěru a barvení</i> .....	34
8.3.5	<i>Stanovení železa</i> .....	35
8.3.6	<i>Stanovení transferinu</i> .....	35
8.3.7	<i>Stanovení feritinu</i> .....	35
9	Výsledky.....	36
10	Diskuze.....	49
11	Závěr.....	51
12	Seznam použitých zdrojů.....	52

## Seznam použitých zkratk

ACD	anémie chronických chorob, (Anaemia of chronic disease)
CBC	kompletní krevní obraz, (Complete blood count)
Dcytb	duodenální cytochrom, (Duodenal cytochrome B)
DMT1	přenašeč železa přes apikální membránu, (Divalent metal transporter 1)
Hb	hemoglobin
HCT	hematokrit, (Hematocrit)
IDA	anémie z nedostatku železa, (Iron deficiency anemia)
IREs	regulační gen, (Iron responsive elements)
IRPs	regulační protein železa, (Iron regulation proteins)
K <sub>3</sub> EDTA	sodná sůl kyseliny ethyléndiamintetraoctové
MCV	střední objem erytrocytu, (Mean corpuscular volume)
MCH	střední množství hemoglobinu v jednom erytrocytu, (Mean corpuscular hemoglobin)
MCHC	střední koncentrace hemoglobinu v jednom erytrocytu, (Mean corpuscular hemoglobin concentration)
MPV	střední objem trombocytu, (Mean platelet volume)
PDW	distribuční šíře trombocytu, (Platelet distribution width)
PLT	počet trombocytů, (Platelet count)
RBC	erytrocyty, (Red blood cell)
RDW	distribuční šíře erytrocytů, (Red cell distribution width)
RI	retikulární index, (Reticulocyte index)
TfR	transferinový receptor, (Receptors for transferrin)
Vk-Fe	vazebná kapacita pro železo
WBC	leukocyty, (White blood cells)



## Úvod

Anémie neboli chudokrevnost patří mezi nejčastější chorobné stavy. Jedná se o celosvětový problém, podle dostupných informací postihuje až 30% veškeré populace. Anémie se rozdělují podle MCV, jedná se o hodnotu středního objemu erytrocytu. V této bakalářské práci se zabývám formou anémií se sníženou hladinou MCV, jedná se o anémie mikrocytární . Nejčastější příčinou vzniku mikrocytárních anémií je nedostatek železa. V této bakalářské práci se zabývám výskytem těchto forem anémií v souboru pacientů z Nemocnice České Budějovice a.s. Sledovala jsem, v jakém poměru se tyto formy vyskytují u jednotlivých pohlaví.

# 1 Anémie

## 1.1 Definice

Anémie označovaná také jako chudokrevnost je chorobný stav, při kterém dochází ke snížení hladiny hemoglobinu pod fyziologickou mez. Příčinou anémie nemusí být jen porucha krvetvorby/krvinek, ale často se jedná o různé chorobné stavy, proto je přesnější ji definovat jako anemický syndrom. Je třeba zdůraznit, že právě anémie patří mezi nejčastější chorobné stavy. Podle Světové zdravotnické organizace chudokrevnost postihuje až jednu třetinu lidstva (Penka et al., 2001). Anémie není diagnózou, jedná se o příznak onemocnění, které je nutné odhalit a následně léčit (Buliková, 2011).

Nejdůležitějším parametrem, pro zjištění zda se jedná o anémii, je snížení hladiny hemoglobinu v krvi. Pokles Hb je provázen poruchou okysličování. Jinak řečeno anémie je stav, který vede ke snížení vazebné schopnosti krve pro kyslík a k porušení tkáňového dýchání. (Pecka 2006). Za anémii lze považovat stav, kdy hodnoty hemoglobinu v krvi klesnou pod 135 g/l u mužů a pod 120 g/l u žen (Kozák et al., 2001). Dále anémie hodnotíme podle poklesu krevního obrazu na lehké (100-135 g Hb/l), středně těžké (70- 100 g Hb/l), těžké (< 70 g Hb/l). *Anemie se vyvine, pokud erytropoéza nestačí krýt požadavky na tvorbu nových červených krvinek* (Pecka, 2006, s. 168).

Špatné prokrvení tkáně a jejich nedostatečné okysličování je jedním z hlavních klinických příznaků souvisejících s anémií. Intenzita těchto příznaků souvisí především s rychlostí vzniku anémie. V organismu existují tzv. kompenzační mechanismy, které napomáhají adaptaci organismu, ale jen v případě pokud se anémie vyvíjí pomalu. Lepší využívání kyslíku, redistribuce krve, zvýšení erytropoézy to jsou mechanismy, kterými se zajišťuje kompenzace (Pecka, 2006). Klinické příznaky bývají často nevýrazné, především u pomalu se vyvíjejících anémií, kdy jsou objeveny až u výrazného poklesu hemoglobinu. Nejčastějšími příznaky jsou unavenost, slabost, dušnost, závratě, bledost sliznic či kůže, otoky (Penka et al., 2001).

## 1.2 Dělení anémií

### 1.2.1 Morfologické dělení

Historicky první rozdělení anemických syndromů na mikrocytární, normocytární a makrocytární bylo v roce 1934. Od té doby se stalo toto dělení velmi užívaným. V dnešní době využíváme hematologických analyzátorů. Tyto přístroje jsou schopny měřit jednotlivé parametry krevních elementů pro stanovení diferenciální diagnózy. Měří nejen počet erytrocytů, hladinu hemoglobinu, ale i další důležité parametry jako střední objem erytrocytu (MCV), střední obsah hemoglobinu v erytrocytu (MCH), střední koncentraci hemoglobinu v erytrocytu (MCHC), distribuční šíři erytrocytů (RDW) (tab. 1).

Pomocí těchto nálezů můžeme anémie rozdělit podle MCV na normocytové, mikrocytové, makrocytové. Podle hodnoty MCH normochromní a hypochromní dále podle RDW na anémie s anizocytózou a s homogenní populací a jako poslední hodnota RI (retikulární index) se zachovanou normální produkcí kostní dřeně a se sníženou produkcí kostní dřeně (Pecka, 2006; Penka et al., 2001).

Tab.1: Hodnoty červeného krevního obrazu

Veličina	Muži	Ženy
Hemoglobin (Hb)	135-175 g/l	120-160 g/l
Hematokrit (HCT)	40-50%	35-47%
Erytrocyty (RBC)	$4,3-5,7 \times 10^{12}/l$	$3,9-5,3 \times 10^{12}/l$
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	
Retikulocyty	0,3-1,5%	

Zdroj : (Vydra, 2015)

### ***1.2.2 Etionatogenetická klasifikace***

Jedná se o dělení podle příčiny a vzniku.

- **Anemie z poruchy tvorby erytrocytů (z nedostatečné erythropoézy)**

Řadíme sem anémie z nedostatečné proliferace a diferenciací kmenové buňky. Tento typ je charakterizován sníženou erythropoézou a jedná se buď o čistou erytroidní nebo dyserythropoetickou anémii. Druhou velkou skupinou je z poruchy tvorby hemoglobinu, která se dále dělí z poruchy syntézy hemu. Řadíme sem především sideropenickou anémii, anémii chronických chorob a sideroblastickou. Další dělení je z hlediska poruchy syntézy globinu, kde se nachází vzácná talasemie. Touto druhou skupinou se budu podrobněji zabývat v mé bakalářské práci. Třetí skupinou jsou z poruchy syntézy DNA, neboli z deficitu vitamínu B12 a kyseliny listové (Pecka, 2006).

- **Anémie z akutní a chronické ztráty krve (posthemoragické)**

Příčinou akutní anémie, jsou ztráty krve po traumatu nebo poškození důležitých orgánů v důsledku vážných onemocnění. Chronické ztráty jsou nejčastější příčinou vzniku anémie (Pecka, 2006).

- **Anémie ze zvýšené destrukce erytrocytů (hemolytické stavy a choroby)**

O hemolytické anémii mluvíme, když je zkrácené přežívání erytrocytů. Rozlišujeme dvě základní skupiny hemolytické stavy nebo hemolytické anémie, které dále dělíme na korpuskulární a extrakorpuskulární (Pecka, 2006).

## 2 Sideropenická anémie

### 2.1 Definice

*O anémii z nedostatku železa je již zmínka v egyptském Papyrus Ebers. Jde o léčebnou příručku z roku 1550 před Kristem (Chrobák, 2003; Pecka, 2006, s. 174). Tato anémie vzniká narušením rovnováhy mezi příjmem železa a jeho ztrátami (Pecka, 2006). Nedostatek železa, tzv. sideropenie je v podstatě patologický stav, kdy je vyčerpáno veškeré železo (i zásobní) z organismu a dochází k nedostatečné tvorbě hemoglobinu (Pecka, 2006). Konečným stádiem sideropenie je vznik anémie z nedostatku železa, tzv. sideropenické anémie. Onemocnění se vyznačuje tím, že v zárodečných buňkách erytroidní linie dochází k poruše syntézy hemoglobinu. Dále dojde ke snížení sycení červených krvinek a k poklesu jejich středního objemu, tento stav pokračuje až k rozvoji mikrocytární anémie (Kozák et al., 2001). Nedostatek železa způsobí narušení mnoha meatabolických a enzymových reakcí, které jsou nezbytné pro správné fungování organismu (Kozák et al., 2001).*

Rozeznáváme tři stádia vývoje sideropenické anémie. Prvním stádiem je prelatentní deficit Fe při něm dochází ke snižování zásob Fe ve formě feritinu a homosiderinu. Dalším stádiem je latentní deficit Fe v této části jsou zásoby téměř vyčerpány a dochází ke snížení plazmatického železa, které je nezbytné pro erytropoézu. Posledním stádiem je anémie, ve které chybí veškeré zásoby Fe a hladina hemoglobinu je snížena (Pecka, 2006).

### 2.2 Epidemiologie

*Sideropenická anémie patří mezi nejčastější onemocnění postihující rozvinuté i rozvojové země. Anémie z nedostatku železa i nadále představuje celosvětový problém (Alleyne, 2008). Výskyt sideropenie u mužů činí 4-5% a u žen 14-20%. Nedostatečné zásoby Fe se vyskytují především u menstrujících žen 30%, těhotných žen až 60% u dětí a adolescentů mezi 25-30% (Novotný, 2007; Penka et al., 2001).*

### 2.3 *Klinické příznaky*

V první fázi se jedná především o nespecifické příznaky únava, malátnost, závratě, bolest hlavy. U malého procenta pacientů se může objevit nepatrně zvětšená slezina. Dále se objevují kožní změny bledost kůže a sliznice, lomivost nehtů. Následují specifické příznaky jako postižení růstu u dětí a plodů, poruchy imunity, snížená svalová výkonnost, ztráta pozornosti a mnoho dalšího (Penka et al., 2001; Vydra 2015)

### 2.4 *Železo a výskyt železa v organismu*

Železo je stopový prvek, který se vyskytuje ve všech živých organizmech. Nejdůležitější funkcí hemoglobinu je přenos kyslíku z plic do tkání, transport  $O_2$  do svalů a krevního řečiště. Je součástí mnoha pro organismu důležitých reakcí. Účastní se syntézy nukleových kyselin, proteinů a řídí buněčnou proliferaci a diferenciaci (Novotný, 2007). Železnatý iont řadíme mezi přechodné kovy, a proto se může účastnit tzv. Fentonovy reakce. Ve formě  $Fe^{2+}$  iniciuje tvorbu peroxidu vodíku a během této reakce se vytváří pro organismus toxický hydroxylový radikál. Organismus se snaží reakci zabránit oxidací  $Fe^{2+}$  na  $Fe^{3+}$  ceruloplasminem nebo likvidací peroxidu vodíku pomocí katalázy (Sedláčková et al., 2009).

Železo v organismu můžeme rozdělit do dvou skupin. Funkční železo, které je vázáno na porfyrinový kruh a řadíme sem hemoglobin, myoglobin, katalázy, cytochromy. Zásobní a transportní železo vázány přímo na bílkovinu a řadíme sem transferin, feritin a homosiderin (Penka et al., 2001). Největší množství železa je vázáno na hemoglobin 60-70%, 20-30% je navázáno na feritin (zásobní bílkovinu), menší část zhruba 10% je součástí myoglobinu, cytochromů a jiných enzymů. Méně než 1% je obsaženo v periferní krvi vazbou na transferin (Novotný, 2007). V organismu dospělého člověka se Fe vyskytuje v množství 3,5-5 g. U žen jsou především zásoby nižší než u mužů (ženy 0,5 g, muži 1,0 g). Železo je vždy vázáno na bílkovinu (Penka et al., 2001). Plazmatické železo se vyskytuje v malém množství a je transportováno do kostní dřeně, kde je důležité pro syntézu hemoglobinu (tab. 2), (Wilhelm, 2007).

Tab. 2: Hladiny plazmatického železa

Skupina	Referenční rozmezí
Děti	9–26,9 $\mu\text{mol/l}$
Žena	6,6–25,9 $\mu\text{mol/l}$
Muž	10,5–28,3 $\mu\text{mol/l}$

Zdroj : (Wilhelm, 2007).

#### **2.4.1 Příjem železa potravou**

Hlavním zdrojem železa v potravě jsou živočišné bílkoviny (Novotný, 2007). Množství Fe v organismu závisí na jeho biologické dostupnosti, průměrná denní strava obsahuje 10-15 mg železa a z tohoto množství vstřebáváme zhruba 10% (Penka et al., 2001; Žourek et al., 2007). Železo se v organismu vyskytuje ve dvou formách. Hemové je obsaženo v hemoglobinu, myoglobinu a lépe se vstřebává. Nehemové, obsaženo především v rostlinné stravě se vyskytuje v trojmocné formě a jeho vstřebávání je ovlivněno řadou faktorů (Novotný, 2007).

### **2.5 Metabolismus železa**

#### **2.5.1 Regulace metabolismu železa**

Správné fungování imunitního systému, buněčná exprese a proliferace, buněčné dýchání, přenos kyslíku všechny tyto pro organismus důležité reakce zajišťuje železo. Jeho metabolismus je regulován, aby se nevyskytoval v dvoumocné formě a bylo ho dostatek pro hemopoezu. Hlavní regulace metabolismu železa probíhá na buněčné úrovni za pomoci IRPs a IREs (Sedláčková et al., 2009). IRPs neboli regulační proteiny železa se vyskytují v buněčné cytoplazmě a vážou se na IREs v případě, že je v organismu nedostatek železa (Šimek, 2005). Do dnešní doby byly identifikovány 2 typy

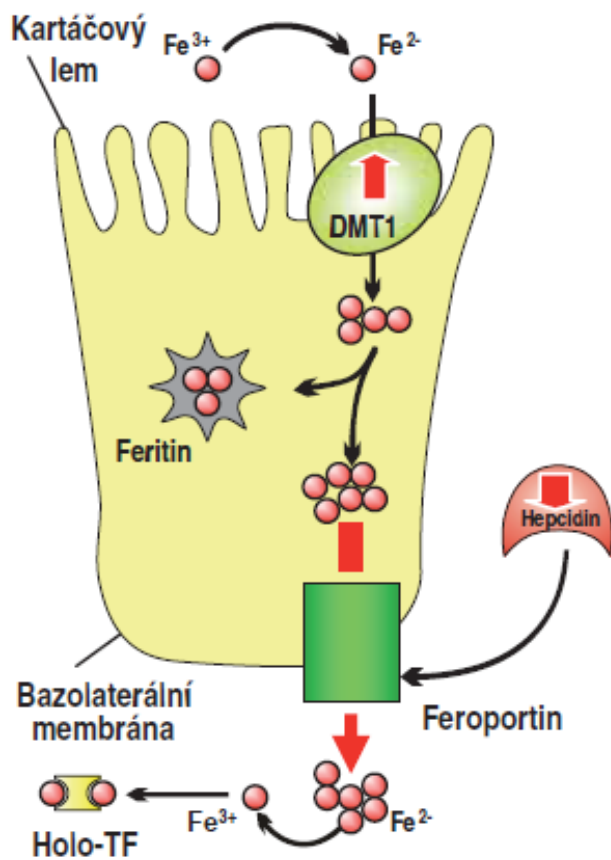
IRP1 a IRP2 (Sedláčková et al., 2009). Častěji nacházíme IRP1, který se vyskytuje v játrech ledvinách, nervovém systému a IRP2 zastoupen především v B-lymfocytech. Refulační geny (IREs) jsou vlásenkovité struktury nacházející se na obou koncích mRNA (Sedláčková et al., 2009). Po navázání IRPs společně ovlivňují stabilitu mRNA a syntézu feritinu, TfR. Další regulace probíhá na systémové úrovni za pomoci nově objeveného peptidu hepcidinu, (o něm se budu zmiňovat v samostatné kapitole) (Sedláčková et al. 2009).

### **2.5.2 Resorpce železa**

Hladina železa v organismu je řízena pomocí resorpce. Železo se vstřebává v iontové formě nebo jako součástí hemu především v duodenu. V distální části tenkého střeva se vstřebává velmi malé množství. V duodenu se vyskytují specializované enterocyty, které se podílejí na resorpci železa přes apikální membránu (Šimek, 2005). Nehemové železo ( $\text{Fe}^{3+}$ ) musí být nejprve redukováno na  $\text{Fe}^{2+}$  duodenálním cytochromem b (Dctb) za účasti redukčních činidel nebo některých aminokyselin (Sedláčková, 2009). Poté je za pomoci DMT1, který se nachází na kartáčovém lemu přeneseno do enterocytu (Šimek, 2005).

Hemová forma se vstřebává odlišným způsobem. Do enterocytu je hem vstřebán pomocí transportéru HCP a dojde k jeho rozložení hemoxygenázou (Sedláčková, 2009). Železo může být v enterocytu uchováno ve formě feritinu, nebo uvolněno do krevního oběhu přes bazolaterální membránu exportérem ferroportinem. Po průchodu je ihned oxidováno z  $\text{Fe}^{2+}$  na  $\text{Fe}^{3+}$  pomocí hephaestinu. Posledním fází je navázání na transportní bílkovinu transferin (obr. 1); (Pospíšilová, 2007).





Obr. 1: Transport železa v enterocyty u IDA

Zdroj: (Pospíšilová, 2007)

### 2.5.3 Transport železa v plazmě

Transport zajišťuje bílkovina transferin. Jedná se o glykoprotein, který je tvořen v játrech. Množství nacházející se u dospělého člověka je zhruba 2,5-3,0 g/l (Penka et al., 2001). Transferin na sebe váže dvě molekuly trojmocného železa (Vydra, 2015), ale může dojít k navázání i jiných kovů ( $Cr^{3+}$ ,  $Zn^{2+}$ ) a to na specifické membránové receptory (Ledvina et al., 2006). Každý den dochází v krvi k obratu 25 mg železa. Molekula transferinu je saturována z 1/3 své vazebné kapacity a zbytek tvoří volný transferin, který je připraven navázat další železo v případě potřeby organismu.

Saturace transferinu klesá, když organismus trpí nedostatkem Fe a v případě přetížení stoupá. Transferin, který obsahuje železo má vysokou afinitu k transferinovým receptorům (TfR) (Novotný, 2007; Penka et al., 2001). Vyskytují se dva druhy TfR2 na hepatocytech a známější TfR1 zajišťuje rovnováhu železa tím, že přenáší přes buněčnou membránu transferin s navázanými molekulami  $Fe^{3+}$ . Při navázání na enterocyt monitoruje množství Fe v organismu a zajišťuje sorpci z potravy (Šimek, 2005).

#### **2.5.4 Zásoby železa**

Feritin je hlavní zásobní jednotku železa. Normální hladina je 30–350  $\mu\text{g/l}$  u mužů a 30–150  $\mu\text{g/l}$  u žen. U zdravého člověka je hladina sérového feritinu přímo úměrná zásobám Fe v organismu (Pecka, 2006). Feritin obsahuje 2000–2500 atomů železa, díky kterému je možné jej vidět pod elektronovým mikroskopem. Krystaly jsou tvořeny z bílkovinné části, která je složena z 24 podjednotek. Tyto podjednotky vytváří prostor, ve kterém je uloženo železo (Penka et al., 2001). Do dnešní doby jsou známy podjednotky H, bohatý výskyt v srdeční tkáni a L se nacházející se v játrech (Sedláčková et al., 2009). V plazmě se vyskytuje jen v nízkých hodnotách (Penka et al., 2001).

#### **2.5.5 Hepcidin**

*Je peptid, který byl objeven v roce 2000 z lidské moči, má charakter hormonu a je syntetizován v játrech* (Sedláčková et al., 2009, s. 22) Je klíčovým regulátorem metabolismu železa (Weinstein et al., 2002). Jedná se o malý peptid tvořený z 25 amino kyselin propojených čtyřmi disulfidickými můstky (Ganz, 2007). Inhibuje resorbci železa do duodena, čímž zabráňuje nadbytku železa v organismu (Vokurka et al., 2010). Hepcidin se váže na ferroportin a reguluje uvolňování železa do plazmy (Lemos et al., 2010) Při navázání tedy dojde k zanoření ferroportinu do buňky a k jeho následné degradaci. Tímto mechanismem se sníží export železa z buňky. Jsou-li zásoby železa normální

nebo vysoké, dojde ke zvýšené produkci hepcidinu, ten zablokuje ferroportin a zabrání vstřebání železa do organismu. Je-li naopak v organismu málo železa, dojde k potlačení hepcidinu a ferroportin se znovu objeví na bazolaterální membráně enterocytu. Následně může být železo transportováno do plazmy, kde se naváže na transferin. Tímto mechanismem je regulováno množství železa v organismu (Sedláčková et al., 2009).

## **2.6 Etiologie a patogeneze**

Sideropenická anémie vzniká poruchou rovnováhy mezi příjmem železa a jeho ztrátami (Klener et al., 1995). Za normálních okolností se z organismu ztrácí malé množství železa. Příkladem je odlupování epitelíí močového traktu, kdy se ztrácí v průměru 1,0-1,3 mg denně, takže příjem a ztráty jsou celkem vyrovnané. Ženy navíc ztrácejí 0,9-1,7 mg železa během menstruačního krvácení (celkem tedy 2-3 mg denně). Hladina železa je tedy vyrovnána u mužů, nikoliv u žen (Kozák et al., 2001; Penka et al., 2001).

Může nastat deficit železa způsobený kombinací více faktorů. Zvýšená spotřeba v období růstu a těhotenství. Dalším faktorem jsou nadměrné ztráty krve, které přesahují 6 ml denně. Jedná se o krvácení z gastrointestinálního traktu, gynekologické a urologické nádory, dárcovství krve. Posledním faktorem je snížený příjem železa v potravě především v rozvojových zemích a u vegetariánů (Vydra, 2015).

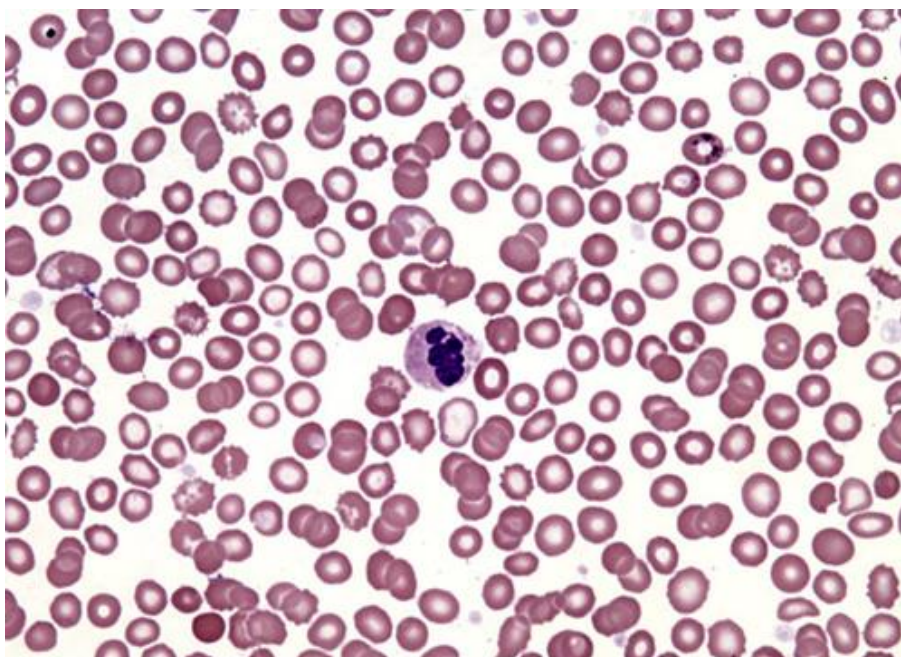
## **2.7 Diagnostika**

V první fázi se v krevním obraze objevuje nejprve anisocytóza (nestejná velikost erytrocytu) s rozšířeným RDW(> 15,2) a jen mírná chudokrevnost, která je ještě normocytární. Později při poklesu hemoglobinu vzniká výrazná mikrocytóza s hypochromázií (MCV < 80 fl a MCH < 27pg). V nátěrech periferní krve nacházíme

anulocytózu (prstenčité erythrocyty) s poikilocytózou (tvarové změny) dále hypochromní mikrocyty (obr. 2); (Indrák, 2014; Penka et al., 2001). Počet retikulocytů bývá normální nebo snížen. V některých případech můžeme prokázat mírnou trombocytopenii i leukopenii s normálním diferenciálním rozpočtem (Indrák, 2014).

Pro sideropenickou anémii svědčí snížená hodnota sérového železa ( $< 10 \mu\text{mol/l}$ ), spolu se zvýšenou celkovou vazebnou kapacitou pro železo (Vk-Fe) (Penka et al., 2001). Tuto anémii nám také potvrdí vzestup transportní bílkoviny transferinu ( $> 3,6 \text{ g/l}$ ), procento saturace transferinu železem klesá ( $< 15\%$ ) (Indrák, 2014). Jedním z nejdůležitějších testů je stanovení hladiny feritinu. Pokud, hladina klesne pod  $20 \mu\text{g/l}$  svědčí pro deficit železa, často je tato hladina snížena pod  $10 \mu\text{g/l}$  (Pecka, 2006). Dalším laboratorním nálezem mapující metabolismus železa je zvýšená hladina protoporfyrinu v erythrocytech a naopak snížená hladina feritinu v erythrocytech (Penka et al., 2001). V případě snížení feritinu můžeme k diagnostice využít stanovení koncentrace solubilních TfR (sTfR) v séru, při sideropenii je tato hladina zvýšena. U většiny případů se doporučuje stanovit tzv. feritinový index, kdy se koncentrace TfR dělí logaritmem koncentrace feritinu, jelikož samotné zvýšení hladiny sTfR není specifické pro sideropenii (Novotný, 2005).

V normoblastech můžeme pozorovat plazmojadernou asynchronii (Penka, 2001). Vyšetření kostní dřeně není pro stanovení diagnózy nezbytná. Pokud se provede, může sideropenii potvrdit nálezem mikroerytroblastů s cárovitou plazmou. Dále se provádí Perslovo barvení na železo, kdy je snížené množství sideroblastů ( $< 20\%$ ) a úplné chybění siderofágů (obsahujících v cytoplazme Fe) v kostní dřeni (Indrák, 2014). Při tomto barvení na železo chybí v makrofázích zásobní Fe (Penka, 2001). V některých případech rozvinuté sideropenické anémie můžeme pozorovat v normoblastech plazmojadernou asynchronii se zpožděním zrání cytoplazmy (Pecka, 2006).



Obr. 2: Anémie z nedostatku železa

Zdroj : (Penka et al., 2001)

## **2.8 Diferenciální diagnóza**

V diferenciální diagnostice je především nutno přesně stanovit, že se jedná o anémii z nedostatku železa a vyloučit ostatní mikrocytární anémie (Penka et al., 2001). Nejčastěji v úvahu přichází anémie chronických chorob. Tato anémie má stejnou nízkou hladinu sérového železa jako sideropenie (Indrák, 2014). Však ACD vykazuje nižší vazebnou kapacitu pro železo a hladina feritinu je naopak vyšší (Vydra, 2015). Současně je velmi důležité zjistit příčinu nedostatku Fe v organismu (Penka et al., 2001).

## 3 Anémie chronických chorob

### 3.1 Definice

Anémie vznikající při chronických zánětech, chronických infekcích, nádorech a systémových onemocnění (Indrák, 2014). Lze ji také definovat jako hypoproliferativní druh anémie způsobenou zvýšenou tvorbou cytokinů (Raida, 2005), při zánětlivém nebo nádorovém onemocnění (Pecka, 2006).

Jedná se o druhou nejčastěji se vyskytující anémii hned po deficitu železa (Vydra, 2015). Výskyt této anémie při chronickém onemocnění se odhaduje na 25-30/ 100 000 obyvatel za rok (Indrák, 2014). Anémie chronických chorob vzniká často jako důsledek chronické infekce tuberkulózy, HIV infekce, osteomyelitidy, bakteriální endokarditidy. Provázejí hlavně revmatoidní/autoimunitní onemocnění jako lupus erythematosus, SLE, revmatoidní artritidy, vaskulitidy. Může se rozvinout při maligním onemocnění (Navrátil et al., 2003).

U pacientů se většinou kombinují příznaky anemického syndromu a příznaky vyplývající ze základního onemocnění (únava, slabost, noční pocení, ztráta apetitu atd.), které mohou anemické symptomy z části maskovat (Indrák, 2014; (Pospíšilová, 2007). Samotná anémie je bez klinických nálezů (Penka et al., 2001). Tento druh anémie se rozvíjí pomalu (nejméně po 1-2 měsících choroby) (Indrák, 2014).

### 3.2 Etiopatogeneze

Společným činitelem u anémie chronických chorob je aktivace imunitního systému (Indrák, 2014). Při jejím vzniku jak už bylo řečeno má nevýznamnější roli aktivace imunokompetentních buněk, monocyto-makrofágového systému a sekrece cytokinů produkovaných při zánětu (TNF $\alpha$ , IL-6, IL-1, IL-4, IL-10, IFN- $\gamma$ ) (Pospíšilová, 2007). V souvislosti s působením cytokinů se uplatňují 4 základní mechanismy, které se podílejí na rozvoji ACD. Především jde o **poruchu metabolismu železa**, kdy dochází k akumulaci Fe v buňkách monocyto-makrofágového systému a tím se snižuje množství

Fe potřebné pro erytropoézu. S touto poruchou souvisí i snížení hladiny Fe v séru a snížené vstřebávání železa z duodena. **Zkrácení přežívání erytrocytů** vlivem působení kyslíkových radikálů, cytokinů. Za další **zpomalení erythropoezy** v důsledku snížení proliferace erytroidních prekurzorů v kostní dřeni. Posledním mechanismem je **snížená tvorba erythropoetinu** (Indrák, 2014; Pecka, 2006; Pospíšilová, 2007). Zánět vyvolá zvýšenou tvorbu cytokinů a ty vedou ke změně funkce mnoha proteinů. Následkem toho dojde k abnormální distribuci Fe v jednotlivých buňkách a tkáních.

V posledních letech bylo objeveno mnoho nových proteinů, které jsou důležité v metabolismu železa. Objasněním jejich funkcí vedlo k pochopení ACD. **Ferroportin** je protein při jeho blokaci se zastaví transport železa z enterocyty a makrofágů do krevního řečiště. Poté dochází k jeho hromadění ve formě intracelulárního feritinu v obou buňkách. **Hepcidin patří mezi reaktanty akutního zánětu** (Pospíšilová 2007, s. 278). U velkého množství případů anémie lze detekovat zvýšenou expresi genu pro hepcidin (Novotný, 2005). Při zánětu je hladina hepcidinu zvýšena až 100x, zvýšení této hladiny je indukováno interleukinem-6. Dojde k navázání hepcidinu a ten způsobí degradaci funkce ferroportinu na bazolaterální membráně buňky. Transport železa z buněk je omezen a enterocyt (makrofág) se plní tímto železem, které se váže na feritin. Tento popsany systém sníží hladinu plazmatického železa v krvi i jeho dodávku do kostní dřeni. Následně se vyvíjí anémie (Pospíšilová, 2007).

### 3.3 Diagnostika

V první fázi se jedná o anémii normocytární a normochromní (MCV 85-98 fl a MCH 28-32 pg), při delším trvání a snížené nabídce Fe pro erytropoézu dochází k rozvoji makrocytózy a hypochromie (Indrák, 2014). Na rozdíl od sideropenie není přítomna anizocytóza a mikrocytóza jen u malého počtu případů (Penka et al., 2001). Hladina hemoglobinu neklesá většinou pod 90 g/l (Pecka, 2006). RDW (< 15,2) poukazuje na homogenní populaci erytrocytů. Při ACD je snížena hladina Fe v séru a současně je snížena vazebná kapacita pro železo (Penka et al., 2001). Anémii nám potvrdí snížená hladina transferinu oproti tomu saturace transferinu je normální.

Hladina feritinu, která odráží zásoby Fe v buňkách je normální či zvýšená a solubilní transferinové receptory jsou také v normě (Indrák, 2014; Penka, 2001). V mnoha případech je dobré stanovit feritinový index. Jde o významný ukazatel stupně deficitu železa v organismu (Pospíšilová, 2007). Počet retikulocytů je snížen (Vydra, 2015).

V kostní dřeni se mohou objevit normoblasty s plazmojadernou asynchronií (Penka, 2001). Důležitým laboratorním stanovením je barvení na železo, při kterém nacházíme zvýšený počet siderofágů a snížený počet sideroblastů (na 5-20%), siderocytů v kostní dřeni (Indrák, 2014). U ACD je zvýšené zásobí železo v makrofázích (Vydra, 2015).

### **3.4 Diferenciální diagnóza**

V diferenciální diagnostice je nutno zajistit, aby nedošlo k záměně ACD se sideropenickou anémií (Vydra, 2015). V obou případech je snížená hladina sérového železa, ale u ACD je typickým znakem zvýšená hladina feritinu (nad 100 ng/l) (Novotný, 2007). Transferin se u anémie chronických chorob vyskytuje snížený nebo v normě. Při vyhodnocování si je důležité uvědomit, že u mnoha pacientů s ACD mohou být současně přítomny chronické krevní ztráty, které stěžují odlišení těchto dvou anémií (Indrák, 2014).



## 4 Talasemie

### 4.1 Definice

Jedná se o vrozené dědičné choroby způsobené poruchou syntézy jednoho nebo více globinových řetězců (Indrák, 2014). Narušená syntéza vede k nerovnováze mezi alfa- a non-alfa-globinovými řetězci, dochází ke snížení syntézy hemu a následně k hromadění železa v erythrocytech (Indrák, 2014; Pecka, 2006). Globinové řetězce, u kterých není narušena syntéza se tvoří v nadbytku, následně precipitují a poškozují erythrocytární membránu. Následně dochází k hemolýze (Pecka, 2006). Talasemi je druh geneticky podmíněné mikrocytární anémie (Vydra, 2015). Základní laboratorní diagnostika metabolismu železa stanoví vyšší hladinu Fe v séru i feritinu, vazebná kapacita pro železo je snížena (Vydra, 2015).

### 4.2 Epidemiologie

Jde o celosvětově nejčastější genetickou odchylku. Vyskytuje se především ve Středomoří, na Středním východě, v Africe, Asii a Číně (Penka et al., 2001). Sporadicky se vyskytuje u osob narozených u nás. Podobně jako u srpkovité anémie chrání erythrocyty před malárií (Vydra, 2015). Od roku 1990 v České republice Indrák a Divoký identifikovali přes 500 nemocných s  $\beta$ -talasemickou mutací a 42 osob s  $\alpha$ -talasemií (Indrák, 2014).

### 4.3 Etiopatogeneze

Molekula hemoglobinu je tvořena čtyřmi globulinovými řetězci a hemem (Vydra, 2015). Dominantním hemoglobinem je HbA1, ten je tvořen ze 2  $\alpha$  a 2  $\beta$  podjednotek. U dospělých osob představuje asi 97%. Dalším je HbA2 jedná se o tetramer ( $\alpha_2\delta_2$ ) a tvoří 2% hemoglobinu. HbF neboli fetální hemoglobin je zastoupen 0,5%. Převažuje především při narození a po 6 měsíci jeho hladina výrazně klesá (Indrák, 2014)

## 5 $\beta$ -talasemie

Jsou vyvolány mutacemi, které ovlivňují regulaci nebo expresi  $\beta$ -globulinového genu. Tento gen je uložen na krátkém raménku chromosomu 11. (Pecka, 2006) U  $\beta$ -talasemie jsou postiženy  $\beta$ -řetězce zatímco tvorba  $\alpha$ -řetězců zůstává zachována (Penka et al., 2001). Důležité je identifikovat, zda se talasemická alela se vyskytuje na jednom (heterozygot) nebo na obou chromosomech (homozygot, heterozygot) (Kozák et al., 2001). Syntéza řetězců u  $\beta^0$ -talasemie je zcela zastavena a u  $\beta^+$ -talasemie je pouze snížena (Penk et al., 2001). U této anémie nacházíme větší množství HbF a HbA<sub>2</sub>. Tuto talasmii klinicky dělíme:  $\beta$ -talasemie minor (asymptomatický heterozygot),  $\beta$ -talasemia intermedia a talasemie major (pacient závislý na transfuzích) (Vydra, 2015).

### 5.1 *Talasemie minor*

Jedná se o nejčastější formu. Je zachycena spíše náhodně při vyšetření KO. Nosičství heterozygotní  $\beta^0$  nebo  $\beta^+$ . (Penka et al., 2001).

#### 5.1.1 *Diagnostika*

Jedná se spíše o lehčí formu anémie, hladina hemoglobinu 100-120 g/l. Výrazně mikrocytární (MCV 50-0 fl) hypochromní (Indrák, 2014). Normální nebo mírně zvýšený počet erytrocytů v krevním obraze (Penka et al., 2001). V laboratorním nátěru vidíme basofilní tečkování erytrocytů a terčovité erytrocyty, poikilocyty (Indrák, 2014). Nacházíme mírné zvýšení retikulocytů (Penka et al., 2001). Hladina sérového železa je v normě (Kozák et al., 2001). Diagnózu nám potvrdí zvýšená hladinu hemoglobinu HbA<sub>2</sub> (3-5%) a někteří nosiči mají lehce zvýšený HbF (Indrák, 2014).

## 5.2 *Talasemie major*

Jedná se o homozygotní nebo dvojité heterozygotní formu. Průběh onemocnění je oproti talasemii minor závažný. Záleží na tom, jaká alela byla zděděna ( $\beta^0\text{-}\beta^0, \beta^+\text{-}\beta^+, \beta^0\text{-}\beta^+$ ). Splenomegalií nám způsobují precipitující  $\alpha$ -řetězce. Erytrocyty jsou schopny syntetizovat  $\gamma$ -řetězce, vzniká HbF s afinitou ke kyslíku. Poté dochází k tkáňové hypoxii a zvýšeným nárokům na krvetvorbu (Penka et al., 2001). Dochází k přetížení organismu železem (Vydra, 2015).

Onemocnění se začne vyvíjet pár týdnů po narození. Zhruba v 6. týdnu se objeví anemie, následně splenomegalie. V pozdějším věku se objevuje retardace růstu, diabetes mellitus, změny na končetinách a lebce hlavy („kartáčovitá lebka“). Následně dochází k vážnému poškození důležitých orgánů (Penka et al., 2001).

### 5.2.1 *Diagnostika*

Těžká mikrocytární hypochromní anémie s hemoglobinem 20-30 g/l. Jasně viditelná anizocytóza (RDW > 15,2) (Penka et al., 2001). V nátěru jsou patrné terčovité erytrocyty s basofilním tečkováním, četné erytroblasty patrná je poikylocytóza. Nížený počet retikulocytů <1% (Vydra, 2015). Nemocní mají zvýšenou hladinu HbF na 10% někteří i 90 %, HbA chybí a HbA<sub>2</sub> různě vysoká. Barvení na železo prokáže přítomnost vyššího množství sideroblastů a zásobního Fe v kostní dřeni (Indrák, 2014).

## 6 $\alpha$ -talasemie

Alfa-globulínový gen je uložen na raménku 16 chromozomu (Kozák et al., 2001) Tvorba  $\alpha$ -řetězců je potlačena, stupeň poruchy a množství  $\beta$ -řetězců závisí na počtu porušených genů (Penka et al., 2001). Alfa- řetězec je syntetizován 4 geny, při narušení syntézy dochází k přebytku  $\beta, \gamma, \delta$  řetězců (Pecka, 2006). Vznikají z rozsáhlých delecí úseku DNA (Kozák et al., 2001).

**Tiché nosičství:** Dochází k němu při chybění 1 genu pro  $\alpha$ -řetězec. Nacházíme mikrocytózu bez anémie (Penka et al., 2001)

### 6.1 *Alfa-thalassemia minor*

Nastává při chybění 2 genů pro  $\alpha$ -řetězec (-,-/ $\alpha, \alpha$ ) to znamená, že jedna z alel nese alfa-talasemický gen (Pecka et al., 2006; (Penka et al., 2001).

#### 6.1.1 *Diagnostika*

Výrazná mikrocytóza s hypochromií, anémie se vyskytuje jen lehce. V krevním nátěru je normální nebo lehce zvýšený počet retikulocytů (Penka, 2001)

### 6.2 *Choroba hemoglobinu H*

Nastává při chybění 3 genů pro alfa-řetězec (-,-,-/ $\alpha$ ). Pro nedostatečnou tvorbu alfa-řetězců vniká HbH je nestabilní a způsobuje zkrácené přežívání erytrocytů. Anemie vzniká po prvním roce života (Penka et al., 2001).

### **6.2.1 Diagnostika**

Hypochromní mikrocytární anemie (MCV < 70 fl). V krevním nátěru jasná anizocytóza, terčovité erythrocyty s bazofilním tečkováním, zvýšená hladina retikulocytů. (Penka et al., 2001). Hodnoty hemoglobinu HbF a HbA<sub>2</sub> v normě (Vydra, 2015).

### **6.3 Choroba hemoglobinu Barts**

Choroba vzniká při chybění všech genů pro alfa-řetězec (-,-/-,-). Ze všech popsaných  $\alpha$ -forem je právě tahle nejzávažnější. Jedná se o homozygotní  $\alpha^0$  talasemii. U této anemie se nevytváří žádný z hemoglobinu HbA, HbA<sub>2</sub>, HbF. Vznikající Hb Barts se silně váže ke kyslíku a tím dochází ke špatnému zásobování tkání. Většinou dochází k úmrtí plodu ve 24. až 34. týdnu těhotenství (Penka et al., 2001).

## **7 Cíle a hypotézy**

### **7.1 Cíl práce**

Cílem této bakalářské práce je zjistit frekvenci mikrocytárních anemií z krevních obrazů, tj. určení kolik % pacientů bude anemických a kolik % z těchto pacientů bude mikrocytárně anemických.

### **7.2 Hypotézy**

Hypotéza 1

Frekvence mikrocytární anémie je ovlivněná věkem.

Hypotéza 2

Anémií chronických chorob je v nemocniční laboratoři více než sideropenických anémií.

## **8 Metodika**

### **8.1 Charakteristika dat**

Veškeré naměřené krevní obrazy jsem získala na pracovišti hematologie v Nemocnici České Budějovice a.s. Z těchto KO jsem následně zjistila počet všech mikrocytárních pacientů. Získané hodnoty jsem následně doplnila o další důležitá data, která jsem si vyhledala v laboratorním informačním systému na pracovišti Klinické chemie, jednalo se o parametry železa, transferinu a feritinu.

### **8.2 Příjem materiálu**

Veškeré vzorky jsou přijímány na centrální příjem Nemocnice České Budějovice. Před vlastním vyšetřením musí být příslušným pracovníkem zkontrolovány, zda je vzorek odebrán do správné zkumavky a zda je ho dostatečné množství. Vzorky musí být řádně identifikovány a musí být dodány spolu s žádankou. Žádanka musí obsahovat jméno, rodné číslo, kód diagnózy, zdravotní pojišťovnu pacienta, oddělení, které žádá o dané vyšetření, čas odběru a kdo materiál odebral. Dále musí obsahovat seznam vyžadovaných vyšetření a podpis lékaře. V případě veškerých nesrovnalostí jako je špatně označený, porušený vzorek, chybějící žádanka nesmí být tento materiál přijat. Krev pro stanovení krevního obrazu se odebírá do zkumavky s fialovým uzávěrem, které obsahují antikoagulační činidlo  $K_3EDTA$ . Krev pro stanovení železa se vyšetřuje ze séra a odebírá se do zkumavky s červeným uzávěrem, kde není protisrážlivé činidlo. Tyto zkumavky se následně označí identifikačními štítky, buď jako rutinní krev nebo satim, který musí být vyšetřen do půl hodiny. Takto připravený materiál se zadá do informačního laboratorního systému a před vložením do analyzátoru se nechá promíchat na třepačce.

### 8.3 Metody

V hematologii existuje více než 400 laboratorních metod, které jsou uvedeny v odborných příručkách s vysvětleným způsobem odběru vzorků přes metodické postupy až po diagnostiku hematologických onemocnění (Navrátil et al., 2008)

#### 8.3.1 Krevní obraz

V krevním obrazu se stanovují krevní buňky a jejich parametry. Využívá se k diagnostice různých onemocnění (Pecka et al., 2010). Jinak řečeno jedná se o souhrný pojem pro počet leukocytů (WBC), erytrocytů (RBC), koncentraci hemoglobinu v erytrocytu (MCV), hematokrit (HCT), střední množství hemoglobinu v erytrocytu (MCH), střední koncentraci hemoglobinu v erytrocytu (MCHC), distribuční šířku erytrocytů (RDW), počet trombocytů (PLT), střední objem trombocytu (MPV), hematokrit trombocytu (PCT), distribuční šířku trombocytů (PDW) (tab.3) Leukocyty jsou rozděleny do pěti populací a nazývají se neutrofilů, leukocyty, monocyty, bazofily a eozinofily. Jejich počet může být určen číslem absolutním nebo relativním.

Tab. 3: Referenční hodnoty krevního obrazu

Typ buněk		Referenční meze		Jednotky
		Muži	Ženy	
Leukocyty str.	WBC	4,0-10,0	4,0-10,0	giga/l
Erytrocyty str.	RBC	4,50-6,20	4,20-5,40	tera/l
Hemoglobin	HGB	13,0-17,0	12,0-16,0	g/dl
Hematokrit	HCT	38,0-51,0	36,0-46,0	%
Str. obj. erytr.	MCV	80,0-95,0	80,0-95,0	fl
Str. mn. hem. v erytr.	MCH	26,0-32,0	26,0-32,0	pg
Str. kon. hem. v erytr.	MCHC	32,0-36,0	32,0-36,0	g/dl
Erytr. křivka	RDW	10,9-15,7	10,9-15,7	%
Trombocyty str.	PLT	140-440	140-440	giga/l



### **8.3.2 Stanovení krevního obrazu hematologickým analyzátozem**

V dnešní době se ke zjištění počtu krvinek využívají krevní analyzátory. Podle typu přístroje jsou schopny identifikovat od 24 do 48 parametrů, včetně diferenciálního počtu leukocytů. Výhodou těchto analyzátozů je jejich rychlost, jsou schopny vyhodnotit 100 a více krevních obrazů za hodinu, dále přesnost, spolehlivost a k vyhodnocení vzorku potřebují jen malé množství krve 30-210  $\mu$ l (Kubisz, 2006). V nemocnici na pracovišti hematologie využívají hematologický analyzátoz Unicel DxH 800 Beckman Coulter. Před vložením zkumavky do analyzátozu je nutné ji promíchat, aby došlo k propojení krve s příslušným činidlem. Takto připravenou zkumavku dáme do kazety, ještě několikrát promícháme a vložíme do zásobníku na pravé straně analyzátozu. Přístroj automaticky posouvá kazetu k místu aspirace. Zde je zkumavka identifikována čidlem a upevněna do zařízení. Poté dojde k přečtení čárového kódu a jehla pronikne víčkem vakuety a naseje potřebné množství krve.

Tento typ analyzátozu pracuje na principu CBC analýzy. Systém je založen na Coulterově principu, kterým lze stanovit počet a velikost buněk. Jednotlivé buňky procházejí spolu s diluentem vodivou aparaturou, kterou současně probíhá elektrický proud. Ve chvíli, kdy buňka prochází aparaturou, dojde ke snížení vodivosti mezi dvěma elektrodami. Vzniklý elektrický impulz lze vyhodnotit. Velikost tohoto impulzu odpovídá objemu buňky a četnost impulzů odpovídá počtu buněk. Součástí této metody je i hemoglobinometrie, kdy lytické činidlo rozruší erytrocyty a přemění hemoglobin na stabilní barvivo. Výsledná absorbance pigmentu je přímo úměrná koncentraci hemoglobinu, který je následně fotometricky měřen při vlnové délce 525 nm.

Dále se provádí měření diferenciálního rozpočtu leukocytů tzv. VCS technologie, která je tvořena kombinací 3 parametrů. V- analýza využívá nízkofrekvenčního proudu, C-analýza využívá vysokofrekvenčního proudu, který po průniku buněčnou stěnou rozlišuje jejich složky. S-analýza pomocí laserového paprsku měří povrch a tvar buňky.

### **8.3.3 Mikroskopické stanovení krevního obrazu**

V dnešní době, už není tak často využíváno. Krev se ředí v určitém poměru ředícím, barvicím či fixačním roztokem, který zvýrazní počítanou krevní buňku a ostatní elementy potlačí. Stanoví se počet buněk v malém objemu naředěného vzorku a přepočte se na počet v 1 litru. K vyhodnocování používáme nejznámější Bürkerovu komůrku. Při počítání krevních elementů se berou v úvahu jen dvě sousední strany. Počítáme vždy buňky, které leží uvnitř obrazce nebo se dotýkají těchto dvou počítaných stran, buď zevnitř anebo vně plošného obrazce.

### **8.3.4 Zhotovení krevního nátěru a barvení**

Krevní nátěry se musí zhotovit nejpozději do 4 hodin od odběru vzorku. Po tomto časovém úseku může dojít k nevratným změnám v krevních buňkách, které mohou ovlivnit výsledek vyšetření. Kapka promíchané krve se kápne na podložní sklíčko asi v  $\frac{1}{4}$  od okraje sklíčka. Sklíčko se přiloží pod úhlem 30-40° před kapku a lehkým rovnoměrným pohybem se zhotoví nátěr. Takto zhotovený nátěr musí být rovnoměrný tenký a musí mít rovné okraje, které cca 2 cm před koncem sklíčka přecházejí do ztracena. Sklíčko se musí popsat jménem a číslem žádanky.

MGG barvení se využívá pro barvení krevních nátěrů a nátěrů kostní dřeně. Používané roztoky se připravují, každý den čerstvé. Po zhotovení krevního nátěru se zafixuje metanolem po dobu 5 minut. Následuje 5 minutové barvení pomocí roztoku May-Grünwald, poté sklíčko očistíme od přebytečné barvy a vložíme do roztoku Giemsa-Rpmanowski, kde necháme barvit 25-30 minut.

### **8.3.5 Stanovení železa**

Provádí se na oddělení Klinické chemie Nemocnice České Budějovice a využívají analyzátor ADVIA 1800. Použití pro kvantitativní stanovení železa v lidském séru nebo plazmě dodané ve zkumavce s heparinem lithným. Tato stanovení se používají při diagnóze a léčbě nedostatku železa způsobené anémií. V kyselém prostředí je železo uvolněno od svého nosného proteinu, transferinu a redukováno na železitan. Poté železo reaguje s ferozinem, citlivým indikátorem železa, za vzniku barevného chromoforu, který absorbuje při 571/658 nm.

### **8.3.6 Stanovení transferinu**

Transferin stejně jako železo se stanovuje na analyzátoru ADVIA 1800. Jedná se o kvantitativní stanovení transferinu v lidském séru nebo plazmě s heparinem lithným/EDTA. Tato měření se používají při diagnostice anémie z nedostatku železa, onemocnění červených krvinek a chronické infekce. Výsledky stanovení koncentrace proteinu transferinu dobře korelují s výsledky měření celkové vazebné kapacity Fe a jsou užitečné při hodnocení celkového stavu železa. Jedná se o imunoturbidimetrické stanovení s polyetylénglykolem. Vzorek obsahující transferin je naředěn a poté reaguje se specifickým antisérem. Vzniklý precipitát je měřen turbidimetricky při vlnových délkách 596/694 nm.

### **8.3.7 Stanovení feritinu**

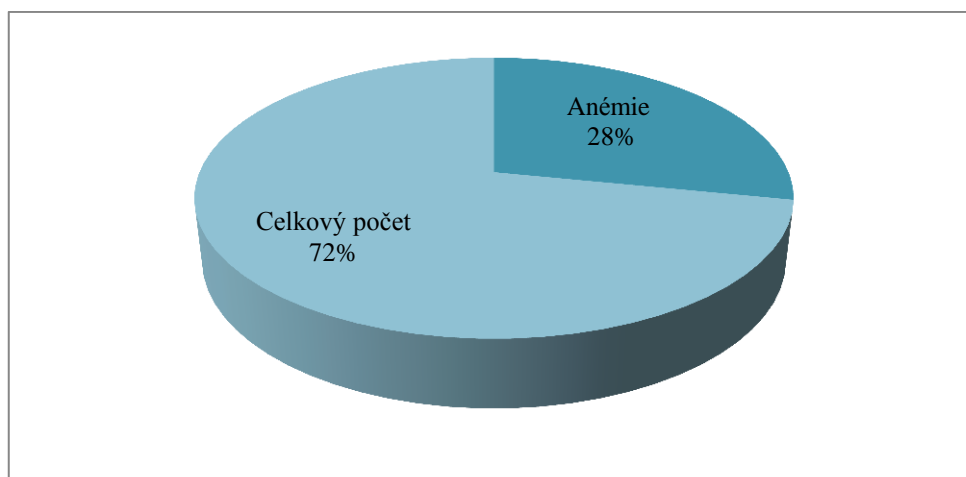
Provádí se na analyzátoru ADVIA Centaur XP. Jedná se o kvantitativní stanovení feritinu. Doporučenými vzorky pro tuto metodu jsou sérum, heparinizovaná plazma nebo EDTA plazma. Principem metody je oboustranná sendvičová imunochemická analýza využívající přímou chemiluminiscenci. Toto stanovení využívá konstantní množství dvou protilátek proti feritinu. První protilátka v reakcii je polyklonální koží protilátka proti feritinu. Druhá protilátka v pevné fázi je monoklonální myší protilátka.

## 9 Výsledky

Naměřené hodnoty krevního obrazu jsem získala během své měsíční praxe v Nemocnici České Budějovice a.s., na oddělení Klinické hematologie. Naměřených KO nebylo velké množství, proto jsem další získala od vedoucího mé bakalářské práce. Výsledný soubor tvořil 7664 pacientů s vyhodnoceným krevním obrazem. Nejprve jsem vyhodnotila počet všech anemických pacientů. Tyto hodnoty jsou uvedeny v tabulce a obrázku viz níže.

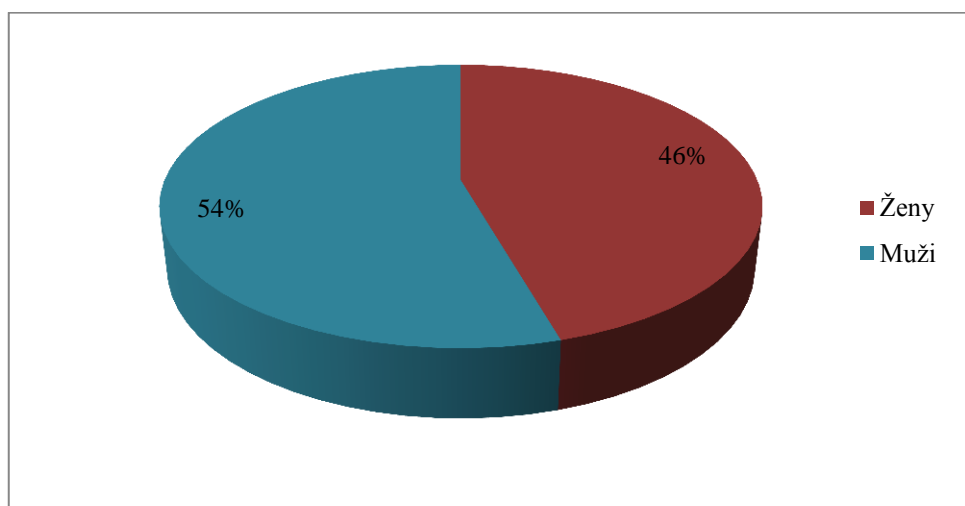
Tab. 4: Vyhodnocené výsledky

Celkový počet pacientů	Celkový počet pacientů s anémií
7664	2974



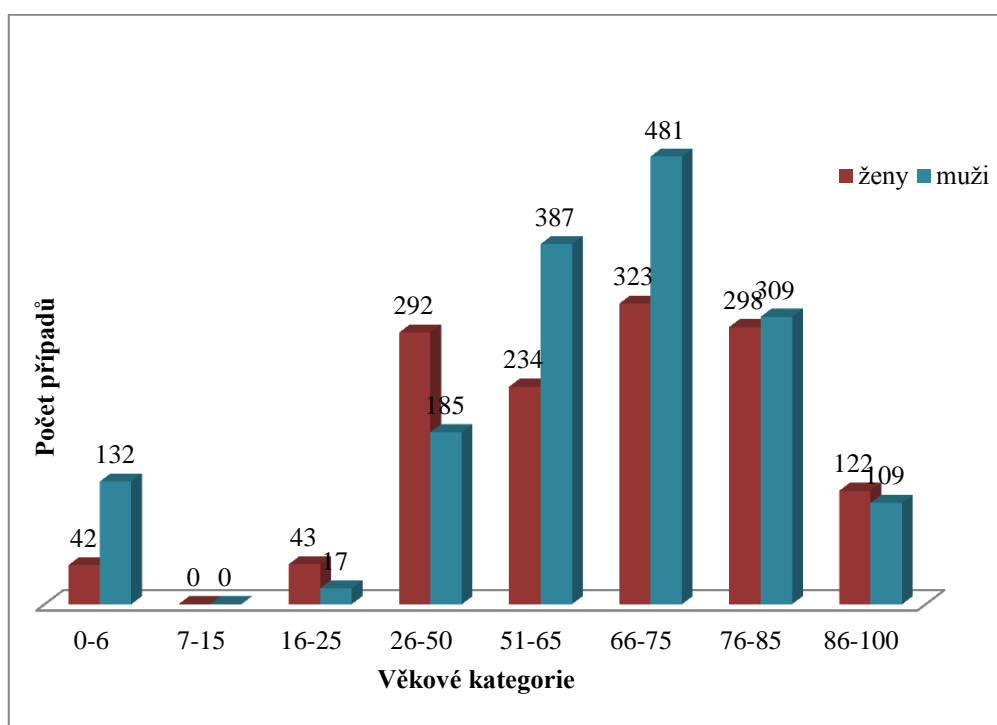
Obr. 3: Procentuální zastoupení anemických pacientů

Následně jsem tyto hodnoty rozdělila dle pohlaví. Větší skupinu tvořili muži s celkovým počtem 1620 a ženy, které byly zastoupeny v menším množství a to 1354 (obr 4).



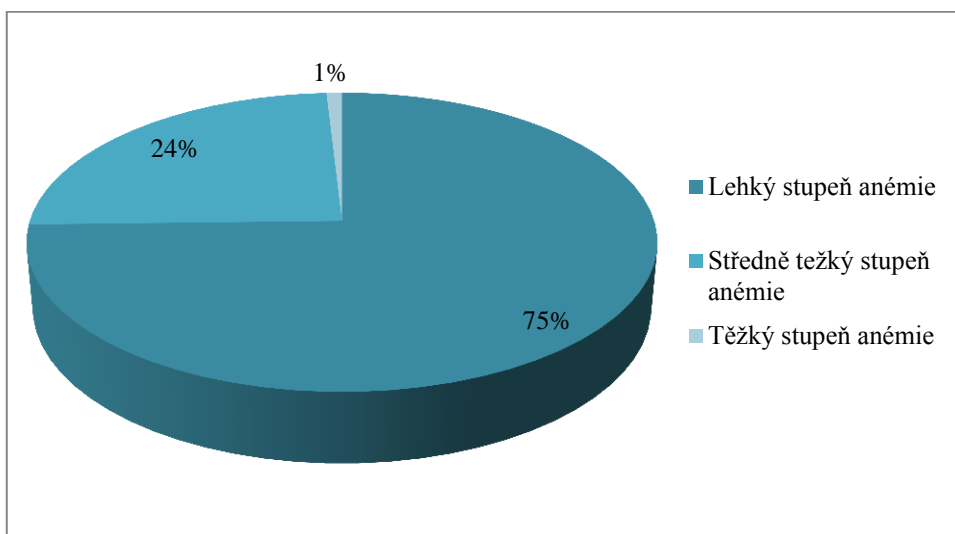
Obr. 4: Procentuální rozdělení anémií dle pohlaví.

V souboru se nacházelo mnoho pacientů o různém věkovém složení, proto jsem je uspořádala podle věkové kategorie a pohlaví. Pacienty jsem rozdělila do 8 skupin. První byly děti od narození po 6 let věku. Následovaly kategorie dospívajících (7-15), mladých dospělých (16-25), v produktivním věku (26-50). Nejvíce jsem rozčlenila skupiny od 50 let věku z důvodu častějších výskytů nemoci.(obr. 5).



Obr. 5: Rozdělení anemických pacientů dle věkové kategorie a pohlaví

Důležitým parametrem pro stanovení o jak závažnou anémii se jedná je vyhodnocení krevního obrazu v závislosti na hemoglobin. Fyziologické rozmezí se pohybuje u mužů a žen odlišně, při poklesu od normy se jedná o anémii. Z tohoto hlediska jsem provedla dělení na 3 kategorie lehký (100-135 g Hb/l), středně těžký (70-100 g Hb/l), těžký stupeň anémie (< 70 g Hb/l). Z obrázku 6 je patrné, že u pacientů se nejčastěji vyskytovala lehká forma anémie.

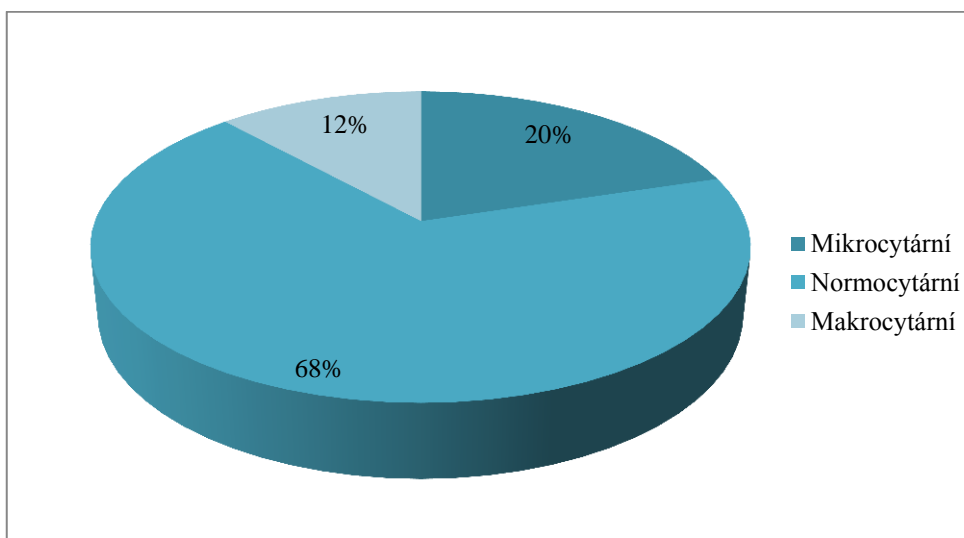


Obr. 6: Rozdělení anémie dle poklesu od normy Hb

Následně jsem rozdělila krevní obraz anemických pacientů podle MCV (tab. 5). Naměřené hodnoty prokázali, že se nejčastěji vyskytovala normocytární anémie a u 20% pacientů anémie mikrocytární (obr. 7).

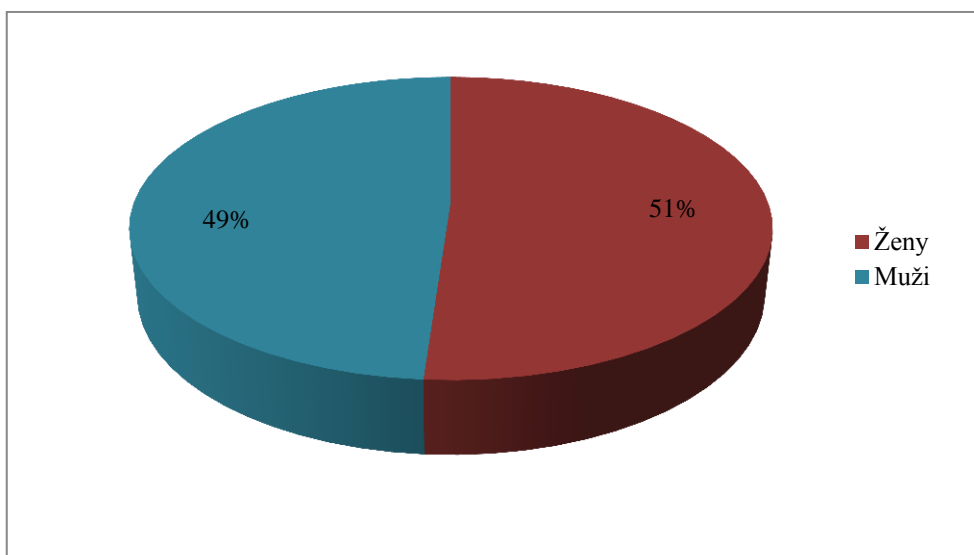
Tab. 5: Rozdělení MCV

MCV	f1
Mikrocytární	<85
Normocytární	85-98
Makrocytární	>98



Obr. 7: Procentuální rozdělení anémii na jednotlivé druhy

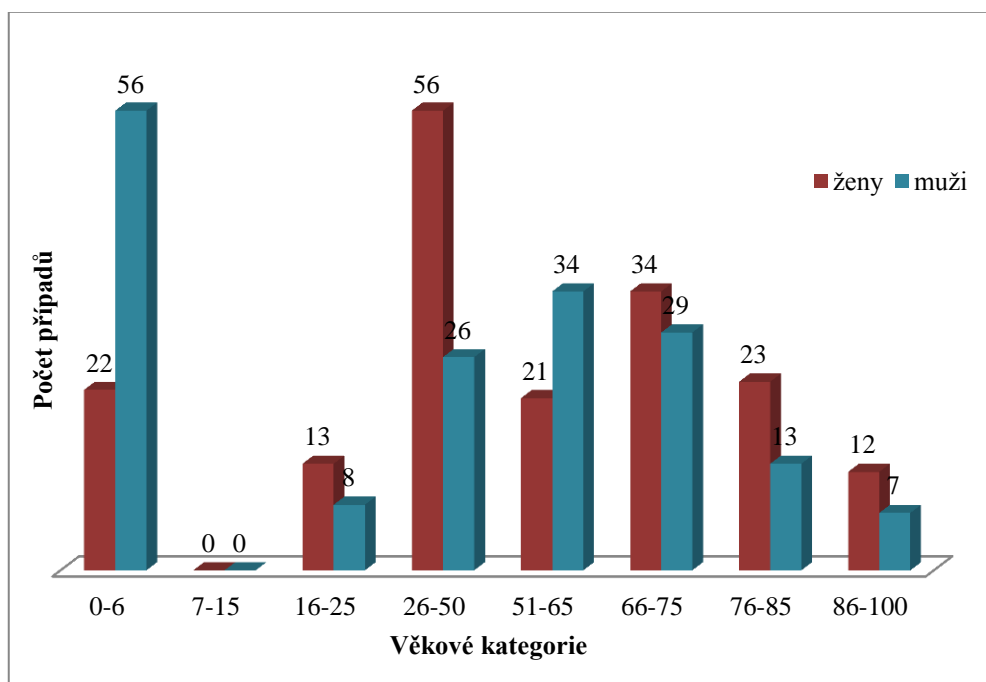
Po úvodním dělení, jsem se začala věnovat pouze mikrocytárním anémiím, které jsem postupně vyhodnocovala. V první řadě jsem v souboru hodnotila zastoupení mikrocytární anémie u mužů a žen. Z obrázku 8 je patrné, že poměry jsou téměř vyrovnány.



Obr. 8: Rozdělení mikrocytární anémie dle pohlaví

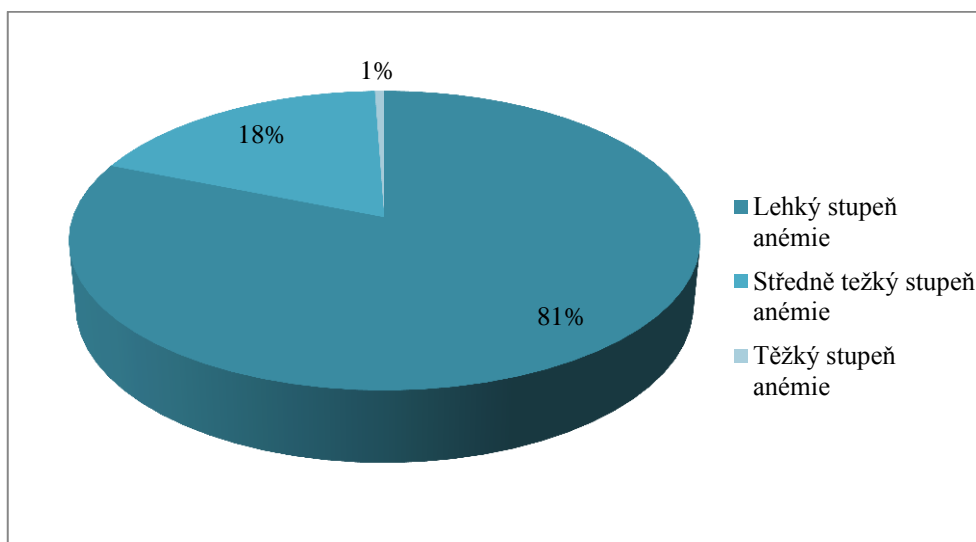


Důležité bylo také vyhodnocení věkové kategorie. Pacienty jsem znovu rozdělila do jednotlivých skupin. Z grafu je patrné, že mikrocytární anémií trpí spíše ženy v produktivním věku a dále po 66 roku života. Podrobnější rozdělení na jednotlivé věkové kategorie s přesným počtem pacientů je uveden v obrázku 7.



Obr. 7: Mikrocytární anémie dle věkové kategorie

Jako v předchozí části, tak i u mikrocytární anémie je důležité vyhodnotit hladiny hemoglobinu v organismu. Výsledný obrázek ukazuje, že 81% pacientů trpí lehkým stupněm a pouze jedno procento těžkým stupněm anémie. Dále jsem zjišťovala minimální, maximální a průměrnou hodnotu MCV (tab. 6).



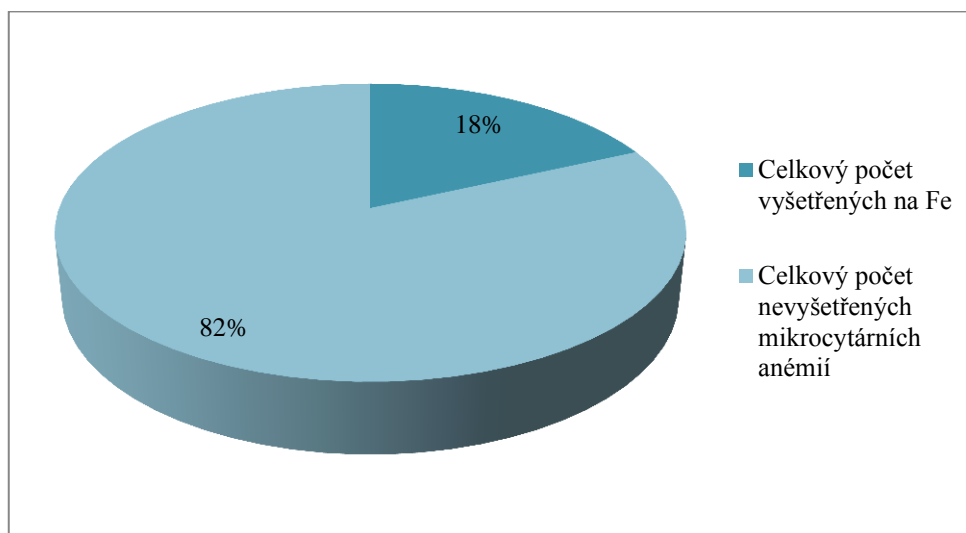
Obr. 9: Mikrocytární anémie dle závažnosti poklesu od normy.

Tabulka 6: Zjištěné hodnoty MCV

MCV	f1
Minimum	56,7
Maximum	84,9
Průměrná hodnota	79,6

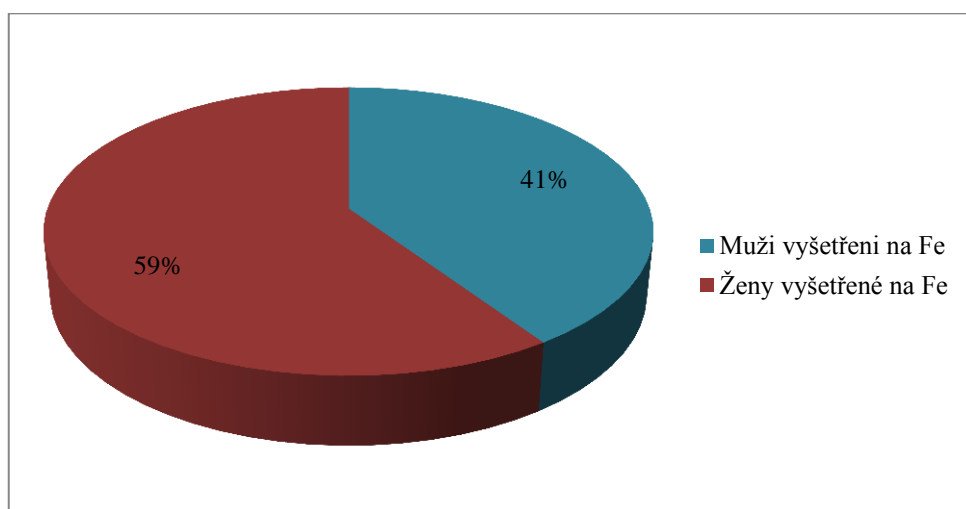
Druhou část dat potřebnou k vyhodnocení mikrocytárních anémií jsem si dohledala v laboratorním informačním systému na oddělení Klinické chemie. Jde o data získaná po dobu třech měsíců, sledovaným souborem byli pacienti, kteří byli vyšetřováni na hladinu železa v séru, transferin a feritin.

Nejdůležitějším parametrem bylo zjištění, kolik mikrocytárních pacientů bylo vyšetřeno na deficit Fe (obr. 10).



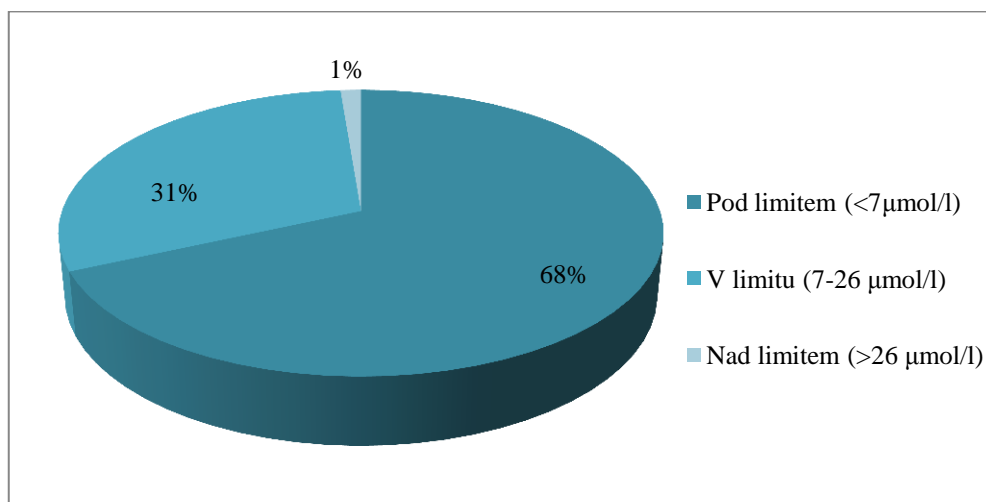
Obr. 10: Vyšetření mikrocytárních pacientů na Fe

Z celkového počtu vyšetřených pacientů na železo bylo 31 mužů a 48 žen. Procentuální zastoupení znázorňuje obrázek 11 .



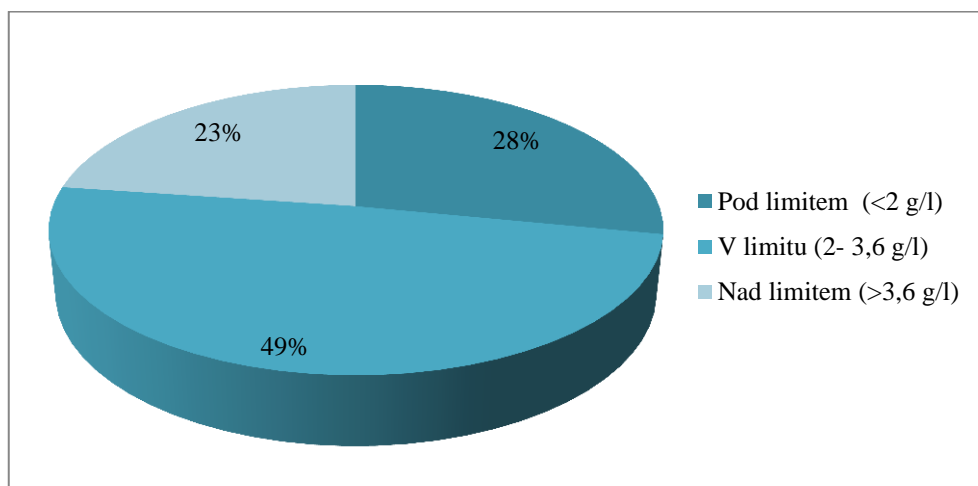
Obr. 11: Počet mikrocytárních pacientů vyšetřených na Fe dle pohlaví

Při vyhodnocování železa se stanovuje jeho hladina, která nám určuje, zda se Fe v séru vyskytuje v normě nebo má nějakou výchylku (obr. 12).

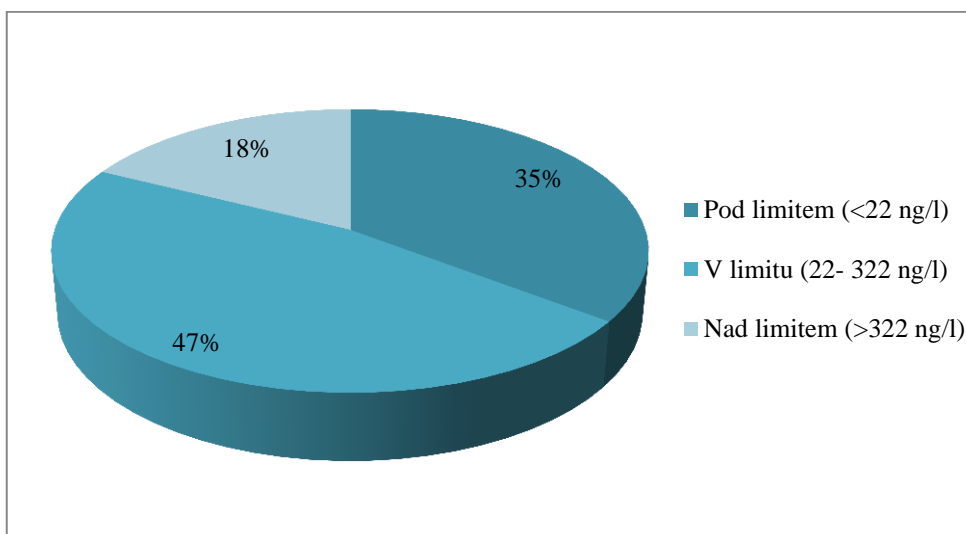


Obr. 12: Hladiny železa u mikrocytární anémie.

Stejným způsobem jsem vyhodnotila hladinu transferinu (obr. 13) a feritinu (obr. 14). Z obrázků je patrné, že téměř polovina pacientů u obou parametrů měla hladinu v normě. Tyto hladiny jsou důležité, při následném určování o jaký typ anémie se jedná.

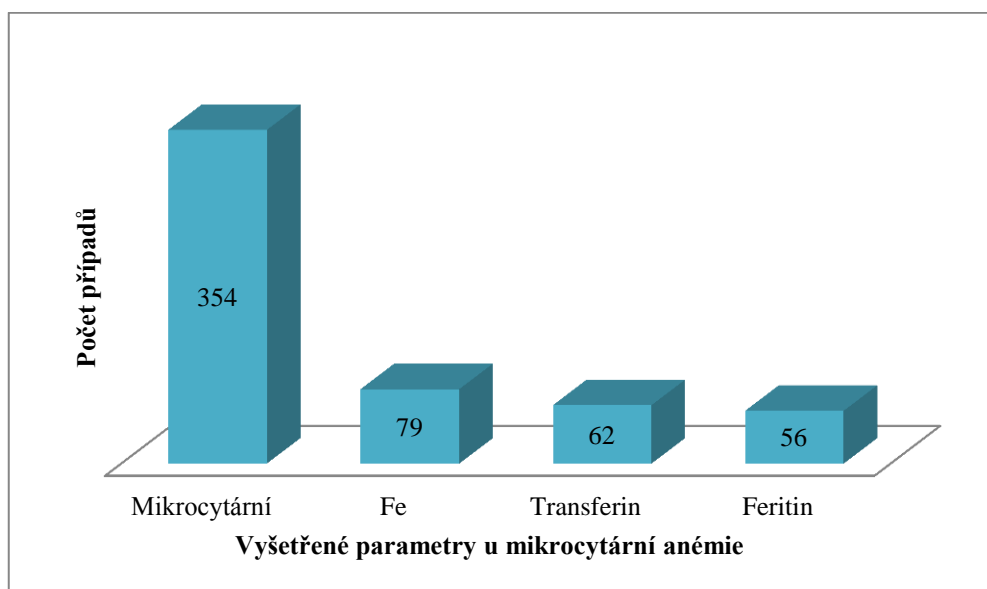


Obr. 13: Hladina transferinu u mikrocytární anemie



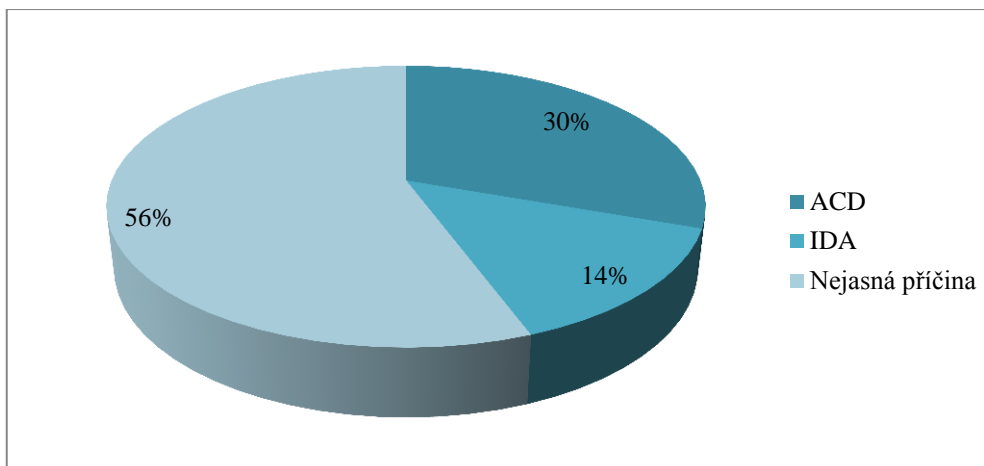
Obr. 14: Hladina feritinu u mikrocytární anemie

Počet vyšetřených pacientů na jednotlivé parametry jsem znázornila v obrázku 15. Ze všech mikrocytárních pacientů, bylo na Fe vyšetřeno pouze 79, na transferin 62 a feritin 56.



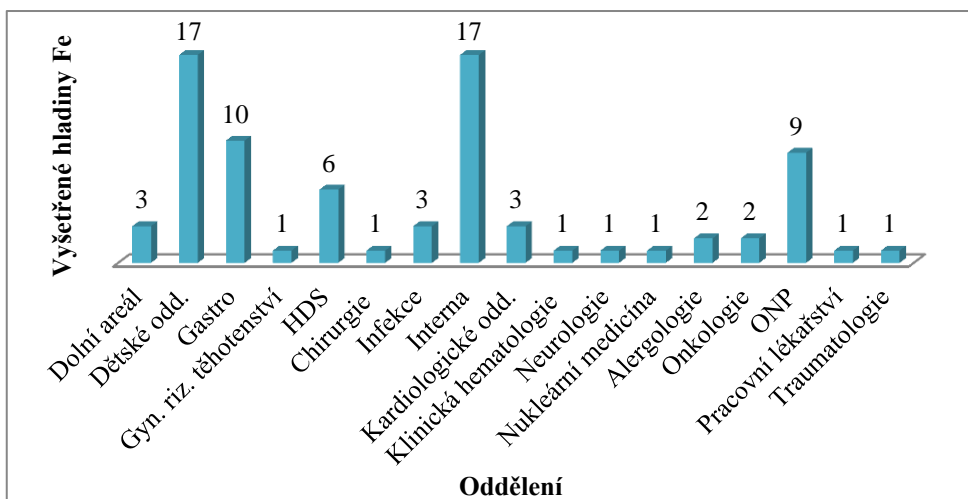
Obr. 15: Vyšetřené parametry

Podle vyhodnocených parametrů jsem si anémie rozdělila na jednotlivé typy. U mnoha pacientů hodnoty transferinu a feritinu zcela chyběly, tak je nebylo možné uvést. Nejvíce se vyskytovala anémie chronických chorob (ACD), následně anémie z nedostatku železa (IDA). Nejasná příčina znamená, že hodnoty vyšetřovaných parametrů byly v normě (obr. 16).



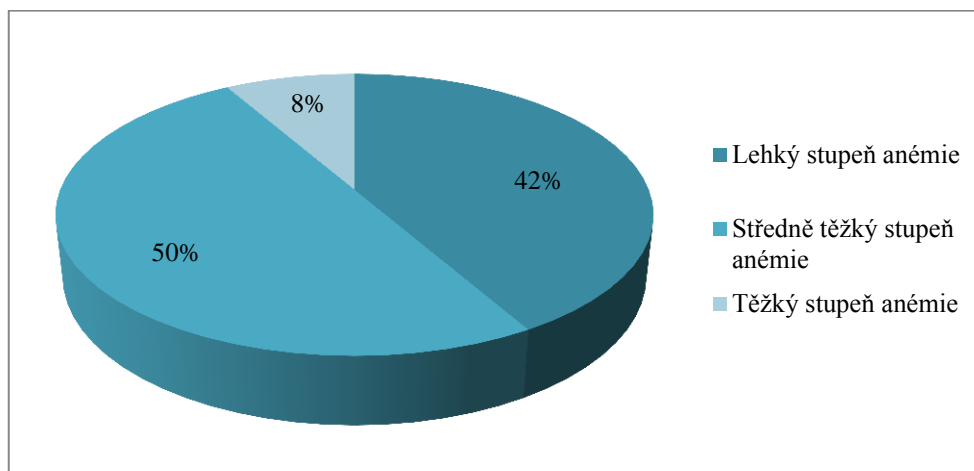
Obr. 16: Druhy mikrocytárních anémií

Následující obrázek znázorňuje, z jakých oddělení byly odebrány vzorky k vyšetření hladiny železa.

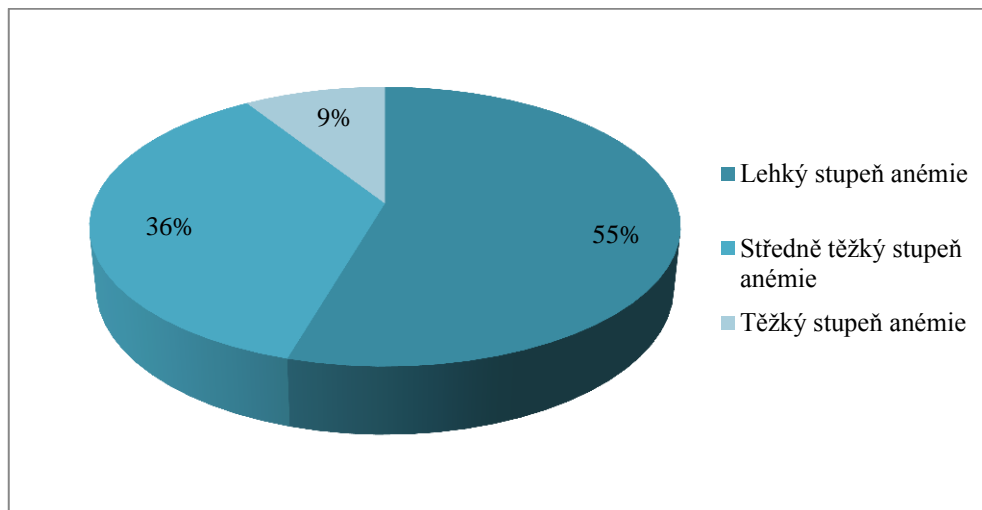


Obr. 17: Vyšetřené hladiny Fe.

Stejně jako u předchozí mikrocytární anémie jsem si anémii chronických (obr. 18) a sideropenickou anémií (obr. 19) rozdělila podle poklesu od normy Hb na lehký, středně těžký a těžký stupeň anémie.

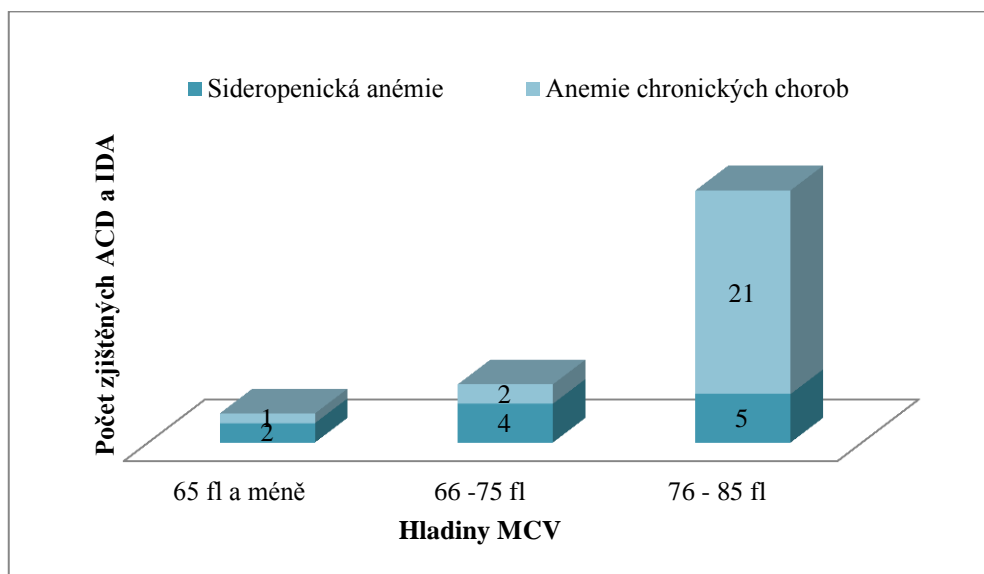


Obr. 18: ACD dle stupně anémie.



Obr. 19: IDA dle stupně anémie.

Poslední vyhodnocení jsem provedla na základně vyšetření MCV u anemie chronických chorob a sideropenické anemie (obr. 20)



Obr. 20: Vyšetřené ACD a IDA v závislosti na MCV



## 10 Diskuze

Pro tuto práci jsem získala soubor pacientů z oddělení Klinické hematologie Nemocnice České Budějovice a.s. za měsíc říjen 2015. V celém souboru pacientů jsem zjišťovala frekvenci vzniku anémie. Následně jsem sledovala výskyt mikrocytárních anémií. Získaná data jsem doplnila o hodnoty železa, transferinu a feritinu u pacientů s mikrocytární anémií. Veškeré výsledky jsem následně porovnávala s příslušnou literaturou.

Podle (McClean, 2009) studie z roku 2009 se anémie vyskytuje u 24,8 % populace v celosvětovém měřítku. V mém souboru bylo vyšetřeno 28 % pacientů s anémií. Jednotlivé údaje se nijak zvlášť neliší, jelikož v obou případech se jedná o vyšetření provedená v nemocničním prostředí.

V rozvinutých zemích se anémie vyskytuje u cca 4 % mužů a 8% žen. (Vydra 2015) V mém souboru pacientů byla anémie nalezena častěji u mužů (54%) než u žen (46%).

Anémie častěji vznikají ze sekundárních příčin, jako důsledek jiného onemocnění. (Pecka, 2006) Výsledky mé práce toto tvrzení potvrdily. Jelikož v mém souboru dat bylo zjištěno 30% anémií chronických chorob.

Za dané období bylo vyšetřeno přes 7 tisíc vzorků, u 2974 vzorků byla zjištěna anémie, což odpovídá 28 %. Frekvence výskytu anémie se zvyšovala s věkem. Získané hodnoty jsem porovnávala s výsledky americké studie. V této studii bylo za stejný časový úsek vyšetřeno 7,7% pacientů s anémií, průměrný věk těchto pacientů byl 65 let. (Corona, 2014). V mém souboru bylo vyšetřeno více anemických pacientů, jelikož se jednalo o nemocniční prostředí, naopak vzorky použité při již zmíněné studii, byly odebrány ambulantně.

Mikrocytární anémie je nejčastějším typem anémie. Pro stanovení typu anémie se využívá index MCV, jehož hodnota je v tomto případě snížena pod 85fl (Busti, 2014). Předpokládala jsem, že tato forma anémie se bude vyskytovat u pacientů častěji

než anémie makrocytární. Výsledná hodnota mi tyto předpoklady potvrdila, dokazuje, že touto anémií trpí především ženy v reprodukčním věku a osoby starší 50 let.

Při diagnostice mikrocytární anémie je důležité stanovit hladinu železa.(Vydra, 2015). Má práce potvrdila, že část pacientů byla na hladinu železa vyšetřena. Z celkového počtu 354 pacientů s mikrocytární anémií bylo takto vyšetřeno jen 79 a z toho 48 žen. Počet vyšetření na deficit Fe jsem očekávala mnohem vyšší. Moje výsledky jsem opět porovnávala se zahraničními studiemi, kde hodnotili 202 mikrocytárních pacientů, vyšetřeno na deficit železa bylo 150 a z toho 90 žen (Quintana-Díaz, 2016). Toto srovnání mi opět potvrdilo, že na deficit železa trpí především ženy ve fertilním období v důsledku menstruačních ztrát.

Dalším důležitým markerem pro stanovení daného typu anémie je feritin. Při poklesu hladiny pod 22 ng/l poukazuje na anemii z nedostatku železa. Navýšení hladiny nad 322 ng/l značí zánětlivý proces a možnou přítomnost anémie chronických chorob (Bross, 2010). Z mého hlediska je feritin důležitým markerem, ale u mnoha pacientů nebyl stanoven a proto bylo velmi obtížné zjistit typ anémie. Požadavek na vyšetření hladiny feritinu závisí na rozhodnutí lékaře, ale nejedná se o povinné vyšetření.

Během vyhodnocování jednotlivých dat a pročitáním odborné literatury, jsem předpokládala zvýšený počet ACD a tento stav se v mé práci potvrdil. Zjistila jsem celkem 24 pacientů s tímto typem anémie. Předpokládám, že důvodem vyššího počtu tohoto typu anémie v mé studii je hospitalizace pacientů v nemocnici v důsledku jiného onemocnění. Následkem kterého došlo ke vzniku anémie chronických chorob. Klinický obraz je tedy dán kombinací příznaků anémie a základního onemocnění (Indrák, 2014).

V literatuře je jako nejrozšířenější anémie popisována sideropenická anémie. Ostatní studie, tvrdí, že se nejčastěji vyskytuje u těhotných žen a starších osob, kteří trpí nádorovým onemocněním gastrointestinálního traktu (Sahovic, 2012). Toto tvrzení nemohu potvrdit, jelikož v mém souboru bylo zjištěno pouze 11 pacientů se sideropenickou anémií. V této práci jsem předpokládala zvýšený počet sideropenické anémie především u těhotných žen, což se opět nepotvrdilo. V celém souboru pacientů byla vyšetřena pouze jedna žena na gynekologickém oddělení, při rizikovém těhotenství. U této pacientky jsem potvrdila anemii z nedostatku železa.

## 11 Závěr

Cílem této práce bylo zjištění frekvence sideropenické anémie u krevních obrazů získaných na oddělení Klinické hematologie nemocnice České Budějovice a.s. Tyto krevní obrazy jsem vyhodnotila a následně doplnila o potřebné parametry železa, transferinu a feritinu. Veškeré takto zpracované údaje jsem následně využila při diagnostice mikrocytárních anémií. V závěru praktické části jsem stanovila výskyt anémie chronických chorob a sideropenickou anémií. Veškeré stanovené cíle jsem splnila. V průběhu práce jsem si stanovila dvě hypotézy. První hypotézou bylo, že výskyt mikrocytárních anémií je ovlivněn věkem. Tuto hypotézu jsem potvrdila, jelikož v mém souboru dat se výskyt mikrocytárních anémií zvyšoval po 50 roku života.. Druhou hypotézou bylo, že je možné očekávat vyšší počet anémií chronických chorob než anémií sideropenických. Tuto hypotézu jsem opět potvrdila, jelikož většina z vyšetřovaných pacientů byla hospitalizována v nemocnici s jiným chronickým nebo infekčním onemocněním a ACD u těchto onemocnění vzniká. Výsledky této práce mohou být dále využity při praxi k lepší diagnostice a napomoci ke snížení výskytu těchto anémií.

## 12 Seznam použitých zdrojů

1. ALLEYNE, M., M. HORNE a J. MILLER. Individualized Treatment for Iron-deficiency Anemia in Adults. *The American Journal of Medicine*. 2008, **121**(11), 943-8. DOI: 10.1016/j.amjmed.2008.07.012.
2. BROSS, M. H., K. SOCH a T. SMITH-KNUPPEL. Anemia in Older Persons. *American Family Physician*. 2010, **82**(5), 480-487.
3. BULIKOVÁ, A. Anemie v praxi. *Interní Medicina pro praxi*. 2011, **13**(1), 31–34.
4. BUSTI, F., N. CAMPOSTRINI a N. MARTINELLI. Iron deficiency in the elderly population, revisited in the hepcidin era. *Front Pharmacol*. 2014, **5**(83), 519–527.
5. CORONA, L., Y. DUARTE a M. LEBRÃO. Prevalence of anemia and associated factors in older adults: evidence from the SABE Study. *Rev Saude Publica*. 2014, **48**(5), 723–731. DOI: 10.1590/S0034-8910.2014048005039.
6. GANZ, T. Molecular control of iron transport. *J Am Soc Nephrol*. 2007, **18**(1), 394-400.
7. INDRÁK, K. *Hematologie a transfuzní lékařství*. 1. V Praze: Triton, 2014. ISBN 978-80-7387-722-4.
8. KLENER, P. *Vnitřní lékařství*. 1. Praha: Karolinum, 1995. ISBN 80-7184-046-7.
9. KOZÁK, T. et al. *Vnitřní lékařství: Hematologie*. 1. vyd. Praha: Karolinum, c2001. ISBN 80-726-2085-1.

10. KUBISZ, P. et al. *Hematológia a transfuziologie: učebnica*. 1. Praha: Grada, 2006. ISBN 80-247-1779-4.
11. LEDVINA, M., A. STOKLASOVÁ a J. CERMAN. *Biochemie pro studující medicíny*. 1. Praha: Karolinum, 2006. ISBN 80-246-0850-2.
12. LEMOS, A., L. ISMAEL, C. BOATO a et al. A hepcidina como parâmetro bioquímico na avaliação da anemia por deficiência de ferro. *Rev Assoc Med Bras*. 2010, **56**(5), 596-599. DOI: 10.1590/S0104-42302010000500024.
13. MCLEAN, E., M. COGSWELL, I. EGLI, D. WOJDYLA a B. DE BENOIST. Worldwide prevalence of anaemia, WHO Vitamin and Mineral Nutrition Information System, 1993–2005. *Public Health Nutrition* [online]. 2009, **12**(04), 444-45. DOI: 10.1017/S1368980008002401.
14. NAVRÁTIL, L. a et al. *Vnitřní lékařství pro nelékařské fakulty*. 1. Praha: Manus, 2003. ISBN 80-86571-02-5.
15. NAVRÁTIL, L. a et al. *Vnitřní lékařství: pro nelékařské zdravotnické obory*. 1. Praha: Garda, 2008. ISBN 978-80-247-2319-8.
16. NOVOTNÝ, J. Poruchy metabolismu železa II. *Vnitřní lékařství*. 2005, **51**(9), 995-1006.
17. NOVOTNÝ, J. Sideropenická anémie. *Medicina pro praxi*. 2007, **4**(11), 390-394.
18. PECKA, M. a M. BLÁHA. *Praktická hematologie: laboratorní metody*. 1. Český Těšín: Infiniti art, 2010. ISBN 978-80-903871-9-5.

19. PECKA, M. *Laboratorní hematologie v přehledu: fyziologie a patofyziologie krevní buňky*. 1. Český Těšín: FINIDR, 2006. ISBN 80-86682-02-1.
20. PECKA, M. *Laboratorní hematologie v přehledu: fyziologie a patofyziologie hemostázy*. 1. Český Těšín: FINIDR, 2004. ISBN 80-86682-03-X.
21. PENKA, M. et al. *Hematologie I: Neonkologická hematologie*. 1. Praha: Grada, 2001. ISBN 80-247-0023-9.
22. POSPÍŠILOVÁ, D. Anémie chronických chorob ve světle nových poznatků. *Pediatric.pro Praxi*. 2007, **8**(5), 276-280.
23. QUINTANA-DÍAZ, M., S. FABRA-CADENAS, a S. GÓMEZ-RAMÍREZ,. A fast-track anaemia clinic in the Emergency Department: feasibility and efficacy of intravenous iron administration for treating sub-acute iron deficiency anaemia. *Blood Transfusv*. 2016, **14**(2), 126–133. DOI: DOI: 10.2450/2015.0176-15.
24. RAIDA, L. Anémie chronických chorob. *Vnitřní lékařství*. 2005, **51**(7), 878-880.
25. SAHOVIC, S., Z. VUKOBRATBIJEDIC a V. SAHOVIC. Importance of Sideropenic Anemia in the Diagnosis of Gastrointestinal Tract Tumors. *Mater Sociomed*. 2012, **24**(2), 81-83. DOI: 10.5455/msm.2012.24.81-83.
26. SEDLÁČKOVÁ, T. a J. RACEK. Metabolismus železa a jeho regulace. *Klinická biochemie a metabolismus*. 2009, **17**(38), 17-23.
27. ŠIMEK,, M. Nové poznatky o metabolismu železa. *Vnitřní lékařství*. 2005, **51**(3), 345-353.

28. VOKURKA, M. a Z. LACINOVÁ. Hecidin Expression in Adipose Tissue Increases during Cardiac Surgery. *Physiol. Res.* 2010, **59**(1), 393-400.
29. VYDRA, J. a P. CETKOVSKÝ. *Hematologie v kostce*. 1. Praha: Mladá fronta: Aeskulap, 2015. ISBN 978-80-204-3698-6.
30. WEINSTEIN, D. et al. Inappropriate expression of hepcidin is associated with iron refractory anemia: implications for the anemia of chronic disease. *Blood*. 2002, **100**, 3776-3781.
31. WILHELM, Z. Praktické lékařství. *Co je dobré vědět o železe*. 2007, **1**, 41-44.
32. ŽOUREK, M., S. LACIGOVÁ a et al. Přehled metabolismu železa s ohledem na klinickou praxi. *Diabetologie, metabolismus, endokrinologie a výživa*. 2007, **10**(2), 100-105.