



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Sciences

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

Změny krevního obrazu u chronicky nemocných pacientů a jeho laboratorní zpracování

Bakalářská práce

Studijní program: **SPECIALIZACE VE ZDRAVOTNICTVÍ/ZDRAVOTNÍ
LABORANT**

Autor: Michala, Vávrová

Vedoucí práce: MUDr. Marie, Láďová

České Budějovice 2017

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci na téma Stanovení krevního obrazu u chronických nemocných pacientů a jeho laboratorní zpracování jsem 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 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 (datum)

.....

(jméno a příjmení)

Poděkování

Ráda bych poděkovala především vedoucí mé bakalářské práce paní MUDr. Marii Ládové za ochotu, odbornou pomoc, připomínky a cenné rady. Dále bych ráda poděkovala zdravotní laborantce paní Bc. Romaně Sladké za cenné rady při zpracování mé práce a za spolupráci.

Změny krevního obrazu u chronicky nemocných pacientů a jeho laboratorní zpracování

Abstrakt

Ve své bakalářské práci se zabývám anémií chronických onemocnění (ACD), která je druhou nejčastější anémií po anémii z nedostatku železa a obvykle doprovází chronické zánětlivé, infekční či dokonce autoimunitní onemocnění. V teoretické části popisuji anémii z obecného hlediska, neboť se jedná o velmi časté onemocnění. Dále se zabývám poruchami metabolismu železa a jeho správným fungováním v organismu, diagnostikou, příčinami, léčbou a novými léčebnými přístupy ACD. Zvláštní pozornost věnuji pacientům, kteří mají anémii s chronickým onemocněním ledvin. Je to jedna z nejčastějších primárních chorob, kterou anémie doprovází a za poslední desetiletí se stala předmětem intenzivního studia. V praktické části se věnuji analýze dat. Nejprve jsem vyšetřila krevní obraz 30 pacientům s ACD pomocí hematologického analyzátoru CELL-DYN Ruby v laboratoři STAFILA, spol. s. r. o. České Budějovice za období červen 2016 až duben 2017. Z krevního obrazu pacientů jsem se dále zabývala těmito parametry: počtem erytrocytů (RBC), množstvím hemoglobinu (HGB), středním objemem erytrocytů (MCV) a distribuční šíří erytrocytů (RDW), poněvadž bývají spojovány s ACD. Vypozorovala jsem, že ACD se nejvíce vyskytovala u pacientů ve věkové kategorii nad 70 let, která zahrnovala hlavně ženy a podle spočítaného průměrného věku obou pohlaví se u žen choroba projevuje o něco dříve. Téměř všichni pacienti měli nízké hodnoty RBC i HGB. Podle hladiny HGB jsem určila závažnost anémie. Nejvíce pacientů mělo lehkou anémii a nejméně pacientů těžkou. Dle průměrných hodnot hemoglobinu (Hb) pro jednotlivé věkové kategorie jsem vysledovala, že hodnota Hb klesá se zvyšujícím se věkem. Dle parametru MCV měla většina pacientů normocytární anémii a dle RDW se heterogenní populace erytrocytů vyskytovala více u mužů. Své výsledky jsem porovnávala se studiemi a potvrdila si, že jde opravdu o ACD.

Klíčová slova

Anémie; chronické onemocnění; diagnostika; léčba; krevní obraz; hemoglobin

Changes of blood count at the chronically ill patients and it's laboratory processing

Abstract

In my bachelor's thesis I deal with anaemia of chronic disease (ACD), which is the second most common anaemia after anaemia from iron deficiency and usually it accompanies chronic inflammatory, infectious or even autoimmune diseases. I describe anaemia in general terms, because it's a very common disease, in the theoretical part. I also deal with disorders of iron metabolism and its correct functioning in the organism, diagnosis, causes, treatment and new therapeutic approaches of ACD. I devote a particular attention to patients, who have anaemia of chronic kidney disease. It is one of the most common diseases, which anaemia accompanies and in the last decade it has been the subject of intense study. I devote to analysis data in the practical part. At first, I investigated the blood cell counts of 30 patients with ACD using the hematology analyzer CELL-DYN Ruby in the laboratory STAFILA, spol. s. r. o. České Budějovice for the period June 2016 to April 2017. Next I dealt with cell blood count with parameters: the number of erythrocytes (RBC), the amount of hemoglobin (HGB), a medium volume (MCV) and distribution width of erythrocytes (RDW), because they are associated with ACD. I observed that ACD is most found at the patients in the age group over 70 years, which included mostly women and according to the calculated average age of both sexes, the disease appears a little earlier at woman. Almost all patients had low levels of RBC and HGB. I've identified the severity of anaemia according to HGB levels. Most patients had mild anaemia and the least patients severe one. I observed according to the average values of Hb for each age category. I observed that the value of Hb decreases with increasing age. The majority of patients had according to the value of MCV normocytic anaemia and according to the value of RDW heterogeneous population of erythrocytes more occurred more at the men. I compared my results with the studies and confirmed that it really is ACD.

Keywords

Anaemia; chronic disease; diagnosis; treatment; cell blood count; haemoglobin

Obsah

Úvod

1	Anémie	9
2	Dělení anémií	9
2.1	<i>Morfologické dělení</i>	9
2.2	<i>Etiopatogenetické dělení</i>	10
3	Anémie chronických onemocnění	11
3.1	<i>Diagnostika</i>	12
3.2	<i>Etiopatogeneze</i>	14
3.3	<i>Železo</i>	14
3.3.1	Metabolismus železa	14
3.3.2	Porucha metabolismu železa	15
3.4	<i>Terapie ACD</i>	15
4	Chronické onemocnění ledvin.....	20
5	Anémie u pacientů s chronickým onemocněním ledvin	21
5.1	<i>Příčiny způsobující anémii u pacientů s CKD</i>	21
5.2	<i>Erytropoéza</i>	22
5.3	<i>Dlouhodobé důsledky anémie u nemocných s CKD</i>	23
5.4	<i>Vyšetřovací postup</i>	23
5.5	<i>Terapie železem</i>	23
5.6	<i>Terapie ESA</i>	24
6	Cíl práce a hypotézy.....	25
6.1	<i>Cíl</i>	25
6.2	<i>Hypotézy</i>	25
7	Metodika výzkumu.....	26
7.1	<i>Charakteristika zkoumaného souboru</i>	26
7.2	<i>Materiál</i>	27
7.3	<i>Metody</i>	27
7.3.1	Stanovení krevního obrazu.....	28
7.3.2	Zhotovení nátěru periferní krve.....	29
7.3.3	Vyšetření retikulocytů	29
7.3.4	Biopsie kostní dřeně.....	30

7.3.5	Vyšetření metabolismu železa.....	30
7.4	<i>Vlastní měření</i>	32
7.5	<i>Analyzátor CELL-DYN Ruby</i>	33
8	Výsledky	34
9	Diskuze.....	42
10	Závěr	45
11	Seznam literatury	46
12	Seznam příloh a obrázků.....	50
13	Seznam zkratk	52

Úvod

Změny krevního obrazu u chronicky nemocných pacientů a jeho laboratorní zpracování je téma mé bakalářské práce. Toto téma jsem si zvolila z důvodu častého výskytu anémie chronických onemocnění v klinické praxi. Anémie chronických onemocnění (sekundární onemocnění) lze definovat také jako hypoproliferativní typ anémie způsobený zvýšenou produkcí cytokínů. Obvykle doprovází jiné onemocnění (primární onemocnění). Jedná se o druhý nejčastější typ anémie, který se objevuje zejména u lidí vyššího věku. Tato anémie bývá často zaměňována s anémií z nedostatku železa. Správná diagnóza je zde důležitá, neboť v léčbě obou anémií je zcela zásadní rozdíl, obzvláště v podávání preparátů železa. V této práci se zabývám krevními obrazy pacientů s diagnózou anémie s chronickým onemocněním ledvin, ve kterých zkoumám jednotlivé parametry (RBC, HGB, MCV, RDW) a zároveň posuzuji, jak tyto hodnoty ovlivňuje věk a pohlaví pacientů.

1 Anémie

Chudokrevnost neboli anémie je stav, kdy poklesne počet červených krvinek a množství hemoglobinu v krevním oběhu pod normální hranici stanovenou podle věku a pohlaví. Normální hladina hemoglobinu u žen je 120-168 g/l a u mužů 136-176 g/l. Pro anémii je více používán termín anemický syndrom – klinické vyjádření anémie, neboť může vznikat z celé škály nejrůznějších příčin. U pacientů s anémií zaznamenáváme sníženou hladinu hemoglobinu, snížený počet erytrocytů a nízký hematokrit. Některé pacienty s touto chorobou je možné poznat na první pohled podle bledé kůže, sliznice, tachykardie, zadýchávání při námaze. Mezi časté příčiny vzniku anémie patří zvýšené ztráty erytrocytů, zvýšený objem plazmy a snížená tvorba erytrocytů (Penka a Bulíková, 2009).

2 Dělení anémií

2.1 Morfologické dělení

Pacientům, kterým byla diagnostikována anémie, se stanoví krevní obraz s následujícími parametry: Hb – hodnota hemoglobinu, RBC – počet erytrocytů, HCT – hematokrit, MCV – střední objem erytrocytů. Penka a Tesařová (2011) tvrdí, že podle MCV se anémie dále rozdělují na:

- a) mikrocytární (MCV pod 80 fl, průměr erytrocytu pod 7 μm) – sférocytóza, nedostatek železa, talasemie, po chronickém krvácení
- b) normocytární (MCV 80-95 fl, průměr erytrocytu 7-8 μm) – po akutním krvácení, aplastická anémie, některé hemolytické anémie
- c) makrocytární (MCV nad 95 fl, průměr erytrocytu nad 8 μm) – nedostatek vitamínu B12 nebo kyseliny listové

MCH – množství hemoglobinu v 1 erytrocytu a MCHC – střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu, podle těchto dvou parametrů se anémie dělí na normochromní a hypochromní, RDW – šíře distribuce erytrocytů, anémie

s anizocytózou nebo s homogenní populací. Pomocí celé této škály parametrů můžeme snadněji využít dalších laboratorních vyšetření a zobrazovacích metod, vedoucích k odhalení příčin anémií. Nesmíme také zapomínat na mikroskopické vyšetření, tedy hodnocení erytrocytů, u nichž pozorujeme velikost, barvu, tvar a inkluze (Pecka, 2006).

2.2 Etiopatogenetické dělení

U tohoto dělení se dle Pecky (2010) anémie rozděluje zejména podle příčiny a způsobu vzniku, příčinu vzniku chudokrevnosti je nutné znát k zahájení cílené léčby pacienta. Dle této klasifikace se anémie rozděluje do několika hlavních skupin:

- Anémie způsobené poruchou krvevorbny
(sideropenické a sideroblastické anémie, aplastické anémie, perniciózní anémie, anémie z poruchy syntézy globinu, nedostatek B12)
- Anémie způsobené nadměrným rozpadem erytrocytů
(korpuskulární hemolytické anémie, paroxysmální noční hemoglobinurie)
- Anémie z nadměrné ztráty krve
(posthemoragické anémie)
- Anémie ze sdružených příčin
(anémie chronických onemocnění)

3 Anémie chronických onemocnění

Anémie chronických onemocnění – ACD (anaemia of chronic disease) bývá také označována jako anémie zánětů, neboť je doprovázena zánětlivým či nádorovým onemocněním (Adam a Vorlíček, 2007). ACD je druhou nejčastější anémií po anémii z nedostatku železa. S touto chorobou se setkáváme nejčastěji u hospitalizovaných pacientů a u pacientů s vyšším věkem tvoří ACD až třetinu anémií. Mezi příčiny vyvolávající ACD patří infekce (akutní a chronické), autoimunitní onemocnění, chronická onemocnění ledvin, malignity, infarkty myokardu, stáří, diabetes mellitus, velké operace (Indrák, 2014; Pospíšilová, 2007).

Jedna z hlavních příčin je nadprodukce cytokínů. Některé z cytokínů produkovaných ve větším množství u těchto onemocnění mohou negativně ovlivnit proliferaci a maturaci erytroidních progenitorů, snížením produkce erythropoetinu a mobilizace železa z buněk retikuloendotelového systému a jeho následné inkorporace do erytroblastů. V důsledku nedostatečné kompenzace hypoproliferativní erythropoézy je zkrácené i přežívání červených krvinek.

V klinické praxi je často zaměňována anémie z nedostatku železa s anémií chronických onemocnění. Anémie chronických onemocnění je dále často zaměňována i s jiným primárně hematologickým onemocněním, jako je myelodysplastický syndrom (MDS) typu refrakterní anémie (RA) nebo refrakterní anémie s prstenčitými sideroblasty. U závažných onemocnění zhoršují klinický průběh a kvalitu života, v neposlední řadě zkracují i přežití. Základním rysem ACD je shoda závažnosti změn krevního obrazu se závažností základního onemocnění (Penka a Tesařová, 2011). Léčba anémie chronických onemocnění spočívá ve zvládnutí základního onemocnění a v eliminaci dalších faktorů, které se mohou na anémii podílet. Důležitým poznatkem je aplikace rekombinačního erythropoetinu, který se stal součástí komplexní podpůrné léčby zejména u nemocných, u nichž je anémie chronických onemocnění způsobena aktivním nádorovým onemocněním (Gardner a Benz, 2009).

3.1 Diagnostika

Anémie je zprvu normochromní a normocytární, v postupném rozvoji při déletrvajících aktivních chorobě (zánětu, nádoru) se prohlubuje a rozvíjí v mikrocytární a hypochromní anémii (Penka a Tesařová, 2011). Při hodnocení metabolismu železa sledujeme hematologické ukazatele: hypochromázie erytrocytů, makrocytózu, RDW, obsah Hb v retikulocytech. Dále také sledujeme biochemické ukazatele: železo (Fe), transferin, feritin, saturace transferinu, solubilní transferinový receptor a index sTfR/feritin, tyto parametry se však rutinně nestanovují, stanovují je pouze specializovaná oddělení kliniky. Dále hodnotíme kostní dřeň, která bývá středně buněčná, pokud v ní není přítomen nádor, normoblasty zde mohou vytvářet lehčí plazmojadernou synchronii se zpožděním zrání cytoplazmy. Ke stanovení barvitelného železa použijeme Perlsovu reakci. Sérové železo je obvykle sníženo a stejně tak vazebná kapacita (CVK) pro něj, saturace bývá normální (1/3) nebo lehce zvýšená (nad 0,10) u sideropenické anémie.

Podle názorů Vydry a Cetkovského (2015) je hladina sérového feritinu odražejícího zásoby železa ve tkáních v normě nebo lehce zvýšená, u sideropenické anémie snižená. Weiss a Goodnough (2006) uvádí, že hodnoty solubilního transferinového receptoru a indexu sTfR jsou u ACD normální a poměr sTfR a logaritmu feritinu (sTfR/log feritinu) bývá snížený < 1 , u sideropenické anémie je hladina sTfR zvýšená a stejně tak i poměr sTfR/log feritinu bývá zvýšený > 2 (tab. 1). MCV u pacientů klesá pod 80 fl, avšak hladina retikulocytů je v normě nebo mírně nižší, v krevním obraze je tedy objem erytrocytů normální, zatímco u sideropenie nacházíme makrocytózu. Weiss a Goodnough (2007) tvrdí, že v kostní dřeni můžeme ještě vyzorovat zvýšený obsah hemosiderinu v makrofázích a celkově snížený počet sideroblastů. Hladina hepcidinu (hepatic bacteriocidal protein) bývá u ACD zvýšená, avšak rutinně se prozatím nestanovuje, u sideropenické anémie bývá snižená. Rovněž hladina cytokínů (TNF, IL-1, IL-6) je u ACD zvýšená, u sideropenické anémie je však normální (Lukáš a Žák, 2014).

Tab. 1: Diferenciální diagnostika anémie chronických chorob

vyšetřovaný parametr	ACD
Fe v séru	snížené
Fe v retikulocytech	snížené
transferin	snížený nebo normální
saturace transferinu	snížená
feritin	normální nebo zvýšený
sTfR	normální
hladina cytokinů	zvýšená
poměr sTfR/log transferinu	nízký

Zdroj: (Pospíšilová, 2007)

V diferenciální diagnostice je z obecného hlediska ACD a sideropenické anémie nezbytné odlišit ACD od ACD provázenou sideropenií (Indrák, 2006). Odlišení těchto jednotek je důležité pro stanovení léčby onemocnění, neboť u ACD se nepodávají preparáty Fe a naopak u ACD provázenou sideropenií je podávání preparátů Fe nutné. U ACD je hladina feritinu $> 100 \mu\text{g/l}$, $50-100 \mu\text{g/l}$ je nejspíše ukazatelem kombinace ACD a sideropenie, k upřesnění těchto parametrů je nezbytné provést další vyšetření (Indrák, 2010). Hladina feritinu $< 30-50 \mu\text{g/l}$ svědčí pro kombinaci ACD a sideropenie, hladina sTfR $< 2 \text{ mg/l}$ je ukazatelem ACD, hladina sTfR $2-5 \text{ mg/l}$ může svědčit o kombinaci ACD a sideropenie, hladina sTfR $> 5 \text{ mg/l}$ ukazuje na přítomnost ACD a sideropenie. Index sTfR/log feritinu > 2 a feritin $< 30 \mu\text{g/l}$ je ukazatelem absolutního deficitu železa, index sTfR/log feritinu < 2 a feritin v séru $\geq 30 \mu\text{g/l}$ je ukazatelem relativního deficitu železa a index sTfR/log feritinu < 1 a feritin v séru $\geq 30 \mu\text{g/l}$ ukazuje ACD bez deficitu železa (tab. 2).

Tab. 2: Diferenciální diagnostika anémie chronických chorob a sideropenické anémie

parametr	ACD	SA	kombinace
železo	↓	↓	↓
transferin	↓ - N	↑	↓
saturace transferinu	↓	↓	↓
feritin	N - ↑	↓	↓ - N
solubilní receptor pro transferin (sTfR)	N	↑	N - ↑
poměr sTfR/log feritin	nízký (<1)	vysoký (>2)	vysoký (>2)
prozánětlivé cytokiny	↑	N	↑

Zdroj: (Ščudla, 2009)

3.2 Etiopatogeneze

Na etiopatogenezi se podílí celá řada různých faktorů rozvíjejících se s působením cytokínů v procesech imunitní odpovědi (příloha 1), jedním z hlavních faktorů je zvýšená aktivita buněčné imunity vedoucí k nadbytku hepcidinu v krvi. Ščudla a Indrák (2006) tvrdí, že tíže anémie souvisí s velikostí aktivace imunitního systému, a proto také ACD můžeme označit za hypoproliferativní typ anémie. Cytokíny mají negativní vliv na maturaci a proliferaci erytroidních prekurzorů v důsledku nedostatečné produkce erythropoetinu, dále také nedostatečně uvolňují železo z makrofágů kostní dřeně, což znamená, že železo nemůže být využito pro tvorbu hemoglobinu, způsobuje zkrácené přežívání erytrocytů (Adam a Vorlíček, 2007).

3.3 Železo

Železo je významným prvkem v lidském organismu. Člověk má přibližně 3-4 g Fe na 70 000 g tělesné hmotnosti. Železo je součástí hemových i nehemových proteinů (Vokurka, 2011). *V lidském těle plní důležité funkce: transportuje kyslík s hemoglobinem, transportuje cytochromy, reguluje imunitní děje a podílí se na likvidaci patogenů, nicméně může být i toxický, a proto je jeho regulace důležitá a to lokálně i systémově* (Češka, 2015, s. 405).

3.3.1 Metabolismus železa

Železo se absorbuje jako Fe^{2+} aktivním transportem v duodenu a v horní části jejunu. Ve stravě je obsaženo průměrně 10-50 mg Fe za den, ale pouze 10-15% se vstřebává, askorbová kyselina absorpci železa zlepšuje. Po absorpci se část železa inkorporuje do zásobní formy feritinu v intestinálních buňkách. Po vazbě na transferin přestupuje část transportovaného železa do plazmy. Protein feroportin, který najdeme v membráně hepatocytů a makrofágů, hraje důležitou roli při transportu železa přes bazoteliární membránu enterocytů, neboť je to hlavní místo regulace homeostázy železa v organismu (Češka, 2011). Hlavním faktorem regulace je protein hepcidin (peptid tvořený 25 aminokyselinami) a zároveň je také proteinem akutní fáze, je produkován

v játrech (hepatocytech) a stimulován zánětem. Bývá také částečně zodpovědný za anémie chronických onemocnění. Buňky cílových tkání zachytávají plazmatické železo pomocí receptoru pro transferin. Plazmatické železo je dále zabudováno do hemu nebo uloženo do zásoby ve formě feritinu (Felix a Přivřel, 2013).

3.3.2 Porucha metabolismu železa

Vokurka (2011) si myslí, že je porucha metabolismu (MTB) Fe způsobena nedostupností Fe pro erytropoézu. Železo je zadržováno v makrofázích a v krvi je snížena koncentrace sérového Fe. Celkové množství Fe není sníženo, ačkoliv se později může rozvíjet i skutečný nedostatek v důsledku snížené resorpce Fe. Na změně se také podílí proteiny akutní fáze, které aktivují signální dráhy LPS (lipopolysacharid-endotoxin) a také dráhy interleukinu 6, který je systémovým regulátorem MTB Fe hepcidinu (příloha 2). Weiss, Gordeuk a Hershko (2005) si myslí, že tyto dráhy spouštějí nezávisle na hladině Fe syndrom excessu hepcidinu. Negativně reguluje absorpci Fe v tenkém střevě, kde blokuje expresi feroportinu. Feroportin je membránový exportér Fe, spolu s feritinem přispívá k zadržování Fe v makrofágo-monocytovém systému (MaMo). Hecpidin působí rychle, stejně tak i sérová koncentrace Fe po zánětové aktivaci klesne během několika hodin, kvůli rychlému obratu Fe v plazmě (Ščudla a Indrák, 2006). Hecpidin také snižuje resorpci Fe v duodenu a je schopen dlouhodobě řídit množství Fe v těle. Nedostatek hepcidinu způsobí nadměrné vstřebávání Fe a naopak jeho nadbytkem se Fe nedostatečně vstřebává a hromadí se v makrofázích (Gardner a Benz, 2009).

3.4 Terapie ACD

Základní léčbou u každé anémie je zvýšení hladiny hemoglobinu, tím se obvykle parametry krevního obrazu upraví do normálního stavu a zlepší se tak kvalita života pacienta (Vydra a Cetkovský, 2015). U mnoha nemocných není anémie jako taková dominantním klinickým problémem, a proto se domníváme, že léčby docílíme odstraněním základního onemocnění, eventuálně eliminací faktorů podílejících se na anémii, avšak pouze na základě domněnek se bohužel často stává, že stanovíme léčbu

chybně a zbytečně pacienta přetížíme železem (Indrák, 2006). Dosud ale nebyl zcela přesně popsán vliv léčby anémie na přetížení železem v MaMo systému, vliv na imunitu, na tvorbu hydroxylových radikálů a na vyvolávající chorobu.

Železo jako takové je růstovým faktorem pro mikroorganismy a jeho snížená hladina u ACD je obranným mechanismem organismu. Pokud není u ACD přítomen deficit železa je podávání jeho preparátů zcela zbytečné, dodané železo je přesunuto do zásob, kde je pro krvetvorbu nevyužitelné (Mircescu, Garneata a Capusa, 2006). Zbytečně nahromaděné železo tedy může podporovat aktivitu onemocnění a může také vést k orgánovému postižení svojí toxicitou, nádorovým buňkám může stimulovat růst nádoru, v systému redoxních reakcí může dojít ke stimulaci tvorby volných hydroxylových radikálů (Sakalová et al., 2010). Nicméně u autoimunitních chorob se může jevit jako inhibitor prozánětlivé imunitní efektorové dráhy a snižovat tak aktivitu choroby.

Dle závažnosti anémie a doprovázejících klinických příznaků je dle Indráka (2006) potřeba pečlivě zvažovat, zda ACD vyžaduje pouze léčbu základního onemocnění nebo i cílenou léčbu anémie, neboť u nemocných pacientů klinické příznaky vyplývají čistě ze základního onemocnění, samotná ACD je bez jakýchkoli konkrétních příznaků, a proto je velmi těžké rozhodnout, zda nemoc léčit, popřípadě čím a jakým způsobem ji léčit. V cílené léčbě anémie se nejčastěji podávají různé preparáty železa, dále se užívají krevní transfuze nebo erytropoézu stimulující proteiny (ESP), zkoušejí se i nové léčebné přístupy (Weiss, Gordeuk a Hershko, 2005). Pokud se rozhodneme nemocného pacienta léčit preparáty železa, měli bychom tuto volbu raději znovu zvážit, u dialyzovaných pacientů může být přetížení železem škodlivé a může být provázeno zvýšeným rizikem vzniku infekčních komplikací: při hladině feritinu pod 100 $\mu\text{g/l}$ je riziko infekčních komplikací > 20%, riziko septikemie je při hodnotě feritinu > 100 $\mu\text{g/l}$ 2,5 x vyšší, než při nižších hodnotách. Podle Indráka (2006) železo obecně nesubstitujeme u ACD s feritinem > 100 $\mu\text{g/l}$. U ACD je erythropoetin (EPO – hormon složený ze 165 aminokyselin s antiapoptotickým účinkem) produkován málo kvůli působení cytokinů či poškození ledvin, tudíž je i snížená citlivost erytroidních prekurzorů na erythropoetin, a proto můžeme konstatovat, že ACD je charakteristická relativním deficitem erythropoetinu (Weiss a Goodnough, 2005). Podání ESP stimuluje erytropoézu a sTfR, tlumí tvorbu hepcidinu.

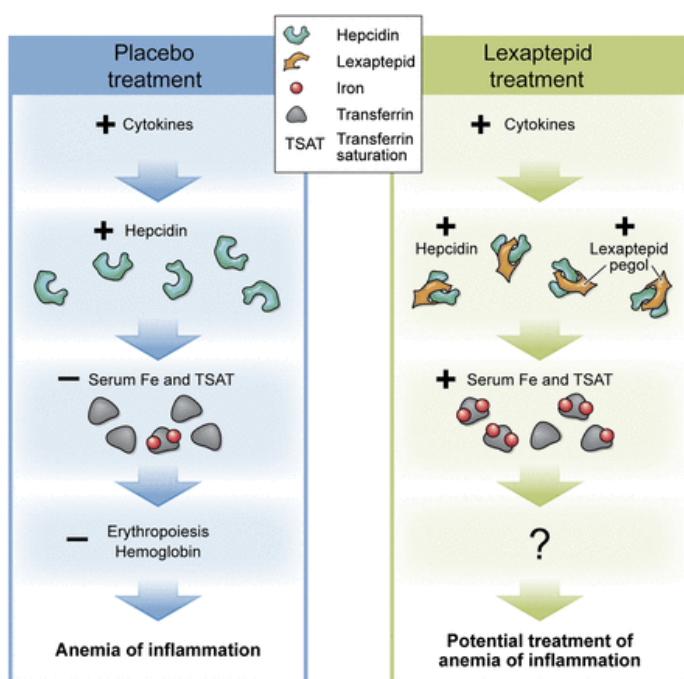
Výsledky léčby podáváním ESP závisí na chorobě vyvolávající ACD, na jejím stádiu, stupni imunitní aktivace a dostupnosti železa. U nádorů, infekcí a autoimunitních chorob vede podávání ESP ke zvýšení hladiny hemoglobinu, která snižuje potřebu transfuzí i se snížením jejích vedlejších nežádoucích účinků (přetížení železem). Je ale nutné podotknout, že biologická úloha erythropoetinového receptoru (EpoR) na nádorové buňky zatím nebyla objasněna a nejspíše by se zde mohlo podávání ESP projevit negativně (Indrák, 2006). Z tohoto důvodu se tedy léčebná doporučení podávání ESP u ACD omezují na jejich podávání u ACD při chronické renální insuficienci s cílovou hodnotou hemoglobinu 110-120 g/l (při vyšších hodnotách hemoglobinu stoupá riziko vzniku trombotických komplikací, na ACD u nádorů léčených chemoterapií (solidní tumor a limfoproliferace), kde je indikováno podávání ESP při hladině hemoglobinu < 90 g/l se stejnou cílovou hodnotou hemoglobinu 110-120 g/l (Indrák, 2006).

U ulcerosní kolitidy je indikace ESP efektivní u 60% nemocných, dále se ESP podává při revmatoidní artritidě, RA, u MDS a refrakterní anémie s excesem blastů – 1 (RAEB-1, počet blastů v kostní dřeni < 10%, efekt u 30 až 40% nemocných). U pacientů s MDS a s hladinou erythropoetinu v séru > 500 U/l podáváním ESP bohužel žádného efektu nedocílíme. Některé výzkumné práce dokonce uvádějí jako rozhodující pro neúspěch léčby hladiny erythropoetinu > 100-150 U/l.

ACD se sideropenií si žádá zvláštní léčebný přístup, neboť železo, které je nezbytné pro funkci bazálního metabolismu je zadržováno v MaMo systému a nemůže být ze zásob mobilizováno. Proto u ACD se sideropenií je nutné zvažovat současnou substituci preparáty železa a ESP. Touto kombinací dochází ke zvýšení hladiny erythropoetinu, který zvyšuje nároky na dodávku železa do kostní dřeni a stimuluje tvorbu sTfR, zatímco nabídka použitelného železa pro krvetvorbu je u ACD snižena v důsledku působení cytokínů způsobujících jeho retenci v MaMo systému. U ACD se sideropenií je kvůli špatnému vstřebávání železa podáváno železo v duodenu intravenózně.

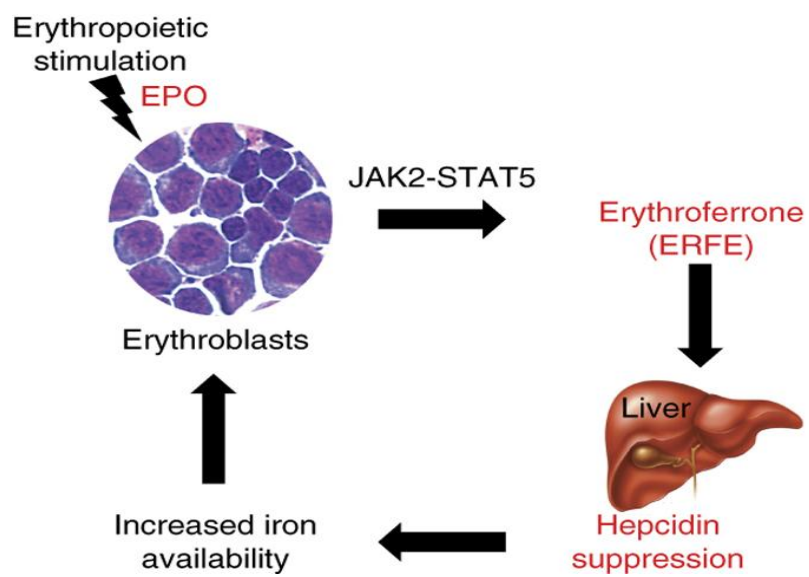
V nových léčebných přístupech jde hlavně o ovlivnění tvorby hepcidinu spolu s jeho účinky pomocí antagonistů tvorby hepcidinu: například inhibitor BMP (kostní morfogenní protein, který indukuje transkripci mRNA hepcidinu), syntetické anti-sense oligonukleotidy, protilátky proti receptoru pro IL-6, antagonisté účinku hepcidinu – neutralizující protilátky proti hepcidinu. Výdej železa z buňky i za přítomnosti

hepcidinu umožňují monoklonální protilátky proti feroportinu, které vazbu hepcidinu blokují. Například Lexaptepid (antihepcidin I-oligoribonukleotid), který svou vazbou na hepcidin blokuje jeho účinek na cílovou molekulu feroportin, a tím brání blokádě výdeje železa z buňky (obr. 1). Dalším testovaným preparátem je erytroferon (ERFE), protein regulující účinek erythropoetinu na tvorbu hepcidinu. Erytroferon zvyšuje sekreci erythropoetinu, a tím dochází ke stimulaci tvorby ERFE tlumivým efektem na tvorbu hepcidinu (obr. 2). Důsledkem je zvýšený výdej železa uvolňovaný do cirkulace pro potřebu vystupňované erytropoézy (Indrák, 2006).



Obr. 1: Lexaptepid (antihepcidin I-oligoribonukleotid).

Zdroj: (Steinbicker, 2014)



Obr. 2: Erythroferon (ERFE).

Zdroj: (Kautz et al., 2014)

4 Chronické onemocnění ledvin

Je závažný chorobný stav s medicínskými a sociálními důsledky včetně enormních nákladů pro zdravotní systém, pokud není včas rozpoznáno a léčeno. Nemocný obvykle nevykazuje žádné subjektivní potíže, a proto nemoc není včas diagnostikována.

Anémie je běžným nálezem u chronického onemocnění ledvin (chronic kidney disease CKD). Ženám s touto chorobou klesnou hodnoty hemoglobinu pod 115 g/l a mužům do 70 let pod 135 g/l, u mužů nad 70 let jsou tyto hodnoty sníženy až na 120 g/l. Aktuální světová klasifikace rozdělení poškození funkce ledvin do pěti stádií (tab. 3). V České Republice je přibližně čtvrtina anemických pacientů s mírnými formacemi CKD (Navrátil, 2008). V celosvětovém měřítku takto nemocných pacientů stále přibývá, neboť jedna z nejčastějších příčin vzniku této anémie je snížená funkce EPO, dále také může vznikat z nedostatku železa, infekcí a také zkráceným přežíváním erytrocytů (Jelkman, 2011).

Tab. 3: Stádia poškození funkce ledvin

Stadium	funkce ledvin	glomerulární filtrace
1	poškození ledvin s normální/zvýšenou funkcí ledvin	>1,5 ml/s/1,73 m ²
2	poškození ledvin s mírně sníženou funkcí ledvin	1,0 - 1,49 ml/s/1,73 m ²
3	středně snížená funkce ledvin	0,5 - 0,99 ml/s/1,73 m ²
4	závažné snížení funkce ledvin	0,25 - 0,49 ml/s/1,73 m ²
5	selhání ledvin (ERSD - end stage renal disease)	<0,25 ml/s/1,73 m ²

Zdroj: (Navrátil, 2008)

Dle aktuální v nefrologii akceptované klasifikace se chronické onemocnění ledvin označuje za takové onemocnění, které trvá nejméně tři měsíce a manifestuje se morfologickým či patologickým nálezem při zobrazovacích metodách (biopsie, sonografie, vyšetření močového sedimentu či proteinurie, anebo přetrvávajícím poklesem funkce ledvin (Tesař a Viklický, 2015).

5 Anémie u pacientů s chronickým onemocněním ledvin

Chronické onemocnění ledvin bývá často doprovázeno anémií, u posledního stádia CKD se vyskytuje až u tří čtvrtin nemocných (Patel a Singh, 2010). Anémie je i jedním z hlavních faktorů podílejících se na zvýšeném kardiovaskulárním a celkovém úmrtí nemocných pacientů. Snížená produkce erythropoetinu je hlavní příčinou anémie u CKD, ovšem na selhávajících ledvinách se mohou podílet další faktory jako je malnutrice, deficit železa s poruchou jeho utilizace a zánět. Dle Vechia, Cavalliho a Tuccia (2010) se v terapii klinické praxe doporučuje, aby u anemických pacientů s CKD byla koncentrace hemoglobinu vyšší než 110 g/l. Těchto hodnot lze docílit substitucí železa nebo podáním preparátů stimujících erytropoézu. Vyléčením anémie se sníží úmrtí a zároveň se zvýší kvalita těchto pacientů.

Anémie se zpravidla objevuje již u nemocných s mírnými stupni chronického renálního poškození. Stav, kdy hodnoty hemoglobinu klesnou pod 135 g/l u mužů do 70 let (muži nad 70 let – hodnota snížena až na 120 g/l) a u žen pod 115 g/l, můžeme tedy s jistotou označit jako anémii s chronickým onemocněním ledvin (Ganz a Benz, 2009). U renálního selhání, tedy u posledního stádia CKD je výskyt anémie až u 75% nemocných. Zpočátku je většina pacientů na anémii adaptována, anemický syndrom se projeví až při velmi nízkých hodnotách hemoglobinu. Hlavní příčinou této anémie je nedostatečná syntéza erythropoetinu peritubulárními fibroblasty kůry ledvin, jednou z příčin může být i nedostatek železa (Zarichanski a Houston, 2008).

5.1 Příčiny způsobující anémii u pacientů s CKD

Anémie bývá zpravidla normocytární a normochromní. U ne-diabetiků jsou hodnoty glomerulární filtrace (GF) < 0,5 ml/s, u diabetiků GF < 0,75 ml/s. Anémie s renálním postižením se vyskytuje častěji u diabetiků. Základní příčinou této choroby je již zmíněný nedostatek EPO a také snížená vnímavost prekursorových buněk na jeho působení (Nangaku a Eckardt, 2006). Další příčinou bývá nedostatek železa, a to z důvodu jeho absolutního deficitu při poruchách vstřebávání v duodenu nebo z důvodu poruchy jeho uvolňování z buněk pro potřeby erytropoézy. U pacientů s těžšími formacemi CKD byla prokázána kratší doba přežívání erytrocytů, v důsledku působení

uremických toxinů a v důsledku poruchy funkce endotelu. Kvůli odběrům, srážení krve během dialýzy jsou nemocní vystavováni i zvýšeným ztrátám krve. Sekundární hyperparathyreóza je hlavní komorbiditou ovlivňující anémii. Ve značné míře komplikuje CKD a zhoršuje citlivost kostní dřeně na erythropoetin, anémie je také ovlivňována přítomným zánětem (Locatelli, Cavic a Eckardt, 2009). Léčba inhibitory acetylcholinesterázy (ACE) nesteroidními antiflogistiky či imunosuprese u nemocných po transplantaci ledviny také přispívá k anémii.

5.2 Erytropoéza

Mikroprostředí kostní dřeně – vaskulární endotelový růstový faktor (VEGF) a interleukin 3 jsou faktory, které pozitivně ovlivňují erytropoézu. Faktory negativně ovlivňující erytropoézu jsou cytokíny (IL-6, TNF- α , TGF- β , INF- γ). Pokud v organismu poklesne tenze kyslíku v krvi, dojde k uvolnění některých faktorů, zejména HIF – hypoxia inducible factor 2, tyto faktory aktivují peritubulární fibroblasty ledvin k zvýšené produkci EPO a aktivace erytropoézy, tudíž za hlavní stimul erytropoézy můžeme považovat hypoxii (Fried, 2009). EPO je syntetizován převážně v játrech a po narození v peritubulárních buňkách kortexu ledvin. Vztah koncentrace EPO v séru a hladiny Hb (kde nízká koncentrace EPO souvisí s normální hladinou Hb a naopak vysoká koncentrace EPO s nízkou hladinou Hb) je u pacientů s CKD porušen a nemocní mívají nízké či normální koncentrace EPO v séru.

Další prekurzor pro tvorbu erytrocytů je železo, v organismu dochází k jeho recyklaci mezi jednotlivými buňkami a systémy (Lina et al., 2012). Regulátorem metabolismu Fe je hepcidin snižující resorpci Fe v enterocytech a současně snižuje uvolňování Fe z makrofágů. Na zvýšení hladiny hepcidinu v organismu se podílí zánět a naopak jeho hladinu snižuje erytropoéza (Domenico et al., 2007). Hepcidin je u pacientů s CKD zvýšený, negativně ovlivňuje využitelnost zásobního železa pro erytropoézu. V experimentálních pracích se prokázalo, že podávané ESA snižují expresi mRNA pro hepcidin a železo se stává pro stavbu erytrocytu dostupnější (Tesař, 2008).

5.3 Dlouhodobé důsledky anémie u nemocných s CKD

Dialyzovaní pacienti s Hb < 100 g/l mají daleko větší riziko mortality a hospitalizace než pacienti s Hb > 110 g/l. Mezi rizikové faktory patří kardiovaskulární choroby jako náhlá smrt a srdeční selhání, které jsou nejčastější příčinou úmrtí nemocných s CKD, největší mortalitu na kardiovaskulární choroby mají pacienti ve 3. Stádiu (Ryšavá, 2011).

5.4 Vyšetřovací postup

Při vyšetřovacím postupu nejprve vylučujeme případné příčiny vedoucí ke ztrátě Hb (vyloučení krevních ztrát, deficitu Fe, kyseliny listové a vitamínu B12), abychom mohli přisoudit anémii přítomné CKD. Je potřeba se zaměřit na možný vliv některých léků nebo na možnou přítomnost nějaké malignity (Pospíšilová, 2007). Při každém vyšetřování anémie nejprve stanovujeme koncentraci Hb a až poté hematokrit, neboť se tento parametr může měnit v závislosti na stavu hydratace nemocného (příloha 3).

5.5 Terapie železem

Při aplikaci ESA (erythropoetin stimulující léčiva) je nutné zajistit vhodné zásoby železa, hodnota feritinu by měla být > 100 µg/l a další doporučené koncentrace parametrů Fe (Druke, Locatelli a Glyne, 2006). Pokud je množství hypochromních erytrocytů > 10%, pak je nutné doplnit zásoby Fe podáním 1000 mg Fe během 6-10 týdnů. V iniciační fázi léčby ESA je nutné kontrolovat hladiny Fe v rozmezí 4-6 týdnů. Dále je také třeba kontrolovat hladinu Fe při změnách dávek ESA za stabilizovaného stavu po 3 měsících (Mircescu, Garneata a Capusa, 2006). Při spotřebě 150 mg Fe se zvýší hodnota Hb o 10 g. Pacientům v predialýze se podává Fe per os, pokud však dojde ke špatné resorpci Fe z duodena, musí se podat Fe pacientovi intravenózně. (Macdougall a Ashenden, 2009).

5.6 *Terapie ESA*

Dnes se využívá v hojné míře jak u dialyzovaných tak i nedialyzovaných pacientů. Při léčbě ESA se využívají 4 preparáty obsahující epoetin alfa, emetin beta, darbepoetin alfa a metoxy-polyetylenglykol-epoetin beta (pegepoetin, CERA). CERA (Continuous Erythropoetin Receptor Activator) je skupina léků označovaná také jako 3. generace ESA (Chronické onemocnění ledvin a léčba anémie u CKD, 2015). Úprava EPO zprostředkovává dlouhá biologický poločas a imunogenicitu léku pomocí pegylace. Metoxypolyetylenglykolový řetězec je začleněn do molekuly EPO. CERA struktura se s menší afinitou váže na EPOR, poté dojde k aktivaci a stimulaci erytropoézy, nedochází však k internalizaci CERA. EPOR tak může být na povrchu buňky opětovně aktivován. Běžné EPO jsou degradovány prostřednictvím intracelulárních lysozomů v kostní dřeni po navázání na EPOR a jeho internalizaci. Pokud nedojde k internalizaci, protein není dostatečně degradován, a to přispívá k dlouhému biologickému poločasu CERA a s rychlejší disociací z vazby na EPOR může docházet k aktivaci dalších receptorů. Tudíž CERA přípravky mohou být podávány v delším časovém intervalu než běžné ESA.

Léčba anémie u pacientů s CKD by měla být zahájena prostřednictvím ESA při poklesu Hb < 110 g/l (Ryšavá, 2011). ESA se mohou podávat i při vyšších hladinách Hb, ale pouze za situace, kdy nemocný vykazuje symptomatické projevy anémie (dušnost, angina pectoris). Asi 20% hemodialyzovaných a 40% peritoneální dialyzovaných nemocných nevyžaduje aplikaci ESA (za předpokladu dobré výživy, přiměřených zásob Fe a dostatečné adekvátnosti dialýzy).

Z těchto pozorování můžeme tedy usoudit, že přípravky ESA mají v léčbě příznivé účinky, vedou ke zlepšení laboratorních hodnot krevního obrazu, zlepšují se kognitivní a sexuální funkce, zvyšuje se výkonnost a svalová síla. Vypořezována byla také úprava imunologických a endokrinních funkcí. U nedialyzovaných pacientů pozitivně ovlivňuje rychlost progresu CKD a zpomaluje vývoj do posledního stádia selhání ledvin. Avšak na druhou stranu, se při léčbě ESA mohou vyskytovat komplikace, například příliš rychlá úprava krevního obrazu, při němž hladina Hb vystoupá nad 130 g/l není žádoucí, bývá také doprovázen vzestupem krevního tlaku a může vést i k trombotickým příhodám (Pospíšilová, 2007).

6 Cíl práce a hypotézy

6.1 Cíl

V praktické části je cílem mé práce vyšetřit krevní obraz 30 pacientům s diagnózou anémie chronických onemocnění. Zjistit změny těchto krevních obrazů a jednotlivé naměřené hodnoty porovnat se studii.

6.2 Hypotézy

- Hypotéza 1
Anizocytóza se objevuje téměř u všech diagnóz anémie s CKD.
- Hypotéza 2
Anémie u CKD je zpravidla normocytární.
- Hypotéza 3
Toto onemocnění více postihuje ženy.
- Hypotéza 4
Ohroženi jsou nejvíce pacienti nad 70 let.

7 Metodika výzkumu

Pro vypracování teoretické části jsem použila program Microsoft Office Word 2007. Obsahová část se skládá z různých publikací, odborné literatury, internetových serverů a databází. Pro vypracování praktické části jsem použila krevní obrazy pacientů ve formě histogramů, které jsem získala v laboratoři STAFILA, spol. s. r. o. České Budějovice. Hodnotila jsem tedy pouze fakta, která mi byla poskytnuta zdravotními laboranty z histogramů. Výsledky jsem zpracovala a vyhodnotila pomocí programu Microsoft Office Excel 2007.

7.1 Charakteristika zkoumaného souboru

Můj soubor zahrnoval krevní obrazy 30 pacientů ve věku 21-90 let od června roku 2016 do dubna roku 2017, které jsem naměřila pomocí hematologického analyzátoru CELL-DYN Ruby v laboratoři STAFILA, spol. s. r. o. České Budějovice. Krevní obrazy pacientů jsem si vytiskla ve formě histogramů. Cíleně jsem si vybrala pacienty s diagnózou anémie s chronickým onemocněním ledvin.

Z histogramů pacientů jsem se zaměřila na následující parametry:

- RBC
- HGB
- MCV
- RDW

Další údaje: pohlaví, věk, diagnóza

7.2 *Materiál*

Vše se zpočátku odehrává na příjmu, kam pracovníci svozu z různých měst sváží materiál ve speciálních transportních lednicích o teplotě 2-8 °C. V létě je tento box vybaven ledovými pytlíky s podložením, aby vzorky nebyly vystaveny příliš velkému chladu a nedošlo tak ke shlukování krvinek. Daná teplota musí být striktně dodržována, neboť by mohlo dojít k poškození vzorku. Svoz proběhne několikrát za den a pokaždé je vystaveno kontrole, která se eviduje. Veškerý materiál je odebrán z transportní lednice a posléze přiřazen k žádankám. Údaje na materiálu: jméno, příjmení a rodné číslo pojištěnce musí být v souladu se žádankou. Po kontrole, zadají kvalifikované osoby roztríděné žádanky s údaji do počítačového programu infolab. Dále kvalifikované osoby laboratoře vytisknou čárový kód, který nalepí na žádanku a na příslušnou zkumavku. Požadovaná vyšetření s daty se dále prostřednictvím infolabu přenášejí na jednotlivá oddělení, kde se načtou již pod přiděleným čárovým kódem a následně se zpracují. Zaměstnankyně na příjmu musí být pečlivé a zodpovědné při příjmu materiálu, neboť záměnou údajů žádanek a vzorků by mohlo vést k fatálním následkům a pacienta tak ohrozit na životě.

7.3 *Metody*

Při hodnocení anémie chronického onemocnění se provádí následující testy:

- Krevní obraz
- Nátěr z periferní krve
- Počet retikulocytů
- Dodatečná biopsie kostní dřeně

K eliminaci dalších příčin anémie patří následující:

- „železný panel“ – železo v séru, sérový feritin, transferin, celková vazebná kapacita pro železo, transferinový receptor, saturace transferinu

7.3.1 Stanovení krevního obrazu

Stanovení krevního obrazu je základní vyšetření, které se využívá k diagnostice. Výsledkem je hemogram, na kterém můžeme pozorovat jednotlivé druhy a počty krvinek a jejich parametrů v periferní krvi. Pro vyšetření krevního obrazu se v laboratoři STAFILA, spol. s r. o. České Budějovice využívá automatizovaný hematologický analyzátor CELL-DYN Ruby. Pro toto vyšetření se používá plná krev, která se odebírá do zkumavky K3EDTA.

V současnosti jsou parametry krevního obrazu prováděny automaticky hematologickými analyzátory. Poskytují až 32 parametrů krevního obrazu spolu s diferenciálním rozpočtem leukocytů, histogramů erytrocytů, leukocytů a trombocytů. Jednotlivé fyziologické laboratorní hodnoty se u každé osoby mění během života. Každá laboratoř má své referenční meze pro jednotlivé věkové kategorie. Referenční meze se mohou fyziologicky změnit kdykoliv během dne, tudíž nejsou závislé jen na věku pacienta. Avšak mohou být závislé na jiných faktorech: těhotenství, léčba, jídlo, fyzická zátěž, přístrojovém a metodickém vybavením laboratoří. Každá laboratoř by měla poskytnout správné způsoby odběru a hodnoty referenčních mezí.

Vyšetření krevního obrazu zahrnuje následující stanovení:

- RBC – erytrocyty, parametry erytrocytů, objem MCV, obsah hemoglobinu v buňce MCH, jeho koncentrace v buňce MCHC, distribuční šíře objemu erytrocytů RDW, obsah hemoglobinu na objem krve hemoglobinu a hematokrit HCT
- PLT – trombocyty – objem krevních destiček MPV

Doplňujícím vyšetřením krevního obrazu je diferenciální rozpočet bílých krvinek (leukocyty – WBC), který stanovuje zastoupení jednotlivých podtypů bílých krvinek, ke kterým patří:

- Lymfocyty, monocyty, neutrofilní, bazofilní a eozinofilní granulocyty

Periferní žilní krev, tzv. plná krev se odebírá do zkumavek K3EDTA (kyselina ethylendiamintetraoctová, která vyvazuje vápník a krev se stává nesrážlivou). Krevní obraz se vyhodnocuje automatickým hematologickým analyzátozem. Počty a relativní zastoupení jednotlivých buněčných řad jsou analyzovány za pomoci průtokové cytometrie. Průtoková cytometrie určí množství buněk jednotlivých buněčných typů v jednotce objemu a také objemy daného typu. V případě vyskytujících se buněk, tzv. abnormálních buněk je nutné provést ruční diferenciaci (krevní nátěr), kde se mikroskopický preparát prohlíží pod mikroskopem.

7.3.2 Zhotovení nátěru periferní krve

Jedna kapka krve se kápne jeden cm od kratšího okraje podložního sklíčka, dále se palcem a ukazovákem uchopí zabroušené sklíčko a přiloží k okraji podložního sklíčka pod úhlem 30-40° před kapku krve. Nátěr se zhotoví rovnoměrným a lehkým pohybem směrem k opačnému konci podložního sklíčka. Na počátečním okraji nátěru se napíše číslo nebo jméno pacienta. Nátěr se suší na ploše pracovního stolu nebo ve stojanu 2 hodiny a přikryje se filtračním papírem. Suchý nátěr se fixuje pomocí metanolu po dobu 3-5 minut. K obarvení krevních nátěrů se používá Pappenheimova metoda panoptického barvení. Nátěr se položí na barvicí stůl a nakape se na něj roztok May-Grünvald. Tři minuty se nechá roztok působit a poté se nakape 5 ml destilované vody. Počká se jedna minuta, po minutě se tekutina slije a nátěr se nechá zaschnout. Po uschnutí se nakape zředěný roztok Giemsa-Romanowski (destilovaná voda v poměru 1:10) a nechá se působit 15-20 minut. Roztok se slije a nátěr se opláchne mírným proudem tekoucí vody. Na závěr se obarvený nátěr uloží do stojanu a nechá uschnout. Na nabarvený preparát se kápne imerzní olej (v oblasti tenkého nátěru) a dá pod mikroskop k prohlížení.

7.3.3 Vyšetření retikulocytů

Retikulocyty jsou součástí vyšetření krevního obrazu. Vzorek krve se odebírá z pažní žíly (plná krev) do zkumavky EDTA, která obsahuje antikoagulační činidlo. Retikulocyty se mohou stanovit pomocí hematologického analyzátoru, kde přístroj oddělí populaci retikulocytů od jiných elementů obsahujících RNA. Pro označení retikulocytů se používá monoklonální protilátka nebo se obarví fluorochromy. Po průchodu buňkou se detekuje intenzita prošlého a odraženého světla. Přítomné

precipitáty síťových struktur RNA v retikulocytech jsou obarveny brilant kresylovou modří. V případě neměřitelných hodnot retikulocytů v analyzátoru, lze jejich počet stanovit mikroskopicky pomocí supravitálního barvení, tj. barvení živých buněk. Pro zviditelnění se plná krev inkubuje s brilant kresylovou modří.

7.3.4 Biopsie kostní dřeně a Perlsova reakce

Zárok, při kterém se z kostní dřeně odebírá vzorek pro cytologické, histologické a mikrobiologické vyšetření při podezření na krevní onkologické onemocnění. Při vyšetření si pacient lehne na břicho a místo vpichu se znecitliví lokálním anestetikem. Vzorek se odebírá z lopaty kosti kyčelní pomocí aspirační jehly, která se zavede přes kůži a tkáň do kostní dutiny obsahující kostní dřeň.

V případě ACD se pro zhodnocení kostní dřeně používá Perlsova reakce, která slouží k průkazu hemosiderinu, který je uložen jako zásobní forma železa v siderofázích. Odebraný řez se ponoří do barvicího roztoku (směs 2% kyseliny chlorovodíkové, ferokyanidu draselného a destilované vody) na 30 minut při teplotě 60 °C. Poté se řez vyjme a dobarví se jádrovou červení nebo hematoxylinem. Železité a železnaté ionty v hemosiderinu reagují se žlutou krevní solí obsaženou v erytrocytech a tím vzniká modrá sraženina (Berlínská modř). Tato metoda zviditelní sideroblasty (modré), jejichž počet bývá u ACD nízký. Zviditelní také obsah zásobního železa v makrofázích, který bývá u ACD normální nebo zvýšený.

7.3.5 Vyšetření metabolismu železa

Princip stanovení železa v séru – pomocí kyselin nebo tenzidů se trojmocné Fe uvolní z vazby na transferin, dále použijeme redukující látku (kyselina askorbová) k redukci trojmocného Fe na dvojmocné. Tato reakce je nezbytná pro reakci s komplexotvorným činidlem. Při reakci dvojmocného Fe s komplexotvorným činidlem obsahujícím reaktivní skupiny vznikne barevný komplex. Jako komplexotvorné látky se používají bathofenentrolin a ferrozín. Železo v séru se stanovuje společně s vazebnou kapacitou pro něj, abychom věděli, jaké množství Fe je přenášeno krví a abychom mohli u anémií určit, zda je anémie způsobena nedostatkem železa nebo jiným chronickým onemocněním. Referenční hodnoty pro ženy jsou: 7-28 $\mu\text{mol/l}$ a pro muže: 9-29 $\mu\text{mol/l}$.

Stanovení sérového transferinu – sérový transferin se stanovuje přímo pomocí imunochemických metod nebo nepřímo jako schopnost transferinu vázat Fe (vazebná kapacita pro Fe). V tomto stanovení se vypočte celková vazebná kapacita pro Fe (TIBC) v $[\mu\text{mol/l}] = \text{transferin [g/l]} \times 25,2$, kde referenční meze jsou pro koncentraci transferinu v séru (S-transferin) 2,0-3,6 g/l a pro celkovou vazebnou kapacitu 50-70 $\mu\text{mol/l}$. Dále můžeme z hodnot koncentrace Fe a transferinu vypočítat saturaci transferinu (TfS).

$$\text{Saturace transferinu [\%]} = \frac{\text{S-železo } [\mu\text{mol/l}]}{\text{S-transferin [g/l]}} \times 100$$

Fyziologické hodnoty: 25-50%, zvýšení saturace při nadbytku Fe: > 50%, snížení saturace při nedostatku Fe: < 15%. Toto vyšetření provádíme, abychom zjistili, zda má pacient správné množství Fe v těle a také ho používáme při monitorování léčby anémie. Stanovení feritinu a hemosiderinu – feritin se stanovuje pomocí imunochemických metod (chemiluminiscence). Reakce 1 epitopu feritinu s myší protilátkou navázanou na polystyrénové kuličky a druhého epitopu s polyklonální protilátkou konjugovanou s alkalickou fosfatázou. Po promytí se přidá fosforečný ester adamantyl dioxetanu, meziproduct se rozpadá za produkce luminiscence. Referenční rozmezí pro koncentraci sérového feritinu (S-feritin) je pro ženy 20-120 $\mu\text{g/l}$ a pro muže 30-300 $\mu\text{g/l}$. Toto vyšetření provádíme, abychom zjistili zásoby železa v organismu.

Stanovení solubilního transferinového receptoru – ke stanovení solubilního transferinového receptoru se využívají imunochemické metody jako turbidimetrie: reakce lidského rozpustného transferinového receptoru s latexovými, potaženými s protilátkou proti rozpustnému transferinovému receptoru, vzniklý precipitát se poté měří turbidimetricky. Referenční interval je 2-5 mg/l. Toto stanovení se uplatňuje v diferenciální diagnostice, kde se rozlišují anémie z nedostatku Fe a anémie chronických onemocnění (Masopust a Průša, 2004).

Tab. 4: Hlavní vyšetřované parametry u metabolismu železa

absolutní nebo funkční deficit železa	optimální hodnoty
feritin - pod 100 mg/l	feritin - 300-500 mg/l
saturace transferinu - pod 20%	saturace transferinu - nad 50% (30-40%)
hypochromní erytrocyty - více než 10%	hypochromní erytrocyty - méně než 2,5%

Zdroj: (Luck a Mason, 2012)

7.4 Vlastní měření

Připravené vzorky polepené čárovými kódy jsem si postupně nanosila ve stojánku k měření, které probíhalo vždy pod dozorem zkušených laborantek. Testované zkumavky K3EDTA jsem na chvíli položila na třepačku, aby se správně krev promíchala, po řádném promíchání jsem zkumavky naskládala do stojánku, vložila do analyzátoru a celý systém jsem spustila pomocí tlačítka start loader. Zpracování krve probíhalo ve vnitřním módu, kde je nastaven podavač, který nejméně desetkrát promíchá krev v jednotlivých zkumavkách, dále došlo k propíchnutí víčka ostrou jehlou a nasátí stanoveného množství krve. Po zpracování krve se naměřené hodnoty přenesly do datového modulu v počítači k další analýze. Naměřené hodnoty se nám na monitoru počítače zobrazily ve formě histogramů. Dále se tyto hodnoty přenesly do laboratorního informačního systému (LIS), kde jsou automaticky přiřazovány k pacientům.

Všechna naměřená data jsem posléze kontrolovala v počítači, postupně jsem si prohlížela jednotlivé parametry. Parametry označené světlou barvou, tedy jevící se jako patologické (nízké hodnoty RBC, HGB a vyšší hodnoty MCV a RDW) jsem dále kontrolovala v archivu, zdali se nejedná o anémii s chronickým onemocněním ledvin. V případě potvrzení mé domněnky, jsem si tato patologická data vytiskla ve formě histogramů. Zpracované zkumavky s krví jsem naskládala do stojánku a uložila do počítače, ještě zhruba týden se uchovávají v lednici v případě potřeby dohledání informací.

Výsledky se odesílají do laboratorního informačního systému poté, co je pečlivě překontroluje laborantka, která má odpolední směnu. V závěru laboratorního dne středoškolská – atestovaná laborantka provede kontrolu a po ní následuje finální lékařská kontrola. Lékaři výsledky zaevidují jako konečné a posílají je zpět na příjem laboratoře, dále tyto výsledky elektronicky odesílají ostatním lékařům do ordinací. Odborní pracovníci na příjmu tyto výsledky vytisknou a zařadí do desek určených lékařům. Druhý den pracovníci svozu odváží desky s výsledky lékařům a zároveň si od nich vezmou nové vzorky s krví.

7.5 Analyzátor CELL-DYN Ruby

CELL-DYN Ruby je multiparametrický, automatický, hematologický analyzátor určený k diagnostice in vitro v klinických laboratořích. Skládá se ze tří hlavních modulů: analyzátoru a datového modulu (počítače) společně, plochého monitoru samostatně. Analyzátor obsahuje hardware pro nasávání, podávání, promíchávání, ředění a analýzu jednotlivých vzorků. Datový modul obsahuje součásti pro analýzu, uchovávání a vydávání výsledků vyšetření vzorků. Plochý monitor je vybaven dotekovou obrazovkou pro lepší uživatelské rozhraní (obr. 3). Přístroj funguje na principu laserové průtokové cytometrie a moderním softwaru, dále využívá technologii MAPSS (Multi-Angle Polarized Scatter Separation – separace polarizovaného rozptýleného světla pod různými úhly). Dále také využívá operační systém Microsoft Windows, USB připojení k datovému modulu, které poskytuje rozhraní pro různé typy tiskáren, a standardní ruční čtečku čárových kódů pro rychlou identifikaci vzorků od pacientů (ABBOTT Diagnostics Division, 2009).



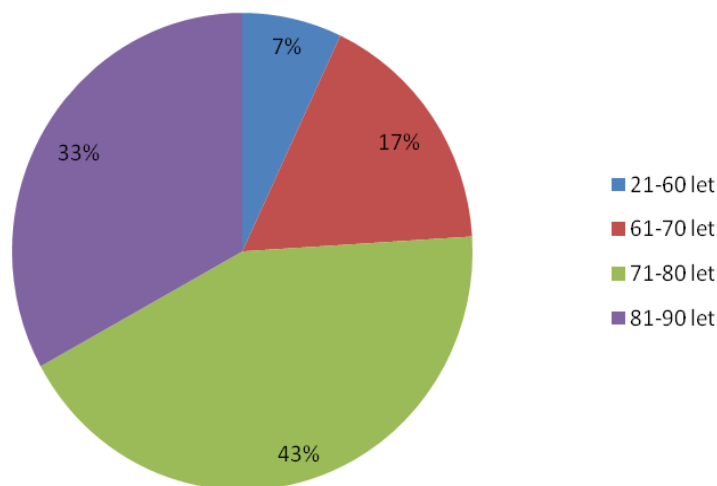
Obr. 3: Hematologický analyzátor CELL-DYN Ruby

8 Výsledky

V rámci období od roku 2016 do letošního roku 2017 se mi podařilo vyšetřit krevní obraz 30 pacientům. Můj vyšetřovaný soubor pacientů tvořilo 15 mužů a 15 žen. Těchto 30 pacientů jsem si zvolila úmyslně na základě potvrzené diagnózy N 118, čili anémie doprovázející jiné onemocnění. V mém případě anémie doprovázející chronické onemocnění ledvin.

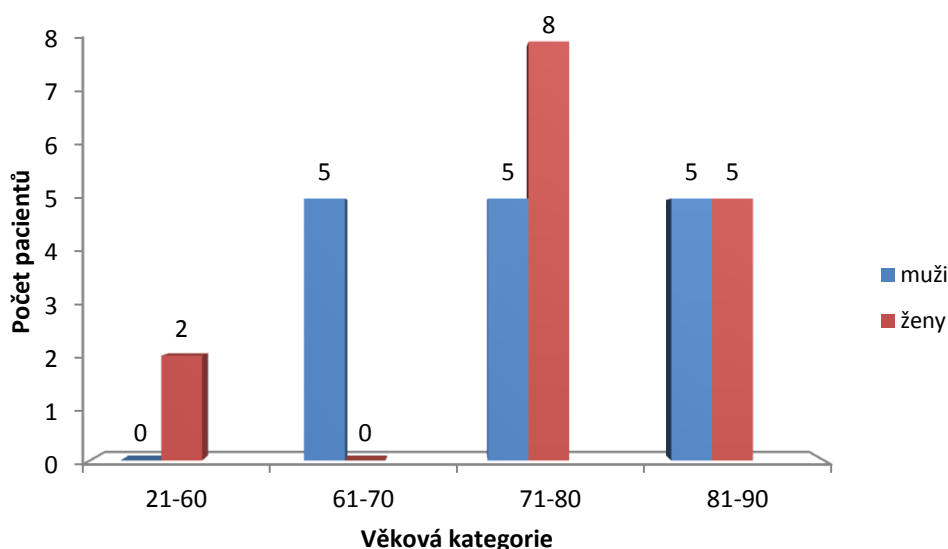
Nejprve jsem pacienty rozdělila dle jejich stáří do 4 věkových kategorií (obr. 4). První věková kategorie (21-60 let) zahrnovala pouze 2 pacienty (7%). Ve druhé skupině věkového složení (61-70 let) se nacházelo 5 pacientů (17%). Třetí věková kategorie (71-80 let) zahrnovala 13 pacientů (43%) a čtvrtá věková kategorie (81-90 let) 10 pacientů (33%). První věkový interval má delší rozmezí, poněvadž tato věková kategorie zahrnovala pouze 2 pacienty.

Z grafu vyplývá, že nejvíce pacientů spadá do věkové kategorie 71-80 let a nejméně do věkové kategorie 21-60 let.



Obr. 4: Procentuální zastoupení pacientů ve věkových kategoriích

Dále jsem celý soubor pacientů ještě rozdělila dle věkových kategorií na muže a ženy (obr. 5). V první věkové kategorii, ve které bylo nejméně pacientů, se nacházely 2 ženy a žádní muži. Naopak ve druhé věkové kategorii se nacházelo 5 mužů a žádné ženy. Ve třetí věkové kategorii bylo více žen (8) a pouze (5) mužů. V poslední věkové kategorii bylo rovnovážné zastoupení obou dvou pohlaví, 5 mužů a 5 žen.

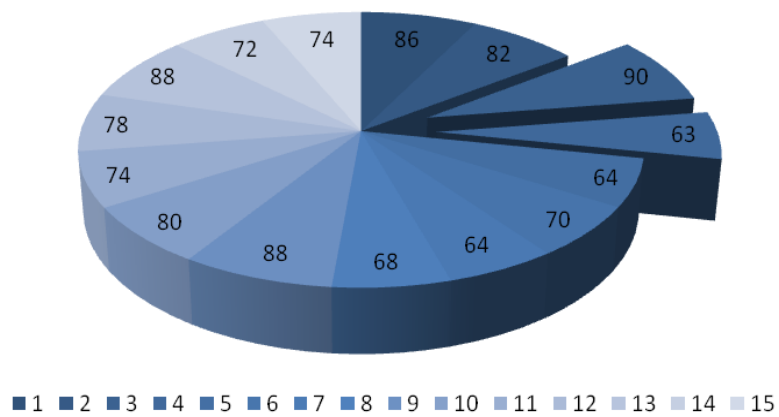


Obr. 5: Zastoupení mužů a žen dle věkové kategorie

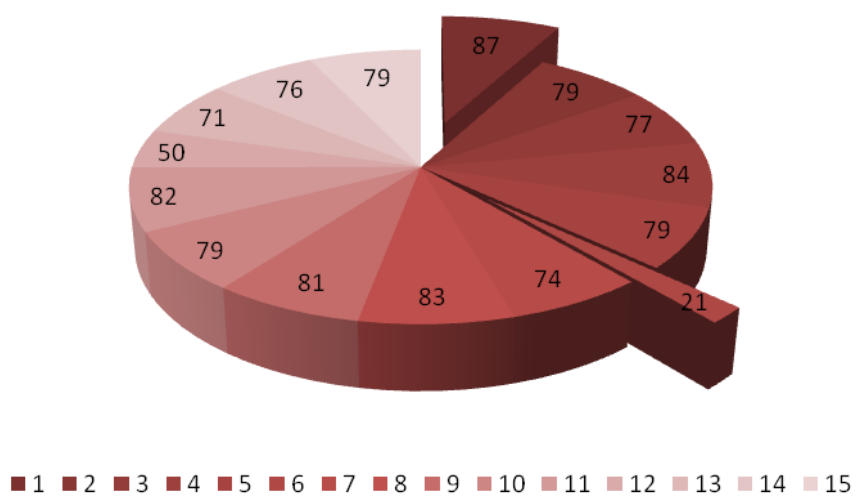
Pro srovnání nejmladších a nejstarších pacientů mužského i ženského pohlaví jsem sestavila tabulku, která znázorňuje stáří mužů a žen a na základě těchto hodnot jsem spočítala průměrný věk mužů 76 let a průměrný věk žen 73 let (tab. 5). Dále jsem vytyčila věk nejmladšího a nejstaršího muže (obr. 6) a věk nejmladší a nejstarší ženy (obr. 7).

Tab. 5: Stáří 15 žen a 15 mužů

	věk														
pacient č.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
muži	86	82	90	63	64	70	64	68	88	80	74	78	88	72	74
ženy	87	79	77	84	79	21	74	83	81	79	82	50	71	76	79

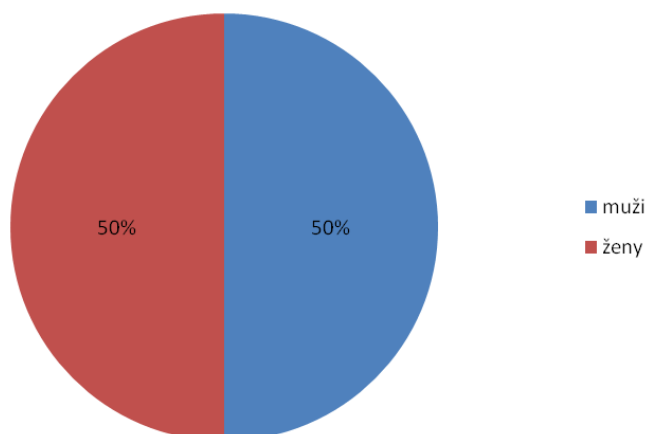


Obr. 6: Stáří nejmladšího a nejstaršího muže



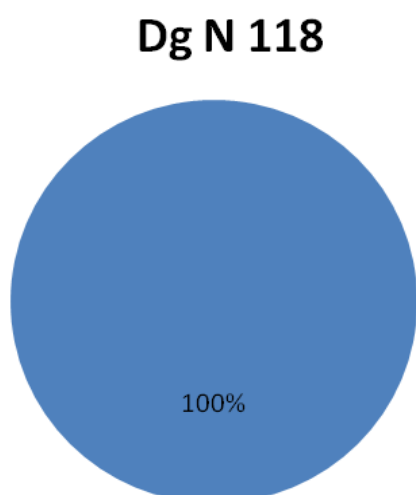
Obr. 7: Stáří nejmladší a nejstarší ženy

Vyšetřovaný soubor pacientů jsem dále rozdělila podle pohlaví. Soubor se skládal z 15 žen a 15 mužů. V mém výzkumu se tedy nacházelo rovnoměrné zastoupení obou dvou pohlaví (obr. 8).



Obr. 8: Procentuální zastoupení mužů a žen

Všichni pacienti, kterým jsem vyšetřila krevní obraz, měli diagnózu stejnou, neboť se jednalo o pacienty s anémií chronických onemocnění, které jsem si také pro tuto práci vybrala (obr. 9). Tito pacienti měli diagnózu N 118 (anémie s chronickým onemocněním ledvin).



Obr. 9: Procentuální zastoupení diagnózy N 118

Na základě naměřených hodnot jsem z parametrů červené řady krevního obrazu pacientů vytyčila hlavně tyto: RBC, HGB, MCV, RDW, poněvadž všechny tyto parametry bývají spojené s anémií. U všech 30 pacientů jsem získala naměřené hodnoty těchto parametrů pomocí hematologického analyzátoru CELL-DYN Ruby, tento analyzátor má podle výrobní praxe nastavené své fyziologické rozmezí hodnot.

Jeden z nejčastějších parametrů, který bývá při snížené koncentraci spojován s anémií je RBC. Fyziologické množství erytrocytů se u mužů a žen liší, ženy mají o trochu nižší počty erytrocytů, tento fakt bere v úvahu i analyzátor CELL-DYN Ruby, který je schopen po zpracování krve rozpoznat podle počtu erytrocytů pohlaví pacientů.

Fyziologické rozmezí RBC je u tohoto analyzátoru **4,06-4,69 10¹²/l**. Z tohoto hlediska jsem mohla sestavit tabulku s hodnotami RBC u mužů a žen (tab. 6), kde je na první pohled jasné, že většina mužů i žen měli hodnoty RBC nízké (zvýrazněno černě). Pouze 3 ženy a 4 muži měli hodnoty v normě. Jeden muž měl dokonce z příčiny mě nejasné hodnotu vyšší, než je horní fyziologická mez (zvýrazněno červeně).

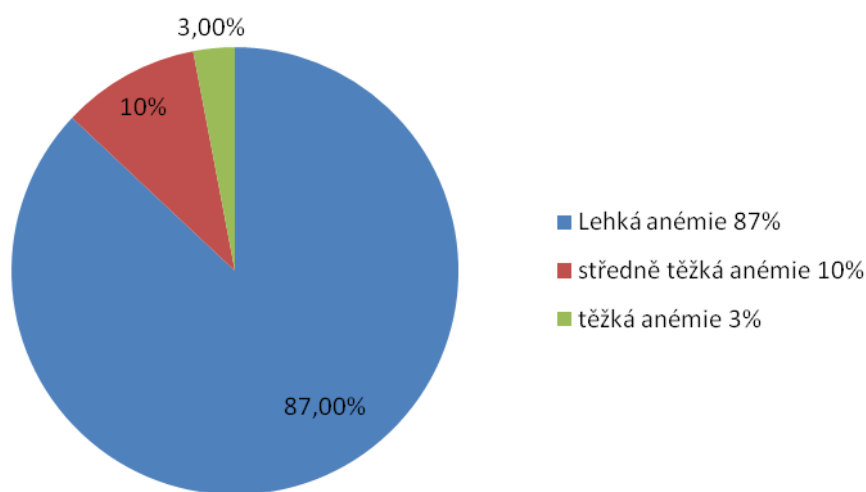
Tab. 6: Hodnoty RBC u mužů a žen

	RBC (10e12/l)														
pacient č.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
muži	4	4,1	3,9	3,7	4,1	4,3	5,6	3,3	3,8	3,9	2,9	4,3	4,1	2,5	3,4
ženy	2,3	4	3,5	3,9	4,1	4,3	3,5	3,8	4,4	3,6	4,4	3,8	3,7	3,8	3

Hemoglobin je vůbec jedním z nejvýznamnějších parametrů. Nízká koncentrace Hb je jasným průkazem anémie. Hladina Hb také podává informace o závažnosti anémie, čili o jaký stupeň anémie se jedná. Fyziologické rozmezí Hb je 129-142 g/l (platí pro hematologický analyzátor CELL-DYN Ruby). Na základě těchto poznatků jsem sestavila tabulku s naměřenými hodnotami HGB mužů i žen (tab. 7), kde měli všichni pacienti jak z ženské tak z mužské populace hodnoty nízké, až na 2 muže a 1 ženu, kteří měli hodnoty v normě. Dále jsem tyto parametry rozdělila podle stupně anémie do 3 kategorií (obr. 10): lehká anémie (100-129 g/l), středně těžká anémie (70-99 g/l) a těžká anémie (pod 69 g/l). Lehkou anémii mělo nejvíce pacientů (87%), středně těžkou anémii mělo (10%) a těžkou anémii mělo nejméně pacientů (3%).

Tab. 7: Hodnoty HGB u mužů a žen

	HGB (g/l)														
pacient č.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
muži	111	111	123	109	136	127	142	119	126	117	85	123	120	69	109
ženy	123	113	121	118	110	104	117	116	101	138	120	131	117	84	77



Obr. 10: Procentuální zastoupení závažnosti anémie

V mém výzkumu se nacházeli pacienti různého věkového složení. Z tohoto důvodu jsem uspořádala naměřené hodnoty Hb podle stáří mužů a žen (tab. 8) a spočítala si tak průměrné hodnoty Hb pro dané věkové kategorie (tab. 9), abych se přesvědčila o tom, zda se hodnota Hb v krvi se zvyšujícím věkem snižuje.

Tab. 8: Hodnoty HGB a věk 15 mužů a 15 žen

	věk a hladina Hb (g/l) u mužů a žen														
pacient č.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
muži věk	74	72	88	78	74	80	88	68	64	70	64	63	90	82	86
muži HGB	109	69	120	123	85	117	126	119	142	127	136	109	123	111	111
ženy věk	77	79	87	79	79	76	71	50	82	81	83	74	21	79	84
ženy HGB	113	123	77	101	84	117	131	120	138	116	117	104	110	118	121

Na základě předchozí tabulky (tab. 8) jsem si vypočítala průměrné hodnoty Hb pro jednotlivé věkové kategorie zvlášť pro muže a pro ženy. V první věkové kategorii (21-60 let) jsem spočítala průměrnou hodnotu Hb pouze u žen 115 g/l, protože se v této kategorii žádní muži nenacházeli. V druhé věkové kategorii byla u mužů průměrná hodnota Hb 127 g/l, zde se naopak nenacházeli žádné ženy. Ve třetí kategorii byla průměrná hodnota Hb u mužů 101 g/l a u žen 111 g/l. V poslední věkové kategorii byla průměrná hodnota Hb u mužů 118 g/l a u žen 114 g/l.

Tab. 9: Průměrné hodnoty Hb (g/l) u mužů a žen

pohlaví	21-60 let	61-70 let	71-80 let	81-90 let
muži	0	127	101	118
ženy	115	0	111	114

Podle průměrné velikosti červené krvinky (MCV) se anémie rozdělují na mikrocytární, normocytární a makrocytární anémie. Pro přehlednost jsem si naměřené hodnoty MCV mužů a žen zapsala do tabulky (tab. 10). Fyziologické rozmezí MCV je 81,1-96,0 fl (platí pro hematologický analyzátor CELL-DYN Ruby). Z naměřených hodnot MCV jasně vyplývá, že se u pacientů nejvíce vyskytovala anémie normocytární. Pár pacientů mělo hodnoty zvýšené (zvýrazněno černě), u těchto pacientů se pravděpodobně jednalo o anémii makrocytární.

Tab. 10: Hodnoty MCV u mužů a žen

	MCV(fl)														
pac. č.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
muži	90,4	84	98	92,1	94	92	87	109	103	90	89	87	92	88	96
ženy	89,4	96	95	93,4	91	92	95	84	92	96	105	90	88	90	106

Na závěr jsem sestavila tabulku s hodnotami RDW mužů a žen (tab. 11) pro přehled variability ve velikosti erytrocytů. Fyziologické meze RDW 11,5-14,5% (platí pro hematologický analyzátor CELL-DYN Ruby), hodnoty nacházející se v tomto intervalu označují homogenní populaci erytrocytů, vyšší hodnoty RDW označují heterogenní populaci erytrocytů, tento stav se také označuje jako anizocytóza.

Z tabulky je patrné, že téměř všichni pacienti mužského pohlaví měli vysoké hodnoty RDW až na 2 muže, kteří měli RDW ve fyziologických mezích. Hodnoty RDW byly u ženské populace téměř vyrovnané, 7 pacientek mělo hodnoty RDW v normě a 8 pacientek mělo hodnoty vyšší. Anizocytóza byla přítomna spíše v mužské populaci.

Tab. 11: Hodnoty RDW u mužů a žen

	RDW (%)														
pacient č.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
muži	17,6	18	16,1	15,5	12,9	15,2	15,4	15,6	15,9	14,8	15,2	14,9	17,7	18,1	14,5
ženy	14,2	13,3	15,7	17,6	14,2	16,3	14,3	17	13,6	13,5	12,1	15,3	15,1	15,3	14,9

9 Diskuze

Cílem této práce bylo zjistit a porovnat změny krevního obrazu anemických pacientů s přidruženou chorobou chronickým onemocněním ledvin, čili anémie chronických onemocnění. V laboratoři STAFILA, spol. s r. o. České Budějovice jsem za období (červen 2016 - duben 2017) vyšetřila krevní obraz 30 pacientům. Dále jsem také zkoumala, jakým způsobem tuto chorobu ovlivňuje věk a pohlaví pacientů. Všechny zjištěné hodnoty jsem porovнала s údaji v literatuře.

Anémie je onemocnění, které obvykle doprovází jiné primární onemocnění. Objevuje se často u lidí vyššího věku. Tito lidé mají nižší obranyschopnost, tudíž i větší náchylnost k infekcím a anémie se u nich může rozvinout jako sekundární onemocnění (Gardner a Benz, 2009). Můj průzkum zahrnoval 30 pacientů ve věku 21-90 let, dle stáří byli pacienti rozděleny do několika věkových kategorií. Třetí věková kategorie (71-80 let) zahrnovala nejvíce vyšetřovaných pacientů, můj průzkum tedy dokazuje, že nejvíce nemocných je opravdu mezi lidmi vyššího věku, nejvíce jsou tedy touto chorobou ohroženi pacienti nad 70 let. Zároveň v této věkové kategorii dominovaly více ženy, muži se nacházeli spíše v mladší věkové kategorii.

Průměrný věk u mužů byl 76 let a průměrný věk u žen 73 let. Dalo by se tedy říci, že toto onemocnění se projevuje u žen dříve než u mužů. Dostupná literatura však žádné významné rozdíly dle věkových skupin neuvádí.

Vydra a Cetkovský (2015) tvrdí, že incidence anémie tvoří ve vyspělých zemích 4% mužů a 8% žen. Můj soubor pacientů se skládal přesně z 15 žen a 15 mužů, tudíž zde bylo rovnoměrné zastoupení obou dvou pohlaví.

Erytrocyty jsou nejběžnější krevní buňky, jejichž počet může být buď zvýšený (polyglobulie) nebo snížený. Změny v počtu erytrocytů jsou obvykle spojeny se změnami v množství hemoglobinu, klesne-li počet erytrocytů a Hb pod určitou mez, jedná se o anémii (Pecka, 2006). Všem pacientům byla naměřena nízká koncentrace erytrocytů s výjimkou 4 pacientů v mužské populaci a 3 v ženské. Mé výsledky se tedy shodují s uvedenou literaturou. U těchto pacientů se jednalo o hypoproliferativní typ anémie, neboť byla způsobena sníženou tvorbou erytrocytů. V mém výzkumu měly ženy nižší počty erytrocytů než muži, těmto naměřeným údajům odpovídají údaje v literatuře (Češka, 2010).

Stanovení Hb v krvi patří k nejdůležitějšímu laboratornímu vyšetření, nízká hladina Hb v krvi je hlavním ukazatelem anémie (Vydra a Cetkovský, 2015). Jak jsem již zmiňovala v předchozím odstavci, změny erytrocytů jsou spojeny se změnami v množství Hb, tudíž pacientům, kterým byla naměřena nízká koncentrace erytrocytů, byla naměřena i nízká koncentrace Hb s výjimkou 2 pacientů, kteří měli hodnoty v normě.

Dle naměřených hodnot HGB jsem mohla zjistit u pacientů závažnost anémie. Podle Pecky (2006) se anémie podle míry poklesu krevního obrazu (hlavně Hb) hodnotí jako lehké anémie (100-135 g/l), středně těžké anémie (70-100 g/l) a těžké anémie (< 70 g/l). Naměřené hodnoty Hb jsem porovnávala podle těchto kritérií. Lehkou anémii mělo nejvíce pacientů (87%), středně těžkou anémii mělo (10%) a těžkou anémii mělo nejméně pacientů (3%). Dále Ščudla (2009) uvádí, že anémie chronických onemocnění je mírná či středně významná nemoc provázející sekundární choroby (zánětlivé, infekční), trvající déle nežli 2 měsíce. Mé výsledky se tedy shodují s údaji takto uvedené literatury.

Průměrné hodnoty Hb u jednotlivých věkových kategorií naměřené v mém výzkumu se shodují s hodnotami uvedenými v literatuře, ve které Gardner a Benz (2009) tvrdí, že hodnoty Hb u mužů do 70 let klesají pod 135 g/l, u mužů nad 70 let klesají pod 120 g/l a u žen pod 115 g/l. Čímž se potvrdila má domněnka o poklesu Hb v krvi se zvyšujícím se věkem.

Stanovení MCV je důležité při pátrání po příčinách anémie a také pro určení o jaký typ anémie se jedná. Podle Penky a Tesařové (2011) je anémie chronických onemocnění zprvu normocytární a normochromní, při déle trvající aktivní chorobě (zánětu, nádoru) se prohlubuje a rozvíjí v mikrocytární a hypochromní anémii. V mém výzkumu skutečně měla většina pacientů hodnoty MCV i koncentraci Hb v erytrocytu (MCHC) v normě, tudíž anémie těchto pacientů byla normocytární a normochromní, avšak 6 pacientů (3 muži a 3 ženy) měli hodnoty MCV vyšší, což mě překvapilo, neboť informace uvedené v literatuře jsou odlišné. Mikrocytární anémii žádný pacient z mého vyšetřovaného souboru neměl.

Hodnota RDW udává variabilitu velikostí erytrocytů. Anizocytóza (heterogenní populace erytrocytů) podle Ščudly (2009) bývá nejčastěji přítomna u anémie chronických onemocnění, hodnoty RDW jsou normální nebo zvýšené. Naměřené

hodnoty RDW v mužské i ženské populaci byly převážně vyšší, více vyšších hodnot však bylo v mužské populaci. V literatuře jsem ovšem žádné údaje o tom, zda anizocytóza se objevuje více v mužské či ženské populaci nenašla.

10 Závěr

Anémie chronických onemocnění je významný stav chudokrevnosti doprovázející chronické infekční, zánětlivé či nádorové choroby. Po anémii z nedostatku železa je druhým nejčastějším typem anémie. V klinické praxi bývá anémie chronických onemocnění často zaměňována s anémií z nedostatku železa. Interpretace správné diagnózy je v tomto případě rozhodující, neboť v léčbě obou dvou anémií je zcela zásadní rozdíl.

Cílem mé práce bylo vyšetřit a zhodnotit změny krevního obrazu 30 pacientům, kterým byla diagnostikována anémie chronických onemocnění v laboratoři STAFILA, spol. s r. o. České Budějovice od června roku 2016 do dubna roku 2017. Na základě krevních obrazů, které jsem vyšetřila a na základě jednotlivých hodnot, které jsem naměřila a porovnála, mohu v principu konstatovat, že mé výsledky se s menšími rozdíly shodovaly se studii, až na pár naměřených hodnot MCV v mé práci, které byly spíše vyšší a s údaji uvedených v literatuře se neshodovaly. Požadované cíle jsem tedy splnila.

V průběhu práce jsem si stanovila 4 hypotézy. První hypotézou byla otázka, zdali je anizocytóza přítomna v krevním obraze téměř u všech pacientů s CKD. S porovnáním mých výsledků s dostupnou literaturou mohu prohlásit, že tato hypotéza byla potvrzena. Druhá hypotéza předpokládala, že anémie u pacientů s CKD je normocytární nebo mikrocytární. Tato hypotéza byla potvrzena jen částečně, u většiny pacientů byla anémie skutečně normocytární, avšak u některých jedinců byly hodnoty vyšší, než je uvedeno v literatuře. Důvodem mohla být řada faktorů, např. malý soubor pacientů. Další hypotézou bylo, zda toto onemocnění více postihuje. Tato hypotéza nemohla být vyvrácena ani potvrzena, neboť pro srovnání mých výsledků s literaturou jsem nenašla žádnou adekvátní. Poslední hypotézou byla otázka, zdali jsou ohroženi hlavně pacienti staří nad 70 let. Tato hypotéza byla potvrzena na základě porovnání výsledků mé práce se studii.

Doufám, že výsledky mé práce napomohou v klinické praxi lépe rozpoznat anémie chronických onemocnění a snáze je tak odlišit od anémie z nedostatku železa, nakonec i třeba napomoci ke snížení výskytu této anémie.

11 Seznam literatury

- 1) ADAM, Z., VORLÍČEK, J., 2007. *Hematologie pro praktického lékaře*. Praha: Galén. 314 s. ISBN 978-80-7262-453-9.
- 2) ČEŠKA, R., 2015. *Interna*. 2. vydání. Praha: Triton. 909 s. ISBN 978-80-7387-895-5.
- 3) DOMENICO, I., KAPLAN, J., WARD, DM., 2007. Heparin regulation: ironing out the details. *Journal of Clinical Investigation*. 17(7), 1755-8. doi: 10.1172/JCI32701.
- 4) DRUKE, TB., LOCATELLI, F., CLYNE, N., 2006. Normalization of haemoglobin level in patients with chronic kidney disease and anaemia. *The New England Journal of Medicine*. 16(20), 2071-84. doi:10.1056/NEJM062276.
- 5) FELIX, O., PŘIVŘEL, M., 2013. *Příprava ke zkoušce z vnitřního lékařství*. Praha: Galén. 363 s. ISBN 978-80-7262-980-0.
- 6) FRIED, W., 2009. Erythropoietin and erythropoiesis. *Experimental Hematology*. 37(9), 1007-15. doi:10.1016/j.exphem.2009.05.010.
- 7) GANZ, T., 2006. Heparin and his role in regulating systemic iron metabolism. *Hematology American Social Hematology Education Program*. 10(6), 29-35. doi:10.1182/asheducation-2006.1.29.507.
- 8) GARDNER, LB., BENZ, EJ., 2009. Anaemia of chronic diseases. In: HOFFMAN, R., et al. *Hematology*. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier, p. 469-474. ISBN 978-04-431-0175-5.
- 9) INDRÁK, K., 2014. *Hematologie a transfuzní lékařství*. Praha: Triton. 612 s. ISBN 978-80-7387-722-4.
- 10) INDRÁK, K., 2006. *Hematologie*. Praha: Triton. 278 s. ISBN 978-80-7254-868-9.
- 11) JELKMANN, W., 2011. Regulation of erythropoietin production. *The Journal of Physiology*. 15(6), 1251-8. doi:10.1113/jphysiol.2010.195057.
- 12) LIMA, GA., et al., 2012. Anaemia in chronic renal disease: evaluation of inflammatory activity on erythropoiesis and iron metabolism in patients not

- submitted to dialysis treatment. *Clinical Laboratory*. 58(7-8), 695-704. ISSN 2299-7970.
- 13) LOCATELLI, F., COVIC, A., ECKARDT, KU., 2009. Anaemia management in patients with chronic kidney disease: a position statement by the anaemia working group of european renal best practise (ERBP). *Nephrology Dialysis Transplantation*. 24(2), 348-54. doi:10.1093/ndt/gfn653.
 - 14) LUKÁŠ, K., ŽÁK, A., 2014. *Chorobné znaky a příznaky: diferenciální diagnostika*. Praha: Grada. 928 s. ISBN 978-80-247-5067-5.
 - 15) MACDOUGALL, IC., ASHENDEN, M., 2009. Current and upcoming erythropoiesis – stimulating agents, iron products and other novel anaemia medications. *Advances in Chronic Kidney Disease*. 16(2), 117-30. doi:10.1053/j.ackd.2008.12.010.
 - 16) MASOPUST, J., PRŮŠA, R., 2004. *Patobiochemie metabolických drah. 2. vydání*. Praha: Karolinum. 208 s. ISBN 978-80-247-1522-8.
 - 17) MIRCESCU, M., GARNEATA, L., CAPUSA, C., 2006. Intravenous iron supplementation for the treatment of anaemia in pre-dialyzed chronic renal failure patients. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 21(1), 120-24. doi:10.1093/ndt/gfi087.
 - 18) NANGAKU, M., ECKARDT, KU., 2006. Pathogenesis of renal anaemia. *Seminars in Nephrology*. 26(4), 261-8. doi:10.1016/j.semnephrol.2006.06.001.
 - 19) NAVRÁTIL, L., 2008. *Vnitřní lékařství pro nelékařské zdravotnické obory*. Praha: Grada. 424 s. ISBN 978-80-247-2319-8.
 - 20) PATEL, TV., SINGH, AL., 2010. Anaemia in chronic kidney disease: new advances. *Heart Failure Clinics*. 6(3), 347-57. doi:10.1016/j.hfc.2010.02.001.
 - 21) PECKA, M., 2006. *Laboratorní hematologie v přehledu: fyziologie a patofyziologie krevní buňky*. Český Těšín: Finidr. 304 s. ISBN 978-80-866-8202-1.
 - 22) PECKA, M., 2010. *Praktická hematologie: laboratorní metody*. Český Těšín: Infiniti art. 343 s. ISBN 978-80-903-8719-5.
 - 23) PENKA, M., BULÍKOVÁ, A., 2009. *Neo-onkologická hematologie. 2. vydání*. Praha: Grada. 248 s. ISBN 978-80-247-2299-3.

- 24) PENKA, M., TESAŘOVÁ, E., 2011. *Hematologie a transfuzní lékařství I*. Praha: Grada. 488 s. ISBN 978-80-247-3459-0.
- 25) RYŠAVÁ, R., 2011. Anémie u nemocných s renálním onemocněním a možnosti jejího ovlivnění. *Medicina pro Praxi*. 8(2), 58-63. ISSN 1214-8687.
- 26) SAKALOVÁ, A., et al., 2010. *Klinická hematologie*. Bratislava: Osveta. 296 s. ISBN 978-80-8063-324-0.
- 27) ŠČUDLA, V., 2006. Anémie chronických chorob. In: INDRÁK, K., et al. *Hematologie*. Praha: Triton, s. 37-44. ISBN 978-80-7254-868-9.
- 28) TESAŘ, V., 2008. Perspektivy: hepcidin, anémie chronických chorob a rezistence na erytropoetin. *Postgraduální Nefrologie*. 6(6), 82-83. ISSN 1214-178X.
- 29) TESAŘ, V., VIKLICKÝ, O., 2015. *Klinická nefrologie*. 2. vydání. Praha: Grada. 560 s. ISBN 978-80-247-4367-7.
- 30) VECCHIO, L., CAVALLI, A., TUCCI, B., 2010. Chronic kidney disease – associated anaemia: new remedies. *Current Opinion in Investigational Drugs*. 11(9), 1030-38. ISSN 0730-698.
- 31) VOKURKA, M., 2011. Fyziologie a patofyziologie erytropoézy II: Regulace a erytropoetin. *Aktuality v Nefrologii*. 17(3), 96-102. ISSN 1210-955X.
- 32) VYDRA, J., CETKOVSKÝ, P., 2015. *Hematologie v kostce*. Praha: Mladá fronta. 392 s. ISBN 978-80-204-3698-6.
- 33) WEISS, G., GOODNOUGH, LT., 2005. Anaemia of chronic disease. *The New England Journal of Medicine*. 35(10), 241-52. ISSN 1011-1023.
- 34) WEISS, G., GORDEUK, VR., HERSHKO, CH., 2005. Anaemia of chronic disease. *Medical Clinics of North America*. 76(3), 79-87 ISSN 157-8957.

Internetové zdroje

- 1) STRAUB, J., 2006. Léčba anémie [online]. Myeloma [cit. 2017-02-14]. Dostupné z: <http://www.myeloma.cz/res/file/archiv/pacientskyseminar2006/13-MUDr-Jan-Straub-Lecba-anemie.pdf>.
- 2) Chronické onemocnění ledvin a léčba anémie u CKD, 2015. [online]. Moje medicína [cit. 2016-07-03]. Dostupné z: <http://www.mojemedicina.cz/pro-lekare/onemocneni/chronicke-nemoci-ledvin/anemie-u-ckd/>.

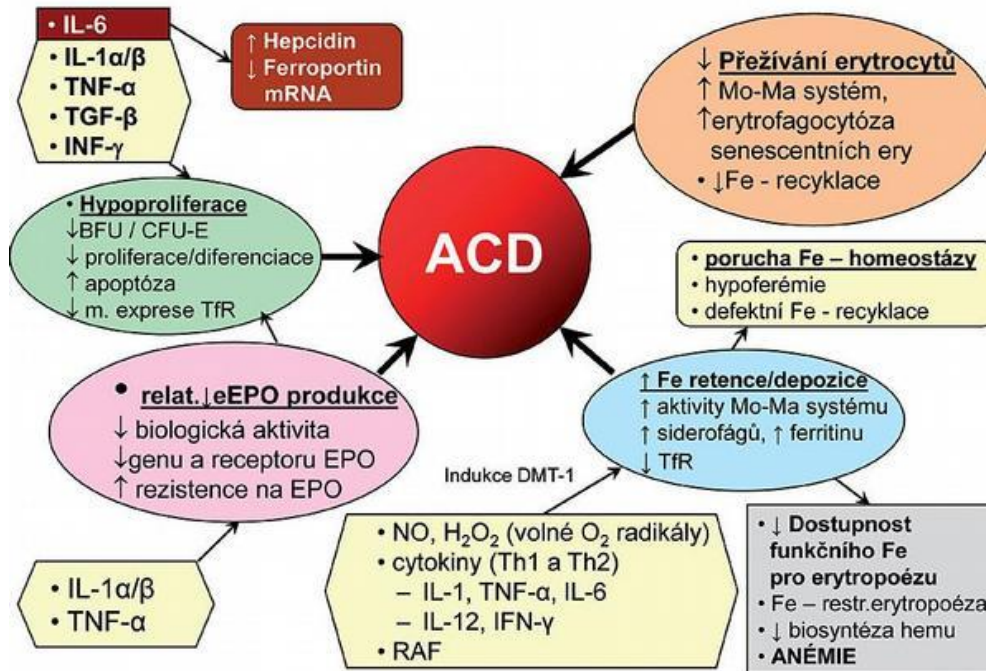
- 3) POSPÍŠILOVÁ, D., 2007. Anémie chronických chorob ve světle nových poznatků [online]. *Pediatric pro praxi* [cit. 2017-03-15]. Dostupné z: <http://www.pediatricpropraxi.cz/artkey/ped-200705-0005-Anemie-chronicky-chorob-ve-svetle-novych-poznatku.php>.
- 4) Uživatelská příručka systému CELL-DYN Ruby®, 2009. [online]. Corelaboratory. Abbot [cit. 2017-01-29]. Dostupné z: <https://www.corelaboratory.abbot/int/cs/offerings/brands/cell-dyn/cell-dyn-ruby>.
- 5) ŠČUDLA, V., 2009. Anémie chronických chorob. [online]. *Zdraví e15* [cit. 2016-09-24]. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/postgradualni-medicina-priloha/anemie-chronicky-chorob-447150>.

Obrázky

- 1) STEINBICKER, A., 2014. Treatment of anaemia inflammation. *Blood*. 124(17), 2618-19. doi:org/10.1182/blood-2014-09-599282.
- 2) KAUTZ, L., et al., 2014. Identification of erythroferrone as an erythroid regulator of iron metabolism. *Nature Genetics*. 46(4), 678-84. doi:10.1038/ng.2996.

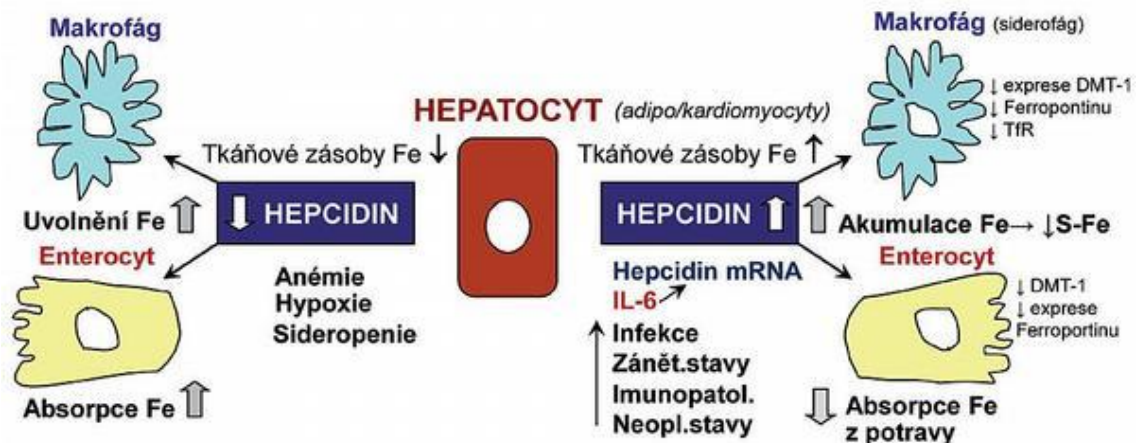
12 Seznam příloh a obrázků

Příloha č. 1: Schéma multifaktoriální patogeneze anémie chronického onemocnění



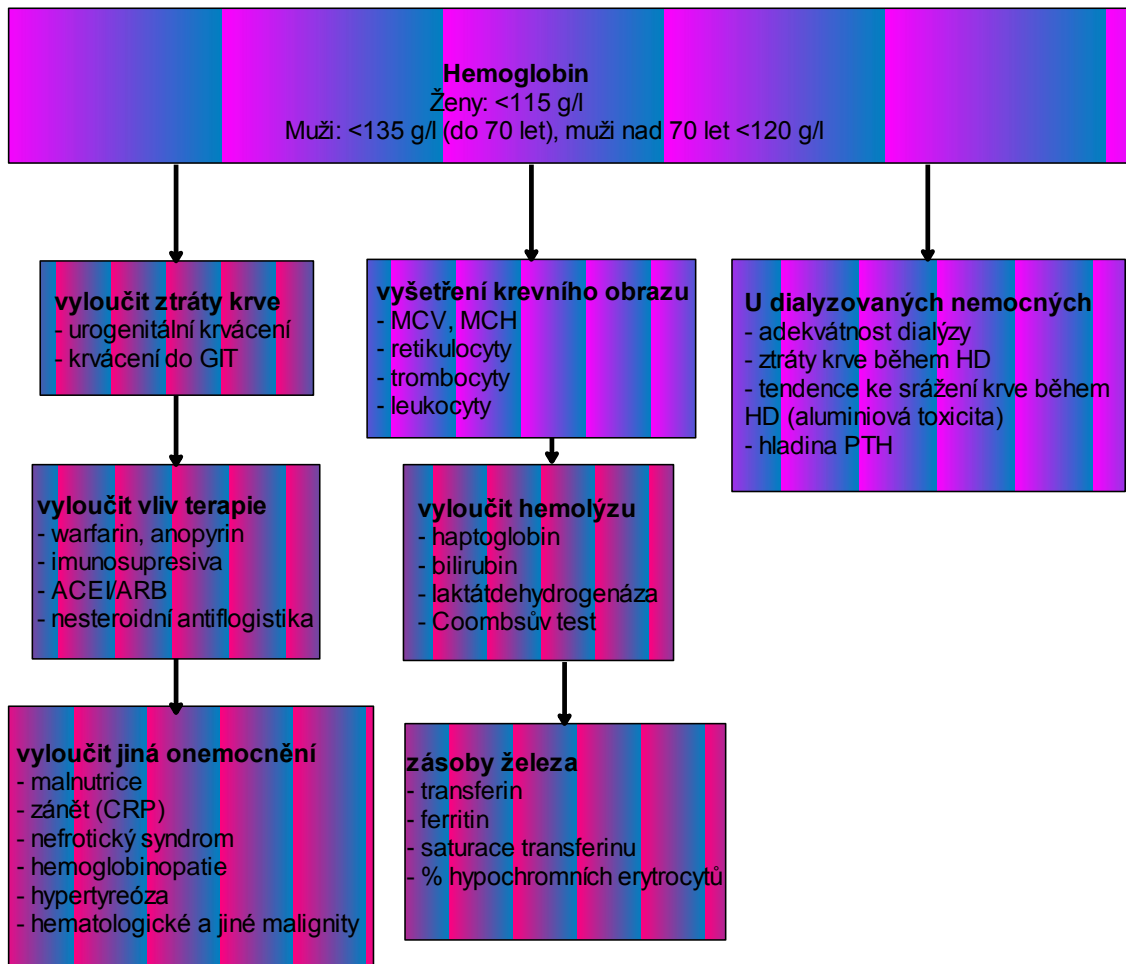
Zdroj: (Ščudla, 2009)

Příloha č. 2: Úloha hepcidinu v metabolismu železa



Zdroj: (Ščudla, 2009)

Příloha č. 3: Algoritmus vyšetřované anémie u nemocných s CKD



Zdroj: (Ryšavá, 2011)

13 Seznam zkratek

ACD

ACE

amp.

BMP

CERA

CKD

CVK

EPO

EPOR

ERFE

ESA

ESP

Fe

GF

Hb

HCT

HGB

LIS

MaMo

MCH

MCHC

MCV

MDS

PLT

RA

RBC

RDW

WBC