



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Sciences

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

**Morfologické změny erytrocytů u vybraných
onemocnění**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Studijní program:

ZDRAVOTNÍ LABORANT

Autor: Jana Riegerová

Vedoucí práce: MUDr. Helena Kubánková

České Budějovice 2019

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem Morfologické změny erytrocytů u vybraných onemocnění jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské/diplomové práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby bakalářské/diplomové práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé bakalářské práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 3. 5. 2019

.....

podpis

Poděkování

Za pomoc při vypracování této práce děkuji především své vedoucí práce paní primářce Kubánkové, která byla po celou dobu nejen výborným mentorem, ale i člověkem s velkým osobním pochopením. Rovněž děkuji své rodině za trpělivost.

Morfologické změny erytrocytů u vybraných onemocnění

Abstrakt

Bakalářská práce se zabývá morfologií erytrocytů a jejich anomáliemi u vybraných onemocnění. Teoretická část práce se zaměřuje na popis jednotlivých morfologických abnormalit erytrocytů a vybranými onemocněními, u kterých jsou typické morfologické změny erytrocytů. Rovněž se snaží vysvětlit jejich význam pro stanovení diagnózy a průběh onemocnění. Praktická část zahrnuje popis provedení mikroskopického hodnocení krevních nátěrů, vyhodnocení morfologie erytrocytů a posouzení morfologických změn ve vztahu k diagnózám pacientů.

Bylo provedeno hodnocení 80 vzorků, které byly získány v rozmezí od 2. 5. 2017 do 25. 5. 2017 na Hematologickém oddělení v Písku. Byly hodnoceny vybrané krevní nátěry, ve kterých se nacházely morfologické anomálie. Vzorky byly roztrženy do devatenácti kategorií dle diagnóz. Poté byly v každé kategorii vyhodnoceny zjištěné morfologické změny. Byla hodnocena četnost zjištěných abnormalit a následně možný jejich vliv na onemocnění pacienta. Mezi tři nejčastější pozorované změny morfologie erytrocytů patří polychromázie u 45 vzorků, anizocytóza u 43 vzorků a ovalocytózy u 22 vzorků.

Pozorované morfologické změny byly v některých případech typické pro základní diagnózu nemocného a jeho léčbu, v některých případech byla zachycená morfologie netypická pro zjištěné onemocnění a upozorňovala lékaře na další možný zdravotní problém. Pacienti s netypickými znaky v krevním nátěru byli následně podrobena dalším testům, které odhalily příčinu těchto změn. Výsledky tak dokazují důležitost hodnocení krevního nátěru pro stanovení diagnózy pacienta.

Klíčová slova

Erytrocyt; mikroskopické hodnocení; krev; morfologie erytrocytů; onemocnění

Morphological changes of erythrocytes in selected diseases

Abstract

This bachelor's thesis deals with the morphology of erythrocytes and their anomalies related to selected diseases. The theoretical part of the thesis is focused on the description of individual erythrocyte morphological abnormalities and the description of selected diseases for which morphological transformations are typical. It also aims at the explanation of their importance for diagnosis and disease progress. The practical part comprises description of blood smears microscope evaluation procedure, evaluation of erythrocyte morphology and assessment of morphological transformations in regard to patients' diagnoses.

More than 80 samples were evaluated, all of which were collected between 2nd May 2017 and 25th May 2017 at the Department of Hematology in Písek. Selected blood smears containing morphological anomalies. Samples were classified in nineteen categories according to the diagnoses. Afterwards, morphological transformations were evaluated in each category. Frequency of identified abnormalities was assessed and then also their possible impact on the disease was considered. Among three most frequently detected erythrocyte morphological transformations belong polychromasia in 45 samples, anisocytosis in 43 samples and ovalocytosis in 22 samples.

The observed morphological transformations were in some cases typical for the basic diagnosis and treatment, in some cases the detected morphology was untypical for diagnosed disease and informed the physician of another possible health issue. Patients with untypical signs in blood smears were consequently subjected to additional tests, which revealed the etiopathogenesis of such transformations. The results thus demonstrate the importance of blood smear evaluation for making a precise diagnosis

Keywords

Erythrocytes; microscopy evaluation; blood; erythrocyte's morphology; diseases

Obsah

1	Teoretická část.....	10
1.1	Krev	10
1.1.1	Plazma	10
1.1.2	Leukocyty	10
1.1.3	Trombocyty.....	11
1.2	Erytrocyty.....	12
1.2.1	Struktura červené krvinky	12
1.2.2	Život a smrt červené krvinky	13
1.3	Základní parametry zjišťované u erytrocytů	14
1.4	Anomálie erytrocytů	16
1.4.1	Změna velikosti erytrocytů.....	17
1.4.2	Změna tvaru	18
1.4.3	Inkluze v červených krvinkách	23
1.4.4	Jiné změny červených krvinek.....	25
1.4.5	Aglutinace.....	25
1.5	Charakteristika vybraných onemocnění.....	25
1.5.1	Sideropenická anemie.....	26
1.5.2	Makrocytová anemie, megaloblastová anemie	27
1.5.3	Talasemie	28
1.5.4	Mikroangiopatické hemolytické anémie (MAHA)	30
1.5.5	Polycytemia vera.....	33

1.5.6	Primární myelofibróza.....	34
1.5.7	Myelodysplastický syndrom (MDS)	36
1.5.8	Anémie chronických onemocnění.....	37
2	Metodika a hypotézy.....	39
2.1	Cíl práce	39
2.2	Hypotéza	39
2.3	Příjem vzorku	39
2.4	Příprava vzorku a jeho barvení.....	40
2.5	Pozorování preparátu	42
3	Výsledky	43
3.1	Hodnocení vybraných onemocnění	45
3.1.1	Myeloproliferativní onemocnění (MPO).....	45
3.1.2	Novorozenci.....	47
3.1.3	Zánětlivá a virová onemocnění.....	48
3.1.4	Onkologická onemocnění primárně nepostihující krvinek.....	50
3.1.5	Lymfoproliferativní onemocnění	51
3.1.6	Onemocnění GIT.....	52
3.1.7	Trombocytopenie	53
3.1.8	Myelodysplastický syndrom (MDS)	55
3.1.9	Renální insuficience	56
3.1.10	Jiné nehematologické diagnózy	57
3.1.11	Neurčité příznaky	58

3.1.12	Sideropenická anémie.....	59
3.1.13	Akutní leukémie.....	60
3.1.14	Úrazové stavy.....	61
3.1.15	Splenomegalie a lymfadenopatie blíže neurčená.....	62
3.1.16	Ostatní onemocnění.....	63
4	Diskuze.....	64
5	Závěr.....	65
6	Seznam literatury a zdrojů.....	66
7	Seznam obrázků.....	74
8	Seznam zkratek.....	76

Úvod

V dnešní době jsou neodmyslitelnou součástí lékařské diagnostiky laboratorní testy. Laboratorní testy mají napomáhat lékaři při stanovení onemocnění, nastavení správné léčby a kontrole jejího účinku. Mezi nejzákladnější laboratorní vyšetření patří rozbor krve, který je pacientovi proveden v rámci preventivní kontroly nebo při potížích. Výhodou krevních testů je, že krev proudí po celém našem těle a tím pádem je její složení a vlastnosti ovlivněno procesy celého organismu. Pokud v těle probíhá nějaký významný patologický proces, mělo by se to nějakým způsobem odrazit i na složení a kvalitě krve. Součástí rozboru krve je krevní obraz s vyhodnocením červeného krevního obrazu, u kterého se kromě číselných hodnot posuzuje i morfologie erytrocytů, a to hlavně jejich tvar, barva, velikost a patologické inkluze, a četnost výskytu jednotlivých anomálií. Změny morfologie erytrocytů mohou být nápomocné při diagnostice onemocnění.

Práce se snaží objasnit základní vztahy mezi vnější stavbou erytrocytů, významností jejich anomálií a jejich možnou pomocí při stanovení onemocnění pacienta. Morfologie je často přehlížena, přestože změny erytrocytů mohou napovědět, jak pracuje organismus. Lékař by měl brát v úvahu nejen zjištěné naměřené hodnoty vzorku, ale celkový stav vzorku včetně morfologie erytrocytů.

1 Teoretická část

1.1 Krev

Krev je tělesná tekutina, která vykonává řadu funkcí a spojuje všechny tkáně v našem těle. Mohla by se přirovnat k rušné cestě, po které putují látky a buňky, které různě cestu opouštějí a jinde na ni zase vstupují. Díky tomu zajišťuje stálou výměnu látek mezi buňkami a podílí se na udržení stálého vnitřního prostředí organismu. Není proto překvapivé, že právě v krvi se často prokážou různé změny v organismu, popřípadě vrozené patologie. Mohou se projevit buď změnou složení krve (např. zvýšení, snížení počtu buněk, změna obsahu glukózy a jiných látek) nebo na její kvalitě (např. změna tvaru buněk). (Pecka, 2002)

Krev se skládá z buněčné části a z části tekuté. Do buněčné části jsou zařazovány buněčné elementy (erytrocyty, leukocyty a trombocyty), které jsou rozptýlené v tekuté části krve, v plazmě. (Pecka, 2002)

1.1.1 Plazma

Plazma je nažloutlá až žlutá tekutina, která je tvořena anorganickými a organickými látkami včetně proteinů. Její podíl z celkového množství krve je v průměru více než 55 %. Plazma napomáhá udržovat tlak krve a regulovat tělesnou teplotu. Mezi funkce plazmy patří také přenášení živin a odpadových produktů. Plazma také obsahuje a přenáší látky se specifickými funkcemi, např. bílkoviny (faktory) krevního srážení, hormony, cytokiny a další.

Plazmu lze získat z krve centrifugací nesrážlivé krve. Používá se na výrobu krevních derivátů a některých transfuzních přípravků. (Plasma Components..., 2014)

1.1.2 Leukocyty

Leukocyty, neboli bílé krvinky, se dělí na agranulocyty a granulocyty. Jejich hlavní význam je bránit organismus proti patogenním mikroorganismům, ale i proti vlastním pozměněným (mutovaným) buňkám.

Agranulocyty, jak již jejich název napovídá, neobsahují barvitelné granule v cytoplazmě a jejich jádro je nečleněné. Mezi ně jsou zařazovány lymfocyty, monocyty a plazmatické buňky. Lymfocyty se dále dělí na T-lymfocyty, B-lymfocyty a NK buňky (natural killers – přirození zabíječi). T-lymfocyty a B-lymfocyty zabezpečují specifickou imunitní odpověď organismu. B-lymfocyty vznikají v kostní dřeni, ale jejich vývoj se dokončuje až v sekundárních lymfatických orgánech, kde se po setkání s antigenem stanou plazmatickou buňkou, která je schopna produkovat protilátky. T-lymfocyty se vyvíjí v thymu a jsou rozlišovány dvě populace Th (pomocné) a Tc (cytotoxické). Po setkání s antigenem se přemění na zralé efektorové buňky. Jejich funkce jsou produkce cytokinů nebo cytotoxické působení na buňky. NK buňky jsou součástí nespecifické imunity. NK buňky jsou lymfocyty, které na rozdíl od B a T lymfocytů nepotřebují k cytotoxickému působení předchozí aktivaci antigenem.

Monocyty, patřící mezi buňky nespecifické imunity, jsou největšími buňkami krve, které jsou schopny vycestovat z krve do tkání, kde se mění na makrofágy. Hlavní funkce makrofágů je fagocytovat patogenní mikroorganismy a cizorodé látky, a pokud nejsou přítomné, fagocytují zbytky odumřelých buněk. Makrofágy rovněž produkují cytokiny, které jsou důležité pro spuštění i ukončení zánětlivé reakce organismu.

Do skupiny granulocytů řadíme neutrofilů, eozinofilů a bazofilů. Patří k buňkám zajišťujícím nespecifickou imunitní odpověď. Obsahují v cytoplazmě barvitelné granule a mají členěné jádro. Členění jádra neutrofilů se zvyšuje se stářím buňky. To znamená, čím je buňka starší, tím má více členěné jádro. (Hořejší et al., 2013; The Cardiovascular System: Blood, 2017)

1.1.3 Trombocyty

Trombocyty jsou fragmenty cytoplazmy megakaryocyty. Z každého megakaryocyty vznikne mezi 2000 až 3000 trombocytů a po odtržení jeho částí je fagocytován. Trombocyty se účastní, spolu s dalšími látkami, procesu srážení krve. (The Cardiovascular System: Blood, 2017)

1.2 Erytrocyty

Erytrocyty neboli červené krvinky jsou nejnámější krevní buňky. Tyto buňky jsou nejpočetnějšími buňkami v krvi a jsou důležité během celého života. Na okrajích jsou ztlustělé a směrem k prostředku se ztenčují. Svým bikonkávním tvarem připomínají cukrářský piškot. Tohoto tvaru bylo dosaženo díky vypuzení jádra během jejich zrání a také z důvodu ztráty většiny buněčných organel. Díky těmto změnám je umožněno zvětšení povrchu buňky a přenos vyššího množství kyslíku v jedné buňce, než kdyby byla buňka kulovitá a s organelami, které obsahuje běžná buňka. Jejich nejdůležitější součástí je hemoglobin, který se nachází v cytosolu. Červená krvinka je membránou uzavřený přesycený roztok hemoglobinu. Jejich primární funkce je přenos kyslíku z plic do tkání a naopak transport oxidu uhličitého z tkání zpět do plic, kterými je vydechnut a tím odstraněn z organismu. Jejich tvar a složení buněčné membrány jim umožňuje průchod do velmi tenkých kapilár, ve kterých dochází k výměně plynů. Erytrocyty, na rozdíl od bílých krvinek, se mohou za normálních okolností pohybovat pouze v cévách a nemohou z nich vystupovat. (Howard a Hamilton, 1997; Pecka, 2006; Morphological Abnormalities..., 2015; The Cardiovascular System: Blood, 2017)

1.2.1 Struktura červené krvinky

Struktura červené krvinky musí splňovat mnoho nároků, které během svého života červená krvinka překonává. Jeden z největších požadavků na červenou krvinku je, aby buňka snesla opakované deformování při pronikání do tenkých vlásečnic, které mají průměr okolo 2 μm . Proto je nutné, aby byla membrána červené krvinky elastická, ale i pevná. Buněčná membrána je tvořena fosfolipidovou dvojvrstvou, pod kterou se nachází síť tvořená spektrinem.

Přes fosfolipidovou dvojvrstvu prochází cholesterol a glykoproteiny. Také přes ni prostupuje transmembránový protein glykoforin, který má na extracelulární části navázané oligosacharidy. (Howard a Hamilton, 1997; Diez-Silva et al., 2010; The Cardiovascular System: Blood, 2017)

Vlastnosti a složení fosfolipidové dvojvrstvy a spektrinové sítě jsou rozhodující pro tvar zdravé červené krvinky. Pokud dojde k narušení jejich vzájemného působení,

dochází ke změně hustoty spektrinu a to vždy vede k nevratnému poškození membrány červené krvinky. Byly zjištěny tři hlavní faktory, které ovlivňují mechanickou celistvost a strukturu spektrinové sítě a celý tvar červené krvinky.

- Stříhové napětí červené krvinky
- Povaha svislého propojení – pokud dojde k jeho ztrátě, dochází ke vzniku dědičně přenosného onemocnění tzv. sférocytóze
- Remodelování membrány

Určité místo cytoskeletu může absorbovat chemickou energii díky kontaktu s molekulami dodávající energii např. ATP¹. Změny v ATP úrovni, při pokusech in vitro, způsobily změnu tvaru červené krvinky a zvýšení membránové tekutosti. In vivo může dojít ke změnám úrovně ATP při traumatu, infekci, rakovině atd. Spojení vrstev je aktivně kontrolováno ATP. Kontrola interakcí ATP je důležitá pro udržování charakteristického bikonkávního tvaru červené krvinky. Při absenci ATP se také objevuje přeměna membrány, která vyvolá změnu z normálního tvaru na echinocyt. Tato změna je vratná, pokud dojde k obnovení úrovně ATP. (Diez-Silva et al., 2010)

1.2.2 Život a smrt červené krvinky

Erytrocyty, včetně dalších krevních elementů, vznikají v kostní dřeni. Vznik červených krvinek se označuje jako erythropoéza. Při vyžívání ztrácejí erytrocyty většinu svých organel, což dovoluje využít vzniklý prostor pro hemoglobin. Během erythropoézy, pluripotentní kmenové buňky postupně vyžívají a diferencují se. Prvním stádiem vývoje červených krvinek je proerytoblast, poté bazofilní erytoblast, polychromatofilní erytoblast, ortochromní erytoblast, který rovněž může být nazýván jako oxyfilní erytoblast. Následuje stádium retikulocyt, což je mladý nezralý erytocyty, a posledním vývojovým stádiem je erytocyty. Erytrocyty za normálních okolností přežívají v periferní krvi mezi 110 až 120 dny. (Friedmann, 1994; Pecka, 1995; Penka et al., 2009)

¹ ATP - adenosintrifosfát

Postupně, jak červené krvinky stárnou, se snižuje jejich schopnost deformace a následně dochází k poškození buněčné membrány a mění se tvar červené krvinky z bikonkávního tvaru na kulovitý tvar – sférocyt. Většina starých červených krvinek je zachycena ve slezině, kde červené krvinky zanikají. Pouze okolo 10 % erytrocytů se rozpadne v cévách. (Friedmann, 1994; Pecka, 1995; Penka et al., 2009; Pecka a kol, 2010;)

1.3 Základní parametry zjišťované u erytrocytů

V dnešní době se pro stanovení hodnot krevního obrazu používají automatické hematologické analyzátory, které fungují buď na principu impedanční metody anebo optické detekce. Většina analyzátorů propojuje obě metody, aby bylo možné získat co nejvíce přesných informací o vzorku. Impedanční metoda spočívá v tom, že krvinky suspendované ve vodném roztoku se chovají jako izolanty a průchodem přes úzkou kapiláru dočasně zvýší odpor mezi elektrodami, vznikne tzv. impulz. Podle počtu impulzů je zjištěn počet krvinek/částic a podle velikosti impulzu je zjištěna velikost částice. Optická analýza využívá laserovou průtokovou cytometrii. Buňky jednotlivě prochází přes kyvetu, ve které na ně dopadá tenký laserový paprsek. Detekuje se, kolik světla bylo pohlceno, odraženo anebo prošlo. Vyhodnocením odraženého paprsku se zjišťuje tvar, obsah granul a velikost buňky. Podle prošlého paprsku se zjistí opět počet buněk a jejich velikost. Krev je odebíraná do zkumavky s přídavkem EDTA. Stále je nutné mít na paměti, že i sebelepší přístroje mohou dělat chyby a poté je na laborantce, aby je odhalila a nedošlo k vydání nesmyslných výsledků. (Váchová, 2014; Haferlach et al., 2014).

Mezi běžně udávané hodnoty zjišťované při analýze červeného krevního obrazu patří: počet erytrocytů (RBC), hemoglobin (HGB), hematokrit (HCT), střední objem erytrocytů (MCV), hemoglobin erytrocytů (MCH), střední koncentrace hemoglobinu erytrocytů (MCHC) a šíře distribuce erytrocytů (RDW). Tyto hodnoty jsou uváděné ve výsledkovém listě krevního obrazu. (Pecka, 1995; Pecka, 2006; Pecka a kol, 2010; Aslinia et al., 2006; Haferlach et al., 2014)

Počet červených krvinek (RBC) – udává počet červených krvinek na jeden litr krve, hodnota je závislá na věku pacienta. Dnes se při hodnocení červeného krevního obrazu považuje za pomocnou hodnotu. Fyziologicky může být zvýšený u novorozenců, u lidí pobývajících v prostředí s atmosférou s nižším parciálním tlakem kyslíku (vyšší nadmořská výška, hypoxický stan). Patologické zvýšení počtu červených krvinek nastává např. u polycytemia vera. Snížená hodnota může být zjištěna u anémií a to jak u vrozených, tak i získaných. (Pecka, 1995; Pecka, 2006; Haferlach et al., 2014)

Hemoglobin (HGB) – zjištění obsahu hemoglobinu v červených krvinkách patří mezi základní vyšetření. Obsah vzniklého komplexu se stanovuje fotometricky a uvádí se v jednotkách g/l. Referenční hodnota hemoglobinu se liší podle věku a pohlaví. U dětí se vedle věku může brát v úvahu i hmotnost dítěte. (Pecka, 1995; Pecka, 2006; Penka a kol., 2009; Haferlach et al., 2014)

Hematokritická hodnota (hematokrit, HCT) – poměr celkového objemu erytrocytů k celkovému objemu krve. Hodnota se zjišťuje výpočtem nebo se měří na analyzátorech. SI jednotka hematokritu je bezrozměrná. (Pecka, 1995; Pecka, 2006; Haferlach et al., 2014)

Střední objem erytrocytů (MCV) – jedná se o průměrný buněčný objem, hodnotu MCV lze buď měřit přímo, nebo ji lze vypočítat jakožto podíl hematokritu na počtu erytrocytů násobené tisícem. Možný výpočet je uvedený v následujícím vzorci (1).

$$MCV = \frac{HCT(\%) \cdot 10}{RBC} \quad (1)$$

MCV..... *střední objem erytrocytů [fl]*

HCT..... *hematokritická hodnota*

RBC..... *počet erytrocytů[10¹²/l]*

Prímé stanovení se provádí v hematologickém analyzátoru, určuje se objem každé červené krvinky a průměr těchto hodnot je hodnota MCV. Tato hodnota je důležitá pro

rozdělení anemie dle velikosti červených krvinek. Jednotkou MCV je femtolitr (fl) a referenční hodnota se pohybuje mezi 84 – 98 fl. Tato hodnota je běžně uváděna analyzátořem. (Pecka, 1995; Pecka, 2002; Pecka a kol., 2009; Pecka a kol, 2010; Aslinia et al., 2006; Haferlach et al., 2014)

Střední množství hemoglobinu v erythrocytech (MCH) – určuje množství hemoglobinu v jedné červené krvince. Hodnota se vypočítá z množství hemoglobinu děleným počtem červených krvinek, hodnota se udává v pikogramech (pg). (Pecka, 1995; Pecka, 2002; Pecka, 2006; Haferlach et al., 2014)

Střední koncentrace hemoglobinu v erythrocytu (MCHC) – určuje průměrnou koncentraci hemoglobinu v červené krvince. Výsledek se uvádí v g/l. (Pecka, 1995; Pecka, 2002; Pecka, 2006; Haferlach et al., 2014)

Šíře distribuce erythrocytů (RDW) – jsou získány informace o variabilitě ve velikosti červených krvinek podle jejich objemu, znázorňuje se histogramem červených krvinek. Pokud je RDW vyšší než referenční hodnota, křivka histogramu je rozšířená a zastoupení různě velkých erythrocytů je vyšší. Tento stav se označuje jako anizocytóza. Hodnota RDW se udává v procentech. (Pecka, 1995; Pecka, 2002; Pecka, 2006; Haferlach et al., 2014)

1.4 Anomálie erythrocytů

Morfologie erythrocytů je mnohdy podceňovaným kritériem. Jako nejdůležitější hodnota se nejčastěji uvádí množství hemoglobinu, protože na něm závisí množství přenášeného kyslíku ke tkáním (Friedmann, 1994). Přičemž právě abnormální tvar, velikost, zbarvení a inkluze v erythrocytech se nacházejí u celé řady patologických stavů. Například jejich různé varianty tvaru nebo velikosti jsou využívány a velmi užitečné při určování různých anémií (Beutler et al., 1995; Variations in Red Blood Cell Morphology..., 2017)

Základní znaky, které u erythrocytů rozlišujeme, jsou:

- Velikost buněk – anizocytóza, mikrocytóza, makrocytóza

- Tvar buněk – poikilocytóza, různé tvary erytrocytů
- Zbarvení buněk
- Přítomnost inkluzí - tělísek, zrn, prstenců
- Jiné odchylky

U hodnocení je také důležité, jaký je počet zastoupení příslušného znaku k celkovému počtu hodnocených buněk. Významnost zastoupení se u různých odchylek může lišit. Zatímco některý znak je významný už při výskytu v jediné buňce (Heinzova tělíska), jiné anomálie jsou důležité až při výskytu ve zvýšeném množství (výskyt sférocytů a jiných morfologických odchylek je významný až při výskytu 10 % a více).

Normální červená krvinka se také označuje jako normocyt. Charakteristika normocytu je, že nemá žádnou abnormalitu velikosti, tvaru nebo barvitelnosti. Jeho velikost je průměrně od 7,2 až 7,5 μm a tloušťka se pohybuje mezi 1,7 až 2,2 μm . Tvar normocytu z předního pohledu připomíná terčik s tmavším okrajem a světlejší středem. Tmavší okraj při obarvení vzniká díky obsahu hemoglobinu. Při hodnocení, zda se vyskytuje patologie, jsou porovnávány sledované červené krvinky s normocyty. (Pecka, 1995; Hillman et al., 1995; Pecka, 2006; Morphological Abnormalities..., 2015)

1.4.1 Změna velikosti erytrocytů

Velikost červených krvinek v krevním obraze je určena hodnotou MCV (střední objem erytrocytu). Červená krvinka může být buď menší, nebo větší než normocyt. Pokud pozorované erytrocyty mají MCV menší než 80 fl, jsou označovány jako mikrocyty. Mikrocyty jsou na rozdíl od normocytu při panoptickém barvení v nátěru světlejší, protože jsou tenčí než normocyt. Vyskytují se často u anemií způsobených nedostatkem železa, u anemií, kdy organismus nedokáže správně včlenit železo do hemu, anemií chronických onemocnění a také u vrozených poruch syntézy hemoglobinu.

Pokud jsou erytrocyty větší než 7,7 μm a MCV větší než 98 fl, jedná se o makrocyty. Makrocyty mohou být nalezeny např. u pacientů s nedostatkem vitamínu B₁₂ a kyseliny listové, ale také u myelodysplastického syndromu. Mikrocyty i makrocyty mohou i nemusí vykazovat další morfologické abnormality.

V případě, že se v nátěru vyskytují mimo běžné normocyty také makrocyty, a/nebo mikrocyty, označuje se tento stav jako anizocytóza. U hodnocení takového nátěru je nutné, aby více než 10 % erytrocytů z celkového počtu hodnocených erytrocytů mělo různou velikost. Jako anizocytóza mohou být označeny stavy, kdy se současně vyskytují:

- Mikrocyty a normocyty
- Makrocyty a normocyty
- Makrocyty a mikrocyty
- Makrocyty, normocyty a mikrocyty

(Pecka, 1995; Penka a kol, 2001; Pecka, 2006; Popis červené řady v nátěru periferní krve, 2018)

1.4.2 Změna tvaru

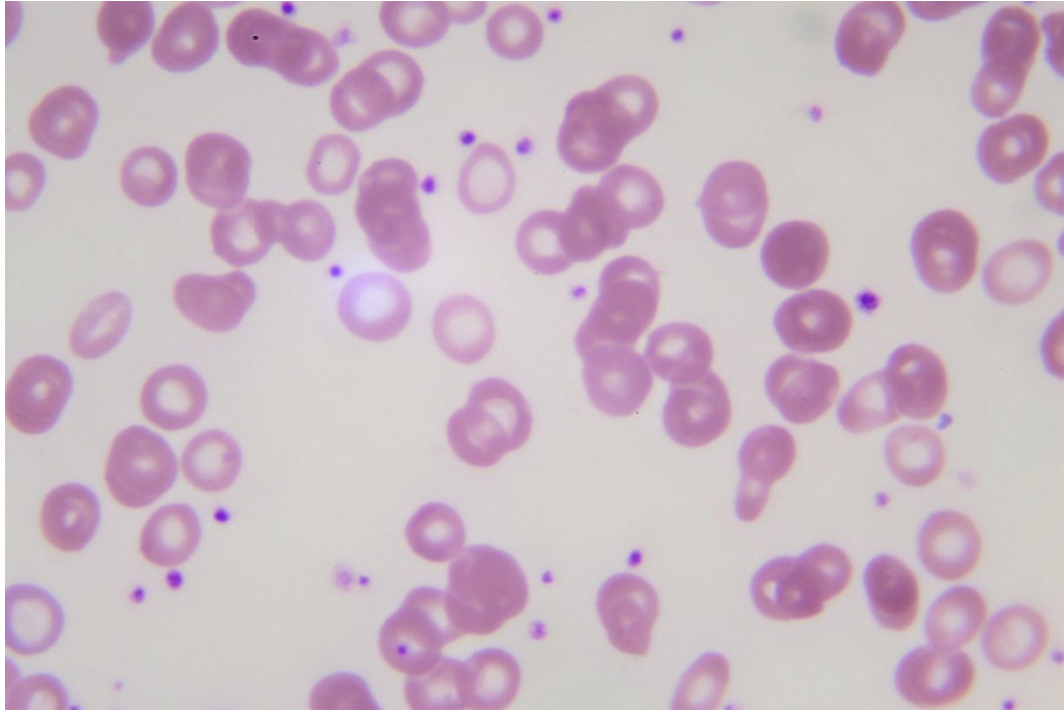
Tvarů, kterých mohou erytrocyty nabývat, je mnoho. Tvar se může lišit v porovnání s normocytem celkově anebo tvarem terčíku.

Odchylky tvaru s kulatým terčíkem

Planocyty – velice tenké erytrocyty, které mají nižší MCV než normocyty, ale MCD (střední průměr erytrocytů) mají shodné s normocyty.

Anulocyty – erytrocyty s velmi nízkým obsahem hemoglobinu, který bývá uložen na obvodu v podobě prstence. Střed červené krvinky je poměrně rozsáhlý a působí prázdně, jak je patrné na následujícím obrázku (Obr. 1). Jejich MCV je výrazně nižší, ale MCD² může být shodný s normocyty nebo jeho hodnota může být i nižší.

² MCD – střední průměr erytrocytu



Obr. 1: Anulocyty (fotografie autorky)

Leptocyty – opět se jedná o tenké červené krvinky, které jsou chudé na hemoglobin, ten je uložen nejen na obvodu, ale i v centru červené krvinky. Díky tomu nabývají tvaru mexického klobouku.

Sférocyty – tvarem připomínají bochánek, jsou kulovitěho tvaru. Jejich tloušťka je větší, a to okolo 3 μm , ale jejich průměr je menší než 6,7 μm . Vzhledem ke své tloušťce se barví do tmavších hnědočervených odstínů. Sférocyty mají sníženou životnost a brzy dochází k jejich zachycení ve slezině, kde jsou fagocytovány. Pokud jich je vzhledem k celkovému počtu hodnocených erytrocytů více než 10 %, označuje se tento stav jako sférocytóza.

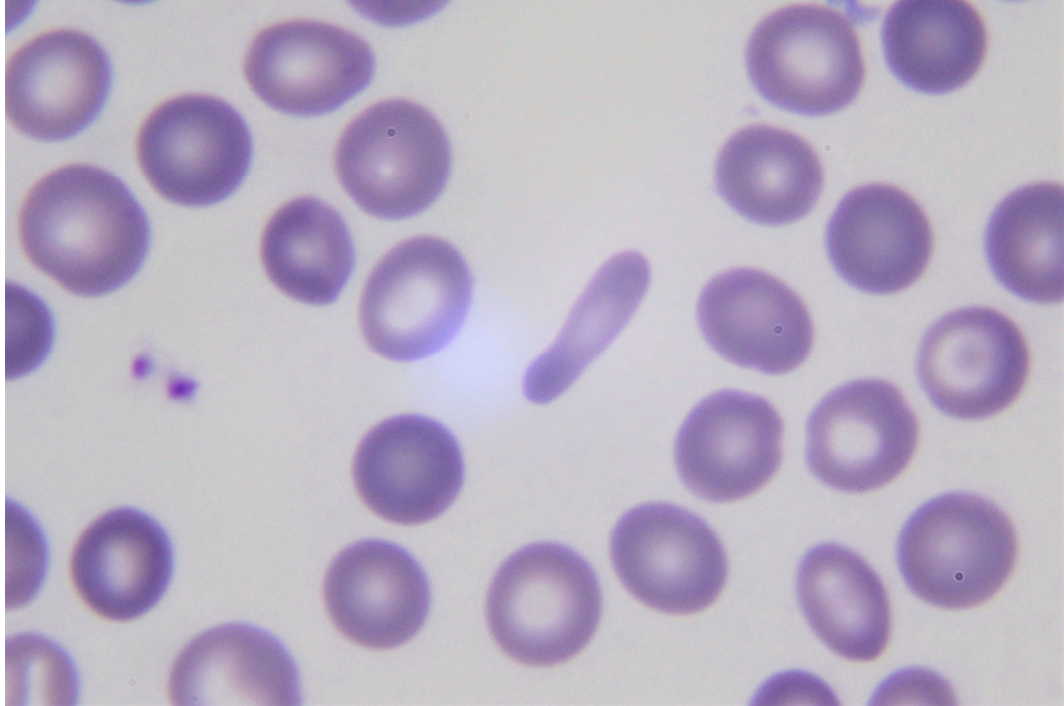
Achromocyty – jejich zbarvení je světle narůžovělé, dochází pouze k obarvení jejich membrán, protože se membrána buňky stala propustnou pro hemoglobin (došlo k jeho vyplavení – zůstal pouze v její membráně). Pokud se v erythrocytech nachází retikulo-filamentozní substance, pak se označují jako achromoretikulocyty. V zahraniční literatuře jsou tyto buňky označovány jako „ghost cell“, což vystihuje konečný stav červené krvinky. Anglický název by se dal přeložit jako buněčný duch. (Hoffman, 1992; Pecka, 1995; Pecka, 2006; Bain, 2004; Popis červené řady, 2018)

Jiný tvar terčíku a erytrocytu

Drepanocyty – úzké, měsíčkovité až srpkovité erytrocyty. Změna je vyvolána polymerací srpkovitého hemoglobinu vrozené srpkovité anemie. K mutaci hemoglobinu dochází v 6. sekvenci β -globinového řetězce, která způsobuje změnu hemoglobinu v HbS. Změna je patrná hlavně při nedostatku kyslíku, kdy se pozmění uspořádání molekuly HbS. Následkem této změny je změna ve tvaru erytrocytu. Buňky jsou poté protáhlé, mohou se na nich vyskytovat nepravidelné trny a svým tvarem připomínají listy cesmíny. (Beutler et al, 1995, Pecka, 2006)

Poikilocyty – takto se označují erytrocyty s různými tvary. Často nabývají tvaru kapky nebo hrušky. Jako poikilocytózu označujeme vzorky, u kterých se vyskytuje více než 10 % změněných erytrocytů. (Beutler et al, 1995, Bain, 2004; Pecka, 2006)

Ovalocyty, eliptocyty – jsou červené krvinky oválného a elipsovitého tvaru. Ovalocyty se od eliptocytů liší v jejich délce a šířce elipsy. Pokud je jejich délka větší než dvojnásobek šířky, jsou buňky zařazovány mezi eliptocyty. Jestliže je menší než dvojnásobek, jedná se o ovalocyty. Eliptocyty na rozdíl od drepanocytů nemají zašpičatělé konce, jak je vidět na dalším obrázku (Obr. 2). Opět pokud se vyskytují ve vzorku v 10 % a více, označuje se tento stav jako ovalocytóza nebo eliptocytóza. (Beutler et al, 1995, Bain, 2004; Pecka, 2006)



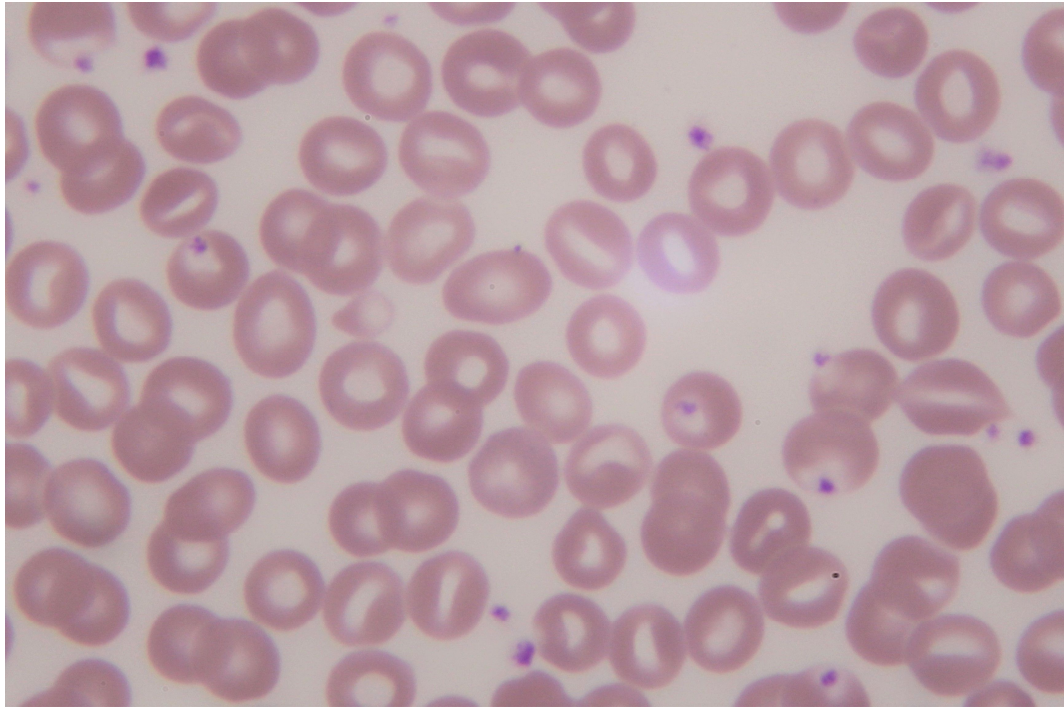
Obr. 2: Eliptocyt (fotografie autorky)

Echinocyty – červené krvinky, které mají na svém povrchu krátké zakulacené výběžky, které jsou rovnoměrně rozmístěné na povrchu červené krvinky. Echinocyt se vyvíjí z vrubovaného disku na vrubovanou kouli, kdy svým vzhledem připomíná ježka. Vyskytuje se u onemocnění, jako je uremie, deficit pyruvátkinázy, rakovina žaludku a krvácející peptický vřed, ale také se může vyskytovat jako artefakt. (Beutler et al, 1995, Bain, 2004; Pecka, 2006)

Akantocyty – na rozdíl od předchozího, jsou na povrchu erytrocytů trnovité výběžky. Akantocyty se tvoří ze zdravé červené krvinky za podmínek, které změni obsah lipidů v membráně. V případě, že dochází ke ztrátě glycerofosfolipidů, zvýší se podíl sfingomyelinů. Jakmile dojde k této změně, nelze ji vrátit zpět. Akantocyty se významně vyskytují u pacientů s hepatocelulárním onemocněním a s abetalipoproteinemií, u kterých je pozmeněn poměr cholesterolu a lecitinu v membráně. Jako akantocytóza je označován stav, při kterém se vyskytuje více než 10 % takto pozmeněných erytrocytů. (Beutler et al, 1995, Bain, 2004; Pecka, 2006)

Stomatocyty – červené krvinky, které evokují svým tvarem kávové zrna. Střed červené krvinky již nemá kulatý tvar, ale podobu štěrbinu, jak je vidět na dalším obrázku (Obr. 3). Dochází u nich k poškození membrány, což má za následek změnu

její propustnosti a zvýšení objemu erythrocytu. Červená krvinka díky tomu ztrácí bikonkávní tvar. Jako stomatocytóza je označován stav, kdy se vyskytují stomatocyty alespoň v 10 %. Může se vyskytovat buď vrozená nebo získaná stomatocytóza. (Pecka, 2006; Stomatocytes, © 2001-2017)



Obr. 3: Stomatocyty (fotografie autorky)

Dakryocyty – mají jedno prodloužení nebo mají jedno špičaté zakončení. Typicky se nacházejí u pacientů trpících fibrózou kostní dřeně a často doprovázejí i extramedulární hemopoézu a talasemii. Svým tvarem připomínají slzy, a proto bývají rovněž nazývané jako slzovité erythrocyty. (Beutler et al, 1995, Pecka, 2006)

Keratocyty – rohovité erythrocyty, mohou mít buď jeden, nebo až čtyři drobné výběžky. Tvarem se podobají kočičí hlavě. Vznikají prasknutím pseudovakuol a jejich spojením s membránou. Tím dochází k vynechání dvou částí membrány v blízkosti sebe a poté dojde k spojení membrán, což má za následek vznik rohaté buňky. Na rozdíl od schistocytů není u nich snížen obsah hemoglobinu nebo jen nepatrně. Objevují se například u disseminované intravaskulární koagulace. (Beutler et al, 1995; Bain, 2004)

Schistocyty – nejedná se o červené krvinky v pravém slova smyslu, ale o pouhé úlomky červených krvinek, které vznikají nejčastěji mechanickým poškozením

membrány fibrinovými vlákny. Také ale mohou vzniknout při rychlém turbulentním proudění při abnormalitách kardiovaskulárního systému. Schistocyty jsou vždy menší, bez centrálního projasnění, jedná se o útržky s ostrými vrcholy. Celkově svým tvarem připomínají trojúhelník. U některých schistocytů mohlo dojít k zakulacení na jedné straně a poté je jejich tvar označován jako mikropůlměsíc. Zde je nutné odlišit, zda se jedná o schistocyty, nebo o drepanocyty, které jsou typické pro srpkovitou anémii. U schistocytů může nastávat projasnění díky ztrátě hemoglobinu při jejich fragmentaci, ale také se mohou barvit tmavě. Mezi schistocyty jsou řazeny i tzv. helmovité erythrocyty. Jedná se o erythrocyty s rovnými hranicemi a s ostrými hranami zakřivení, u kterých došlo k odstranění části buňky. Hodnotí se počet schistocytů na tisíc erythrocytů. Nacházejí se hlavně u mikroangiopatické hemolytické anémie, vážných popálenin a při hemolýze po nahrazení srdeční chlopně. Za klinicky významný se považuje počet schistocytů 10/1000 erythrocytů a vyšší. (Juráňová, Mikulenková 2014; Beutler et al, 1995)

1.4.3 Inkluze v červených krvinkách

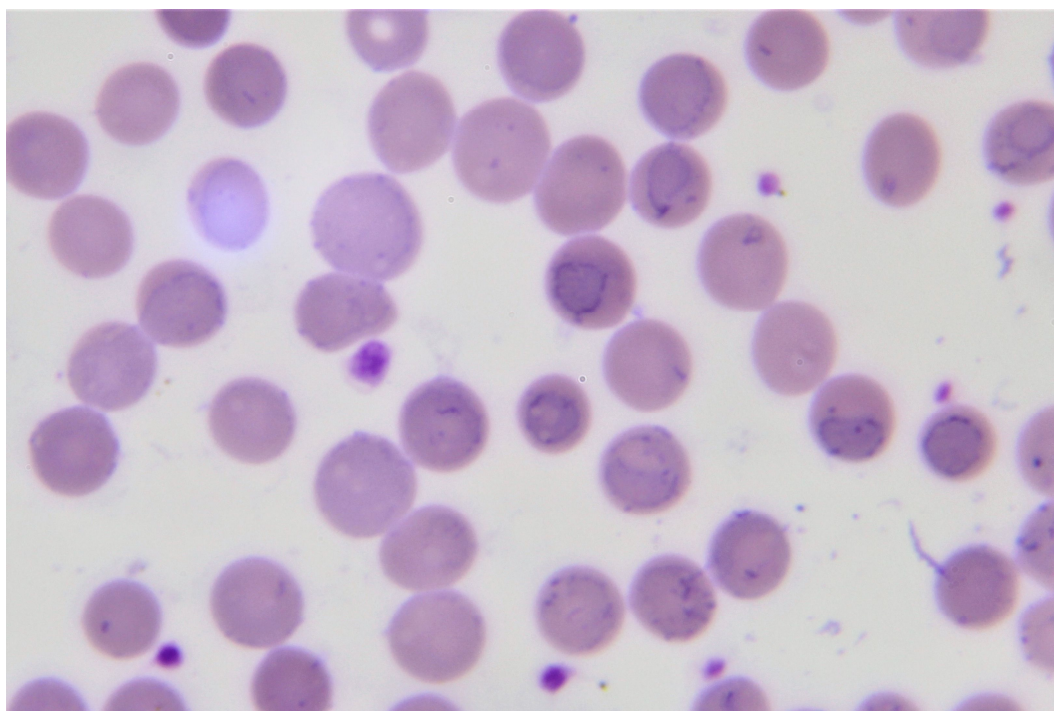
Howell-Jollyho tělísko – jde o malý zbytek jádra, obvykle se vyskytuje v buňce pouze jedno. V některých případech představují chromozomy, které byly odděleny z mitotického vřeténka během abnormální mitózy. Běžnější je, že během zrání vzniknou z fragmentu jádra nebo neúplným vypuzením jádra. Charakteristicky se vyskytují u pacientů po odebrání sleziny a také u lidí postižených hemolytickou anémií, megaloblastovou anémií a u hyposplenických stavů. (Beutler et al, 1995)

Cabotovy prstence – tenké kruhovitě vlákno, občas se stáčí do tvaru osmičky. Prstence se tvoří ze zbytků jaderné membrány erythroblastů a barví se purpurově. Nacházejí se v retikulocytech při megaloblastové anémii, u těžkých anemií, při dyserythropoeze. (Beutler et al, 1995; Penka et al., 2011)

Heinzova tělíska – jsou tvořena denaturovanými proteiny hemoglobinu. Může být přítomno jedno tělísko, ale i několik. Tělíska se nachází na okraji buňky. Dochází k tomu při narušení glykolytických enzymů, které nejsou schopné zamezit oxidaci ribozomů. Vyskytují se v nátěru krve pacientů trpících talasemií, hemolytickou anémií

způsobenou defektem glukózo-6-fosfátdehydrogenázy a u pacientů po splenektomii³. (Beutler et al, 1995; Fenclová, 2004; Penka et al., 2011)

Bazofilní tečkování – v buňce je pozorováno jako několik teček, které mohou být různě velké, jak je možno vidět na následujícím obrázku (Obr. 4). Shluky vznikly ze zbytků ribozomů, ale také mohou obsahovat zbytky mitochondrií a siderosomy. Vyskytuje se při poruše tvorby hemoglobinu – při otravě olovem, jiných intoxikacích, myelodysplastickém syndromu, talasemii a megaloblastových anemiích.



Obr. 4: Bazofilní tečkování (fotografie autorky)

Pappenheimerova tělíska – jsou to drobná tmavá granula, která obsahují železo. Vyskytují se buď jednotlivě, nebo mohou být i početnější a vytvářejí železité micely v mitochondriích nebo i v ribozomech. Jeden z předpokladů jejich vzniku je, že vznikají při rychlém dělení červených krvinek nebo při narušení syntézy hemoglobinu. Barví se na červenofialovou barvu. (Beutler et al, 1995; Pappenheimer Bodies, Copyright ©2001 - 2018)

³ Chirurgické odstranění sleziny

1.4.4 Jiné změny červených krvinek

Penízkovatění červených krvinek (roulleaux) – jedná se o abnormalitu rozmístění červených krvinek. Červené krvinky nejsou pravidelně rozmístěné v preparátu, ale skládají se přes sebe, a to i v tenkém místě nátěru.

Tato abnormalita může nastat, pokud dojde ke zvýšení vysokomolekulární hmotnosti proteinů plazmy. To má dopad na elektrický náboj na povrchu červených krvinek a buňky tvoří sloupečky, připomínající hromádku mincí. Nález je typický pro mnohočetný myelom (Pecka, 1995; Bain, 2004).

1.4.5 Aglutinace

Jako aglutinace se označuje stav, při kterém dochází k tvorbě shluků červených krvinek. Na rozdíl od penízkovatění jsou tyto shluky nepravidelné a daly by se připodobnit k chuchvalci. Aglutinace se obecně rozlišuje na přímou a nepřímou, ale v krvi může nastat pouze přímá aglutinace. Červené krvinky vytvářejí shluky pomocí specifických protilátek navázaných na povrchové antigenní složky. U červených krvinek nastává aglutinace při autoimunní hemolytické anemii, při potransfuzní hemolytické reakci a při hemolytickém onemocnění novorozenců.

Aglutinace u červených krvinek může nastat i díky jiným látkám než jsou protilátky, jako jsou rostlinné proteiny, viry, soli těžkých kovů, anorganické koloidní kyseliny nebo zásady a proteiny, jako jsou protaminy a histony. (Stavitsky, 1998; Penka, 2011; Ryu, 2017)

1.5 Charakteristika vybraných onemocnění

Jak již bylo v práci dříve uvedeno, morfologie erytrocytů je jeden z významných znaků, který pomáhá určit diagnózu, a nelze ho proto při posuzování nebrat v úvahu. Níže jsou popsána některá onemocnění, u kterých je posouzení morfologie erytrocytů jedním z klíčových ukazatelů pro jejich určení.

1.5.1 Sideropenická anémie

Sideropenie (nedostatek železa) a sideropenická anémie (anémie způsobená nedostatkem železa) jsou u nás nejčastěji se vyskytující anémie, a to jak u dětí, tak i u dospělých jedinců. Tato anémie je způsobena nedostatkem železa v organismu. Nedostatek železa může nastat z mnoha příčin, např. rychlý růst u dětí, nedostatečný přívod železa ve stravě, patologické ztráty, neschopnost nebo snížená schopnost vstřebávání železa trávicím traktem a další. Příčin, které způsobují tento typ anémie, je mnoho, proto je důležité odhalit, z jakého důvodu k ní došlo, a nejen léčit následek. Nedostatek železa nezpůsobuje jen narušení funkce krve, ale postihuje celý organismus, protože železo je součástí enzymů a koenzymů, které regulují řadu metabolických dějů.

Nedostatek železa dělíme do tří stupňů:

Prelatentní sideropenie – pozvolna dochází ke snižování zásob železa, ale v tomto stádiu není ovlivněna krvetvorba

Latentní sideropenie – rezervy železa organismu jsou již spotřebovány, následkem je snížení dodávky železa pro tvorbu červených krvinek, ale není přítomna anémie

Sideropenická anémie – vznik chudokrevnosti z nedostatku železa

Příznaky nedostatku železa jsou velmi nenápadné a často jsou přisuzované běžným obtížím. Patří mezi ně na příklad: únava, podrážděnost, bolest hlavy, bledost kůže a sliznic, poruchy koncentrace, až po ty méně obvyklé, jako je pika. Pika se projevuje tak, že jedinec pojídá neobvyklé věci, jako je hlína, omítka anebo škrob. Dále může docházet k narušení imunity a následně k vyšší náchylnosti k infekcím, může se také objevit úplné vyhlazení jazyka a u dětí porucha růstu a mentálního vývoje.

Nedostatek železa se zjišťuje laboratorně z plné krve. Nejprve se objevuje normocytární anémie, a pokud dojde ke snížení hemoglobinu pod 110 g/l, objevuje se mikrocytóza a hypochromie. U pacientů s pokročilou sideropenií je diagnostikována hypochromie a anizocytóza, což se odráží i na hodnotě RDW, která je zvýšená. Naopak hodnoty hemoglobinu, MCV a MCH jsou pod referenčními hodnotami. Mohou se ve vzorku objevit i anulocyty. Další laboratorní vyšetření zjistí sníženou hodnotu

plazmatického železa, zvýšenou celkovou kapacitu pro železo a sníženou hodnotu sérového feritinu.

Léčba sideropenie a sideropenické anemie by měla mít základ v zjištění a odstranění příčiny jejího vzniku a následně doplnění železa pomocí farmakologických preparátů. (Friedmann, 1994; Penka, et al., 2001; Vydra a kol., 2015)

1.5.2 Makrocytová anemie, megaloblastová anemie

Makrocytová anémie může vznikat z mnoha příčin a skrývá v sobě širokou skupinu onemocnění krvinek a kostní dřeně. Projevuje se výskytem abnormálně velkých červených krvinek v periferní krvi. Pro diagnostiku makrocytové anemie je důležitý MCV⁴. Referenční hodnoty MCV jsou stanoveny mezi 82 až 98 fl, u nemocného makrocytovou anémií jsou výsledky MCV nad horní hranicí. Mezi běžné příčiny jsou zařazovány nedostatek vitamínu B₁₂ anebo kyseliny listové. Obě látky se podílejí na syntéze DNA buněk. V důsledku nedostatku jedné nebo obou látek dochází u erytrocytů k opožděnému vyžrávání jádra. Jádro působí krajkovitě, je méně hutné a méně kompaktní se síťovitou strukturou chromatinu. Buňky jednotlivých stádií hemopoézy obsahují více cytoplazmy a jsou větší. Celkově nabývají erytrocyty oválného tvaru. V periferní krvi pozorujeme makrocyty a megalocyty (označení pro makroovalocyty). (Penka a Tesařová, 2011; Aslinia, Mazza, Yale, 2006; Vydra a kol., 2015)

Nedostatek vitamínu B₁₂ a kyseliny listové může mít několik příčin. Základní rozdělení příčin je na nedostatečný přísun v potravě, nebo narušené vstřebávání. Nedostatečný přísun vitamínu B₁₂ v potravě je především u veganů a přísných vegetariánů, protože hlavním zdrojem vitamínu B₁₂ v lidské stravě je maso. Daleko častější příčinou nedostatku vitamínu B₁₂ je jeho narušené vstřebávání. Nedostatek kyseliny listové nejčastěji bývá způsoben jednostrannou dietou s nedostatkem zeleniny. Často se vyskytuje u alkoholiků. Porucha vstřebávání vitamínu B₁₂ je nejčastěji vyvolána autoimunní reakcí, kdy je díky působení autoprotilátek zabráněno vstřebávání vitamínu B₁₂. Autoprotilátky jsou namířeny proti parietálním buňkám žaludeční sliznice

⁴ MCV průměrný objem erytrocytů

a/nebo proti vnitřnímu faktoru, což je látka, která se váže na vitamín B₁₂ a je nezbytná pro vstřebávání vitamínu B₁₂ z potravy. Výsledkem působením autoprotilátek je atrofická gastritida s achlorhydrií⁵ a doživotní neschopnost vstřebávat vitamín B₁₂. Onemocnění se nazývá perniciózní anemie. Vzácnější příčinou nedostatku vitamínu B₁₂ jsou stavy po odstranění střeva v oblasti terminálního ilea, ve kterém se vitamín B₁₂ vstřebává. Porucha vstřebávání kyseliny listové je vzácnější, může být způsobena vzácnými vrozenými poruchami, odstraněním jejunu, některými střevními nemocemi (nejčastěji Crohnova nemoc), přispívá k ní achlorhydrie a alkoholismus. Vitamín B₁₂ si na rozdíl od kyseliny listové tělo umí uložit do zásoby, proto při narušení jeho vstřebávání se obtíže vyskytují poměrně po dlouhé době, kdy dojde k vyčerpání zásob.

Jinými příčinami makrocytové anemie mohou být myelodysplastický syndrom, onemocnění jater, vrozené hemolytické anemie, autoimunní hemolýza a další. (Friedmann, 1994; Pecka, 2006; Penka a Bulíková, 2009; Penka et al., 2011; Vydra a kol., 2015)

1.5.3 Talasemie

Talasemie patří mezi nejrozšířenější poruchy krve na světě, největší frekvence je ve Středomoří, na Středním východě a v jihovýchodní Asii. Lehké formy talasemie se vyskytují i v České republice. Nejen díky měnící se skladbě obyvatelstva, ale také díky lepším a důkladnějším metodám analýzy se frekvence výskytu zvyšuje. Toto onemocnění je geneticky podmíněné a jedná se o autosomálně recesivní onemocnění. Talasemie se primárně rozlišuje na alfa a beta talasemii, podle toho, která tvorba řetězce je poškozena. U alfa talasemie dochází k poruše syntézy alfa globinového řetězce a u beta talasemie k nesprávné tvorbě beta globinového řetězce. Pro každý typ talasemie byla popsána řada mutací, které onemocnění vyvolávají. Vedle těchto existují i vzácnější formy talasemií.

U alfa talasemie může nastat i tzv. tiché nosičství, kdy je narušen pouze jeden gen ze čtyř pro tvorbu α -řetězce. Jak již název napovídá, talasemie tohoto typu je téměř

⁵ Achlorhydrie – kyseliny chlorovodíkové není přítomna v žaludečních šťávách

bezpříznaková, jediné, co se u této poruchy vyskytuje, je mikrocytóza, ale bez anemie. Další je alfa-talasemie minor, ta nastává při mutaci dvou genů pro syntézu α -řetězců. U postižených jedinců se zjišťuje mikrocytóza, hypochromie a mírná anémie. Dále je to choroba hemoglobinu H - jsou poškozeny již tři geny pro syntézu α -řetězců, což má za následek vznik hemoglobinu H (β_4). Tento typ hemoglobinu se vyznačuje nestabilitou a způsobuje rychlejší zánik erytrocytů.

Choroba hemoglobinu Barts (dominantní alfa talasemie) – vyskytuje se pouze ve fetálním období, protože jejím hlavním znakem je, že zde není přítomen ani jeden ze čtyř genů pro vytvoření alfa hemoglobinu. Díky této chybě vzniká tzv. hemoglobin Barts, který má vysokou afinitu ke kyslíku (silně se váže s kyslíkem, a následně ho nechce uvolňovat do tkání). Postižený plod trpí vážnou anémií, ascitem⁶, různými kosterními a kardiovaskulárními malformacemi, častý je hydroks plodu a další patologie. Tento stav je zcela neslučitelný se životem, a proto dochází k úmrtí plodu ve 24. až 34. týdnu těhotenství.

U lehkých forem bývá přítomna mikrocytóza a hypochromie různého stupně, může se objevit i anizocytóza, leptocyty a bazofilní tečkování. (Penka et al., 2001; Pecka, 2006; Galanello a Origa, 2010; Galanello a Cao, 2011; Hemoglobin Bart's..., 2013)

U beta talasemie se rozlišují tři hlavní formy, a to talasemie major, talasemie intermedia a talasemie minor. Struktura vzniklých řetězců je v pořádku, ale dochází ke snížené tvorbě β -řetězců, zvýšené syntéze zbylého řetězce alfa a k nedostatečné tvorbě hemoglobinu v buňce. Závažnost talasemie je daná podle stupně nevyvážené tvorby alfa a beta řetězců. Nevyvážená tvorba alfa a beta globinového řetězce vede k precipitaci nespojených nadbytečných α -globinových řetězců. To vede k poškození membrány a likvidaci červené krvinky již v kostní dřeni nebo ve slezině. Postižená je i tvorba a přežívání erytroidních prekurzorů (tzv. inefektivní erytropoéza). Obecně se onemocnění vyznačuje různě závažnou hypochromií a mikrocytární anémií. Na rozdíl od sideropenické anemie je u talasemie výrazná mikrocytóza a hypochromie erytrocytů, jen lehká anemie a nebývá sideropenie.

⁶ Hromadění tekutiny v břišní dutině

Příznaky talasemie major se objevují již během prvních dvou let života a rozvíjí se v život ohrožující anemie. Mezi příznaky patří zpomalený růst a vývoj, zažloutlá kůže i oční bělmo. Pravidelně se vyvíjí hepatosplenomegalie postižených jedinců a i jejich kosti mohou být deformované (jsou zmiňovány hlavně deformace dlouhých kostí a lebky). U dospívajících může docházet k opoždění puberty. Hematologickými znaky nacházenými v periferní krvi jsou závažná mikrocytóza, hypochromie, nízký MCV a hemoglobin, anizocytóza, leptocyty, Howellova-Jollyho tělíka, bazofilní tečkování, poikilocytóza a erytroblasty.

U talasemie intermedia není průběh takto dramatický. Příznaky se objevují buď v dětství, nebo v průběhu života. Pacienti mají často různorodé symptomy. Mezi základní symptomy patří mírná anemie, zpomalený růst, bledost, žloutenka, zvětšení jater a sleziny, osteoporóza, změny skeletu a hyperkoagulační stav.

U talasemie minor jsou její nosiči obvykle asymptomatictí, ale někdy se u nich může objevit mírná anemie. Diagnostikování jedinců s onemocněním je často náhodné při nalezení nápadné mikrocytózy a hypochromie erytrocytů. Nebezpečné u této skryté talasemie je, že pokud by oba rodiče byli jejími nosiči, pak se s každým těhotenstvím zvyšuje pravděpodobnost vzniku talasemie major u jejich dítěte. (Penka et al, 2001; Cao a Galanello, 2010; Galanello a Origa, 2010; Vydra et al., 2015)

1.5.4 Mikroangiopatické hemolytické anémie (MAHA)

Nejedná se o jediné onemocnění, ale o celou skupinu onemocnění, která se projevují intravaskulární hemolýzou v mikrocirkulaci. K hemolýze dochází díky mechanickému poškození červených krvinek, ke kterému dochází díky překážkám v podobě mikrotrombů a fibrinových vláken v arteriolách a vlásečnicích. Tyto překážky změny průsvitu cévy. Při průchodu červené krvinky změněnou arterioulou nebo vlásečnicí dochází k její fragmentaci, protože červená krvinka je sice velmi dobře stlačitelná, ale nedokáže se provléknout mezi překážkami při silném toku krve. Fibrinová vlákna lze přirovnat k nožům, které rozkrájí červené krvinky na nepravidelné úlomky s ostrými okraji, a je narušena jejich deformovatelnost. Během jejich fragmentace samozřejmě dochází k úniku části hemoglobinu do krve, který může způsobit růžové zabarvení

plazmy. Úlomky červených krvinek se označují jako schistocyty. Proces se nazývá jako intravaskulární hemolýza. Při laboratorním vyšetření bývá zjištěno: zvýšená laktátdehydrogenáza (LD), zvýšený počet retikulocytů, snížený až neměřitelný haptoglobin, zvýšené schistocyty – 10/1000 erytrocytů a vyšší, negativní přímý i nepřímý Coombsův test. (Friedmann, 1994; Penka et al, 2001; Zieg et al, 2011; Juráňová, Mikulenková 2014)

Do této skupiny onemocnění zařazujeme:

- Hemolyticko-uremický syndrom (HUS) a atypický hemolyticko-uremický syndrom (aHUS)
- Trombotická trombocytopenická purpura (TTP)
- HELLP syndrom
- Katastrofický antifosfolipidový syndrom
- Sekundární MAHA

Hemolyticko-uremický syndrom (HUS) – objevuje se převážně u zdravých dětí do jednoho roku až dvou let života, které prodělaly průjemové onemocnění vyvolané enterohemoragickými kmeny *Escherichia coli*, které jsou schopné produkovat shiga toxin. Druhou možností, kdy může dojít k vyvolání HUS, je při pneumokokových infekcích. Tato varianta má závažnější průběh a prognózu. Pro vznik HUS je důležité, aby došlo k poškození endotelu ledvin. K jeho poškození dochází právě díky toxinu shiga, který se zachycuje na endotelu střevních buněk, poté je krevním oběhem transportován na endotelové buňky ledvin. Zde navozuje apoptózu a zánětlivé změny buněk a následuje agregace destiček. Výsledkem dějů je tvorba mikrotrombů a akutní selhání ledvin. Z hematologického laboratorního hlediska je patrný pokles hemoglobinu pod 100g/l, často mohou být hodnoty dokonce pod 60g/l. Zjištěna je i trombocytopenie s hodnotami menšími než $150 \times 10^9/l$. V nátěru bývá zvýšený počet schistocytů (10/1000 erytrocytů a více). (Friedmann, 1994; Penka et al, 2001; Zieg et al, 2011)

Vedle toho existuje vzácnější atypický hemolyticko-uremický syndrom (aHUS) vyvolaný vrozenou nebo získanou poruchou regulace alternativní cesty aktivace

komplementu ve prospěch aktivace, který se vyskytuje u dětí i dospělých. (Ryšavá, 2017)

Trombotická trombocytopenická purpura (TTP) – charakteristická je přítomnost vysokomolekulárních forem von Willebrandova faktoru (vWF), které aktivují a shlukují trombocyty. Polymery von Willebrandova faktoru jsou vylučovány endoteliálními buňkami a za běžných podmínek jsou tyto polymery štěpeny proteázou ADAMTS13. Vzniklé polymery vWF se rozbalují jen při kontaktu s kolagenem na poškozené buňce. Pokud je ale nedostatek proteázy ADAMTS13, vznikají nezvykle velké multimery vWF, které se v proudu krve samovolně rozbalují a aktivují agregaci destiček a způsobují mikrotrombotizaci, trombocytopenii a mikroangiopatickou hemolýzu. Syndrom není typický pro některou věkovou skupinu a vyskytuje se v jakémkoliv věku. Může být vrozený, častěji však je získaný jako autoimunní onemocnění. Projevuje se mnoha příznaky, které se navzájem sdružují. Mezi nejvýznamnější patří neurologické poruchy, které jsou spojeny s nedostatečným prokrvováním mozku, dále hemolytická anemie, trombocytopenie, většinou mírné postižení ledvin. TTP je závažné onemocnění, které bez léčby téměř vždy končí smrtí. Opět důležitým diagnostickým znakem je zvýšený počet schistocytů v nátěru periferní krve (10/1000 erytrocytů a více). Léčba onemocnění spočívá v opakovaných léčebných plazmaferézách s plazmou. (Penka et al, 2001; George, 2011; Lechner a Obermeier, 2012; Penka, Tesařová et al., 2011; Indrák et al., 2015; Vydra, Cetkovský et al., 2015)

HELLP syndrom – jedná se o multisystémové onemocnění postihující celý organismus těhotných žen. Bylo zjištěno, že syndrom více postihuje starší vícerodíčky ve třetím trimestru. Syndrom bývá spojován s preeklampsií a eklampsií, ale může být diagnostikován i bez těchto poruch. Při syndromu jsou ženy postiženy hemolýzou a trombocytopenií a mají zvýšené jaterní testy. Během gravidity nastávají příhodné podmínky pro vznik MAHA. Tělo matky musí čelit mnoha změnám a setkává se cizorodými buňkami. Mezi brzké, citlivé markery HELLP syndromu patří pokles hemoglobinu a vzrůst nekonjugovaného bilirubinu. Následuje destrukce krevních destiček a vznik trombocytopenie. Pokud jejich počet klesne pod $50\,000/\text{mm}^3$, může se uvažovat o spojení s DIC. Mezi dominantní projevy patří poškození jater a zvýšené jaterní enzymy. MAHA se nemusí rozvinout. Jedním z léčebných opatření je urychlený porod, po kterém se stav většinou rychle vrátí do normálního stavu. (Mihu et al. 2008)

Katastrofický antifosfolipidový syndrom – spojený s MAHA. Vyskytuje se našťastí vzácně, jeho průběh je ve většině případů zakončen smrtí. Při katastrofickém antifosfolipidovém syndromu dochází k tvorbě sraženin v mnoha orgánech, které vedou k selhání organismu. Toto dramatické onemocnění bývá často vyvolané léky nebo infekcí. Pro laboratorní určení je nutné nalézt antifosfolipidové protilátky. Častěji se vyskytuje antifosfolipidový syndrom bez přítomnosti MAHA. Onemocnění patří mezi autoimunitní onemocnění, které je sice také závažné, ale jeho léčba je více úspěšná. Může doprovázet řadu nemocí, a jeho projevy jsou různorodé. Pro potvrzení antifosfolipidového syndromu je důležité, aby byl nalezn klinický příznak například trombózy, preeklamsie a jiné, a rovněž musí být pozitivní antifosfolipidové protilátky minimálně dvakrát v rozmezí 12 a více týdnů maximálně, ale do pěti let. Pokud se objeví v průběhu gravidity, stává se závažným problémem, kdy zvyšuje šanci vzniku HELLP syndromu. (Hluší a Krčová, 2003; Buliková a Penka, 2006; Nytrová et al., 2009)

Sekundární MAHA – její výskyt je spojen s nádorovým onemocněním (hlavně u nádorů trávicího traktu, prsu, plic a prostaty) a jedná se o významnou komplikaci ve většině případů končící úmrtím pacienta. Často je spojována s trombocytopenií. Při sekundární MAHA dochází ke vzniku mikrovaskulární trombózy v různých orgánech. Při její diagnostice je zjištěna hemolytická anemie, která je spojena s výskytem schistocytů a trombocytopenie, přitom Coombsův test je negativní. Důležitá je rychlá diagnostika a zahájení léčby, která spočívá v podání transfuzních přípravků, výměnných plazmaferézách a podávání chemoterapeutik. (Penka et al, 2001; George, 2011; Lechner a Obermeier, 2012; Indrác et al., 2015)

1.5.5 Polycytemia vera

Patří mezi myeloproliferativní onemocnění, které je způsobené klonálním postižením kmenové hematopoetické buňky, kdy dochází k nekontrolované nadměrné tvorbě především erytrocytů, mohou však být zmnoženy i trombocyty a neutrofilů. Samozřejmě musí se jednat o absolutní zvýšení celkové erytrocytární hmoty. Vyvolané příznaky onemocnění jsou způsobené zvýšenou viskozitou krve, které vedou k narušení cirkulace krve. Zvětšený objem krve způsobí rozšíření cév a zpomalení toku krve.

Pokud krev proudí pomaleji, je i orgánům pomaleji dodáván kyslík a následkem toho je hypoxie⁷. Proto mezi obvyklé obtíže patří bolest hlavy, závratě, porucha zraku nebo také problémy s trávením. Pomalá cirkulace umožňuje vznik sraženin a tím pádem i vznik infarktu nebo mrtvice. Při rozboru krve bývá zjištěno: hemoglobin u mužů překračuje 185 g/l, u žen 165 g/l, hematokrit převyšuje hranici u žen 0,47 a u mužů 0,50. Často se při záchytu onemocnění zjistí hodnoty mnohem vyšší - hemoglobin kolem 200 g/l, hematokrit přesahující 0,60. Hodnoty MCV, MCH a MCHC jsou na počátku onemocnění v normě a ani morfologie červených krvinek na počátku není změněná. S rozvojem onemocnění se objevuje anizocytóza, ovalocyty, poikilocyty a u některých pacientů mohou být v periferní krvi i normoblasty. Mohou být zvýšené neutrofilní granulocyty a krevní destičky, které v některých, ne zcela výjimečných případech, mohou být více než $1000 \times 10^9/l$. Více než 95 % pacientů s polycytemia vera mají získanou somatickou mutaci V617F v genu pro Janus kinasu 2 nebo mutace v exonu 12 genu pro Janus kinasu 2. To se dnes využívá k diagnostice onemocnění. (Friedmann, 1994; Adam a Vorlíček, 2001; Penka et al., 2011; Haferlach et al., 2014)

1.5.6 Primární myelofibróza

Primární myelofibróza se zařazuje mezi myeloproliferativní onemocnění, které je charakterizováno především vývojem fibrózy kostní dřeně. Základním rysem onemocnění je mutace pluripotentní kmenové buňky. Často se vyskytuje mutace genů JAK2, MPL, CARL a TET2, které rovněž mohou napovědět o průběhu onemocnění. Výsledkem mutací je klonální růst abnormálních megakaryocytů. Ty jsou také hlavním diagnostickým znakem při vyšetření kostní dřeně. Megakaryocyty jsou ale nestálé, předčasně se rozpadají a do kostní dřeně se zvýšeně vyplavují destičkové růstové faktory a destičkový faktor 4. Předpokládá se, že právě tyto faktory způsobují produkci kolagenu a následně fibrózu kostní dřeně.

Onemocnění se dá rozdělit do dvou období, a to na prefibrotické období a fibrotické období. Prefibrotické období se vyznačuje hypercelulární kostní dřeniní, bývají zmnoženy

⁷Hypoxie – nedostatek kyslíku ve tkáních

hlavně abnormální megakaryocyty a granulocytární řada. V prefibrotickém období se většinou nevyskytuje zvětšení sleziny ani jater nebo je jen mírné. Červený krevní obraz krve je necharakteristický, nejsou přítomné výraznější morfologické změny, nebývají patrné ve větším počtu dakryocyty, poikilocytóza anebo leukoerytoblastóza, nebo jsou změny jen mírné. Bývají zvýšené krevní destičky a často také leukocyty s převahou neutrofilních granulocytů. Významnější změny jsou ale patrné v kostní dřeni, která je hypercelulární, nacházejí se zde shluky abnormálních megakaryocytů, které jsou pro onemocnění typické, ale není zde retikulární fibróza.

Pozdní stádium se také nazývá myelofibróza s myeloidní metaplázií (MMM). Vyznačuje se fibrózou kostní dřene. Bývá přítomna výrazná splenomegalie nebo hepatosplenomegalie, která vzniká v důsledku přesunu krvetvorby do těchto orgánů (extramedulární krvetvorba). V laboratorním nálezu bývá často zjištěna anémie a trombocytopenie nebo trombocytóza. Mohou být mírně zvýšené leukocyty s převahou neutrofilních granulocytů. Ve vzorku periferní krve bývají zjištěny obří trombocyty nebo mladá jádra megakaryocytů, také jsou přítomny mladé formy krevních buněk – erytoblasty a nezralé prekurzory granulocytů (metamyelocyty, myelocyty, promyelocyty, ve více pokročilých stádiích i ojedinělé myeloblasty). Přítomny jsou výrazné a typické morfologické změny červených krvinek – anizocytóza, poikilocytóza, přítomnost dakryocytů. Kostní dřeň je hypocelulární a fibrózní, což je typický znak onemocnění.

Pro stanovení diagnózy je rozhodující provedení trepanobiopsie⁸ kostní dřene, která umožňuje cytologické a histologické vyšetření a další speciální vyšetření kostní dřene. Odběr kostní dřene aspirací bývá u pokročilého onemocnění často neúspěšný, protože kostní dřeň je tuhá a vláknitá a jen obtížně se daří získat buňky (tzv. "suchá punkce"). Pro diagnostiku je rozhodující průkaz abnormálních megakaryocytů v kostní dřeni. (Adam, Vorlíček a kol., 2001; Adam, Vorlíček a kol., 2006; Penka et al., 2011; Haferlach et al., 2014; Brychtová, 2017; Primary myelofibrosis, 2018)

⁸ Trepanobiopsie – odběr kostní dřene z lopaty kyčelní

1.5.7 *Myelodysplastický syndrom (MDS)*

Myelodysplastický syndrom je skupina klonálních onemocnění krvetvorby, při kterém jsou postiženy pluripotentní kmenové buňky postihující jednu nebo více hematopoetických řad. Následkem je zhoršení diferenciace buněk a tvorba defektních krevních buněk se sníženou životností. Probíhá tzv. inefektivní hematopoesa. Důsledkem toho vzniká cytopenie v periferní krvi. Díky předčasnému zániku erytrocytů mohou být zvýšené retikulocyty. Onemocnění se považuje za preleukemický stav, ale řada pacientů se do stádia akutní myeloidní leukemie nikdy nedostane. Při podezření na MDS je nutné provést řadu vyšetření, protože nejsou stanoveny jednoznačné znaky onemocnění.

Mezi základní vyšetření patří hodnocení krevního obrazu, ve kterém je zjištěna cytopenie. Často se může rovněž vyskytovat makrocytóza erytrocytů a důsledkem změny v proliferaci mohou být v krvi nezralé formy buněk. Při stanovení krevního obrazu se také provede krevní nátěr, při kterém se v morfologii krevních buněk zjišťuje řada abnormalit signalizujících poruchu jejich vývoje. U červených krvinek může být přítomna anizocytóza, poikilocytóza, polychromazie, target cells (terčovité krvinky), dakryocyty, ovalocyty, akantocyty a eliptocyty, bazofilní tečkování, Howell-Jollyho tělíška, Pappenheimerova tělíška, Cabotovy prstence. V periferní krvi mohou být rovněž nalezeny erytroblasty s dysplastickými rysy.

Základní vyšetření pro určení diagnózy je vyšetření kostní dřeně, zpravidla se provádí trepanobiopsie, někdy sternální punkce⁹. Vyšetření kostní dřeně napomáhá k rozlišení mezi MDS a jinými změnami, což může být v některých případech velmi nelehké. Při vyšetření kostní dřeně se provádí cytologické vyšetření, někdy cytochemické vyšetření (např. vyšetření myeloperoxidázy), barvení na železo, průtoková cytometrie, cytogenetické vyšetření a dále zpravidla histologické vyšetření kostní dřeně.

Pokud není zjištěna přítomnost myeloperoxidázové reakce, může to být znakem dysplazie. Provádí se také barvení na železo a zjišťuje se přítomnost železa v kostní

⁹ Sternální punkce – odběr kostní dřeně z hrudní kosti

dřeni a také přítomnost prstenčitých sideroblastů. Cytogenetické vyšetření napomáhá jak k určení onemocnění, při přítomnosti určitých změn (např. delece chromozomu 5q atd.) je potvrzen MDS, ale také je podstatné při určení prognózy pacienta a tím i stanovení možné léčby. Nicméně mnoho pacientů nemá žádnou změnu v karyotypu. (Čermák, 2002; Adam, Vorlíček et al., 2001; Vondráková, 2010; Penka a kolektiv, 2011; Bejar et al., 2011; Haferlach et al., 2014)

1.5.8 Anémie chronických onemocnění

Anemie chronických chorob vzniká v důsledku primárního chronického onemocnění. Patří mezi jedny z nejčastěji se vyskytujících anémií na celém světě. Její vznik je spojen s chronickými zánětlivými onemocněními, s maligními onemocněními a také s autoimunitními onemocněními. Nevztahuje se to na onemocnění, která se primárně projevují anémií nebo u kterých se používají cytotoxické látky na jejich léčbu. Projevy anémie chronických onemocnění nemusí mít jednoznačné klinické projevy, protože převládají znaky základního onemocnění. Přesto negativně ovlivňuje zdravotní stav pacienta a kvalitu jeho života. Vznik anémie chronických onemocnění není zcela objasněn, ale ví se, že v procesu vzniku hrají klíčovou roli cytokiny a proteiny akutní fáze. Uplatňují se především tumor necrosis faktor (TNF), interleukin 1 (IL-1) a interleukin 6 (IL-6). Cytokiny stimulací produkce hepcidinu inhibují uvolňování železa z makrofágů, ve kterých může být dokonce zmnoženo, do erytroidních progenitorních buněk BFU-E. Důsledkem toho je málo železa pro erytropoézu. Cytokiny ovlivňují celkově rovnováhu železa v organismu a jsou schopny pozměnit expresi a funkce u mnoha proteinů. Rovněž klesá produkce erythropoetinu. Erytrocyty mají kratší dobu přežívání a erytropoéza není schopná reagovat na nové podmínky.

V laboratorním vyšetření bývá zjištěn mírný pokles hemoglobinu, obvykle se jedná o anémii normocytární a normochromní, postupně se může rozvinout na hypochromní, případně mikrocytovou. Pokud hodnota hemoglobinu klesne pod hodnotu 90 g/l, je nutné se zamyslet, zda se nerozvíjí jiné onemocnění, např. skryté krvácení. Na rozdíl od sideropenické anémie nebývá výrazná anizocytóza, u těžších forem může být zjištěna poikilocytóza, polychromázie a bazofilní tečkování. Také hodnota sérového železa je

snížená, rovněž vazebná kapacita pro železo je nízká, ale hodnota feritinu je normální nebo dokonce zvýšená.

Léčba anémie chronických chorob spočívá hlavně v léčbě primárního onemocnění. Pouze u těžké anémie je nutné podávat krevní transfuze anebo podávat rekombinantní formy lidského erythropoetinu. (Študl, 2002; Pospíšilová, 2007; Penka et al., 2009; Madu a Ughasoro; 2017)

2 Metodika a hypotézy

2.1 Cíl práce

Cílem této práce bylo:

- zjistit spojitosti mezi morfológickými změnami na erytrocytech s vybranými onemocněními a vysvětlit možné dopady na stav pacienta.
- provedení mikroskopického hodnocení krevních nátěrů, vyhledání změn morfologie erytrocytů a následného roztrídění do kategorií dle diagnóz a zjištěných změn.
- posouzení vlivu morfológických změn erytrocytů na určení diagnózy.

2.2 Hypotéza

Předpokladem pro napsání práce je myšlenka, že pro správné vyhodnocení krevního vzorku nejsou důležité pouze naměřené hodnoty, ale i morfologie erytrocytu. Změny morfologie mohou být nápomocné pro správnou diagnostiku onemocnění, vedení léčby, ale může také vést ke zjištění možného ovlivnění jiným onemocněním. Toto onemocnění nemusí být dominantní, ale přesto může ovlivňovat zdravotní stav pacienta.

2.3 Příjem vzorku

Vzorky přijímané do laboratoře musí být správně označeny a je nutné, aby k nim byla řádně vyplněna žádanka. Na vzorku pacienta musí být uvedené jméno, příjmení a rodné číslo a na žádance je nutné, aby bylo vyplněno rovněž jméno, příjmení, rodné číslo, pohlaví, druh materiálu, datum a čas odběru, kód diagnózy, kód zdravotní pojišťovny, urgentnost, oddělení nebo jméno lékaře, jméno sestry, která provedla odběr a samozřejmě napsaná anebo označená laboratorní vyšetření, která jsou požadována. Pokud některý údaj chybí a je možno jej doplnit, kontaktuje se telefonicky sestra, popřípadě lékař a údaje se musí doplnit.

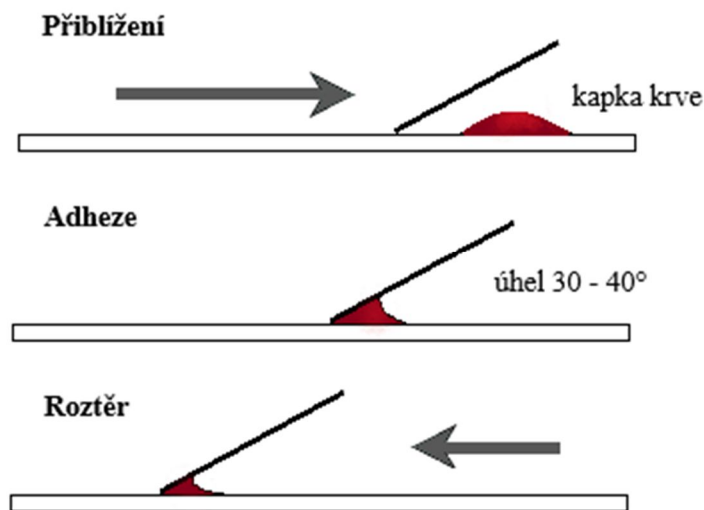
Vzorek může být laboratoří odmítnut, pokud žádanka nebo vzorek neobsahuje základní údaje nutné pro určení pacienta a tyto údaje se nedají doplnit telefonicky, zejména pokud je pochybnost o identitě pacienta, pokud je žádanka anebo vzorek znečištěn biologickým materiálem. Dále může být vzorek odmítnut, pokud byla překročena doba pro stanovení, odběr byl proveden nesprávně (sraženiny, nesprávný objem vzorku, chybná zkumavka pro požadované vyšetření atd.), byla dodána pouze žádanka nebo jen vzorek. Nepřijetí vzorku je okamžitě oznámeno na oddělení nebo lékaři, který požadoval vyšetření, a je požadován nový odběr s novou žádankou na vyšetření. Při příjmu je zkontrolována shoda žádanky se vzorkem a jsou označeny čárovým kódem a zaznamenány (načteny) do laboratorního informačního systému. Pod tímto kódem se dají jednotlivé vzorky v systému dohledat. (Ročková a Majerčáková, 2018)

Pro vyšetření krevního obrazu a diferenciálního rozpočtu leukocytů se používá venózní nesrážlivá krev odebraná nejčastěji z paže pacienta. U dětí se může použít kapilární krev odebraná z prstu nebo paty. Krev se odebírá do zkumavky, která obsahuje K_3EDTA . Zkumavka se před analýzou musí dobře promíchat, ale nesmí se s ní třepat. (Mikulenkova et al, 2014; Ročková a Majerčáková, 2018)

2.4 Příprava vzorku a jeho barvení

Analyzované vzorky byly připraveny z venózní krve. Venózní krev byla odebrána do zkumavek obsahující protisrážlivé činidlo K_3EDTA . Vzorek byl zpracován do 5 hodin po odběru.

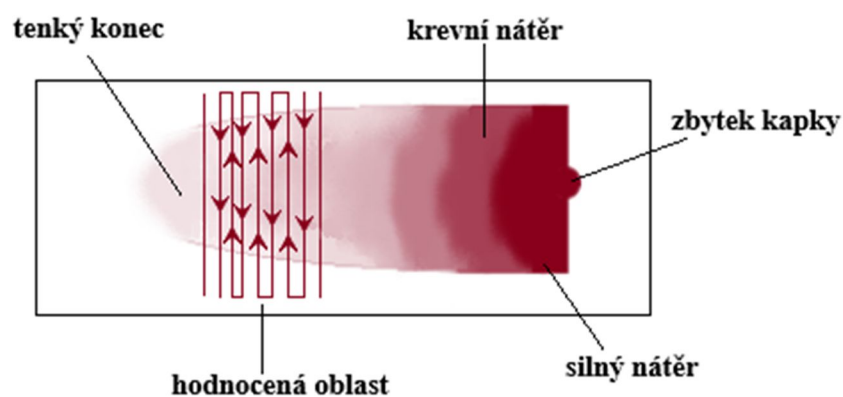
Na odmaštěné podložní sklíčko byla nanášena kapka krve, která byla dána na pravý okraj sklíčka (asi v první čtvrtině od okraje), a druhým sklíčkem byl proveden roztěr. Postup provedení: Roztěrové sklíčko se vloží před kapku krve, potáhne se s ním pod úhlem mezi 30° až 40° ke krvi, aby se kapka krve rozprostřela. Poté se lehkým plynulým pohybem provede roztěr. Správné provedení krevního roztěru je ukázáno na následujícím obrázku (Obr. 5).



Obr. 5: Správná technika provedení krevního roztěru (Mikulenková et al, 2014)

Dobře provedený krevní nátěr má plynule přecházet z tenkého nátěru po hustý, jak je znázorněno na dalším obrázku (Obr. 6).

Krevní roztěr neobsahuje žádné ostré hrany a ani není tzv. useknutý. To znamená, že nátěr náhle končí a tenká část nátěru je najednou ukončena nebo dokonce chybí. Takto provedený krevní nátěr se musí provést znovu a nelze ho použít pro další pozorování, protože by nebylo možné provést analýzu buněk. Pro hodnocení morfologie červených krvinek jsou lepší tenké nátěry, u kterých lze lépe hodnotit tvary krvinek.



Obr. 6: Správně provedený krevní nátěr a bajonetový pohyb (Matýšková et al., 2013)

Připravený nátěr se musí označit a nechá se zaschnout po dobu minimálně 10 minut, což slouží k fixaci. Následně může být obarven panoptickým barvením. Při barvení preparátu je nebezpečí, že může být buď nedobarvený (jeho barva je světle růžová) nebo přebarvený (tmavě fialový až modrý), správně obarvený má barvu fialově-růžovou.

Panoptické barvení se provede tak, že se preparát vloží prvně do methanolu na 5 minut a poté se 5 krát vloží na dobu 1 sekundy do barviva May-Grünwald, barvivo se poté nechá okapat a vloží se do Giemsa-Romanowski. Následně je preparát opláchnut vodou. Nechá se oschnout a je připravený pro pozorování pod mikroskopem. (Pecka a kol., 2010; Mikulenková et al, 2014)

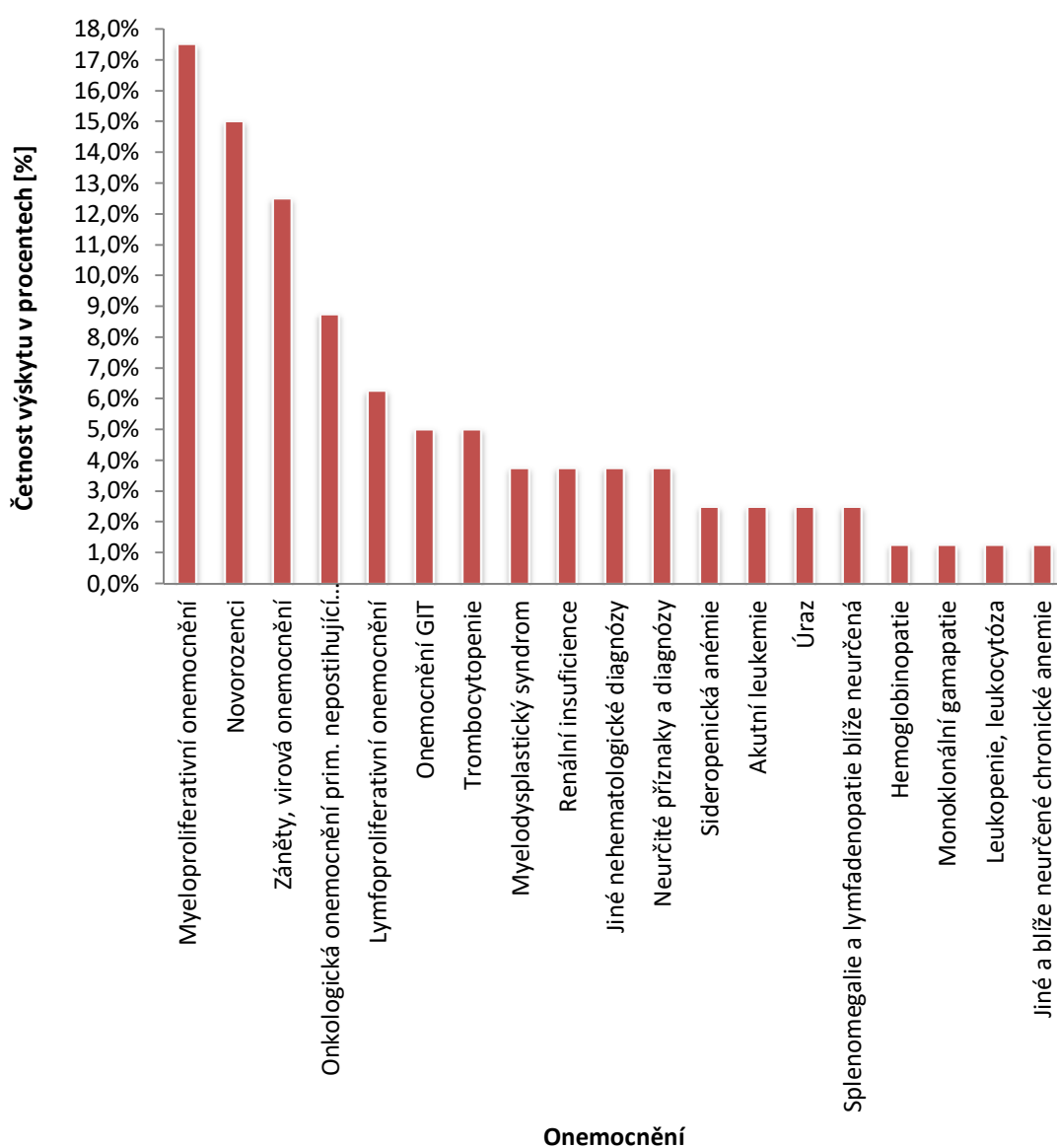
2.5 Pozorování preparátu

Připravené sklíčko s nátěrem bylo prvně pozorováno při zvětšení 200× pod imerzí, kdy byla hodnocena buněčnost a rozdělení buněk v nátěru, aby bylo vybráno nejvhodnější místo pro pozorování nátěru. Druhé pozorování bylo provedeno při zvětšení 400×. Nátěr byl pozorován v oblasti, která není ani moc tlustá, ale ani příliš tenká. Buňky v této oblasti lze pozorovat jednotlivě a hodnotit jejich morfolonii. Hodnoceny byly pouze červené krvinky, u kterých se posuzovala velikost, tvar, barva, inkluze a penízkovatění. Při hodnocení bylo postupováno tzv. bajonetovým způsobem, jak je vidět na předchozím obrázku (Obr. 6).

Zjištěné znaky byly zapisovány do tabulky, která poté byla použita pro vypracování hodnocení zjištěných výsledků. Zda se jedná o patologii, bylo posuzováno podle referenčních hodnot jednotlivých znaků. (Mikulenková et al, 2014)

3 Výsledky

V období od 2. 5. 2017 do 25. 5. 2017 byly v laboratoři Hematologické-transfuzním oddělení v nemocnici v Písku vybrány vzorky, u kterých se vyskytovaly různé anomálie a které byly následně hodnoceny. Celkem bylo hodnoceno 80 vzorků, u kterých byly různé změny červených krvinek. Onemocnění byla podle diagnóz v době vyšetření roztržena do několika kategorií, které jsou uvedeny i s jejich procentuálním výskytem v následujícím grafu (Obr. 7) a konkrétní počty vzorků u jednotlivých kategorií jsou uvedeny v tabulce (Tabulka 1).



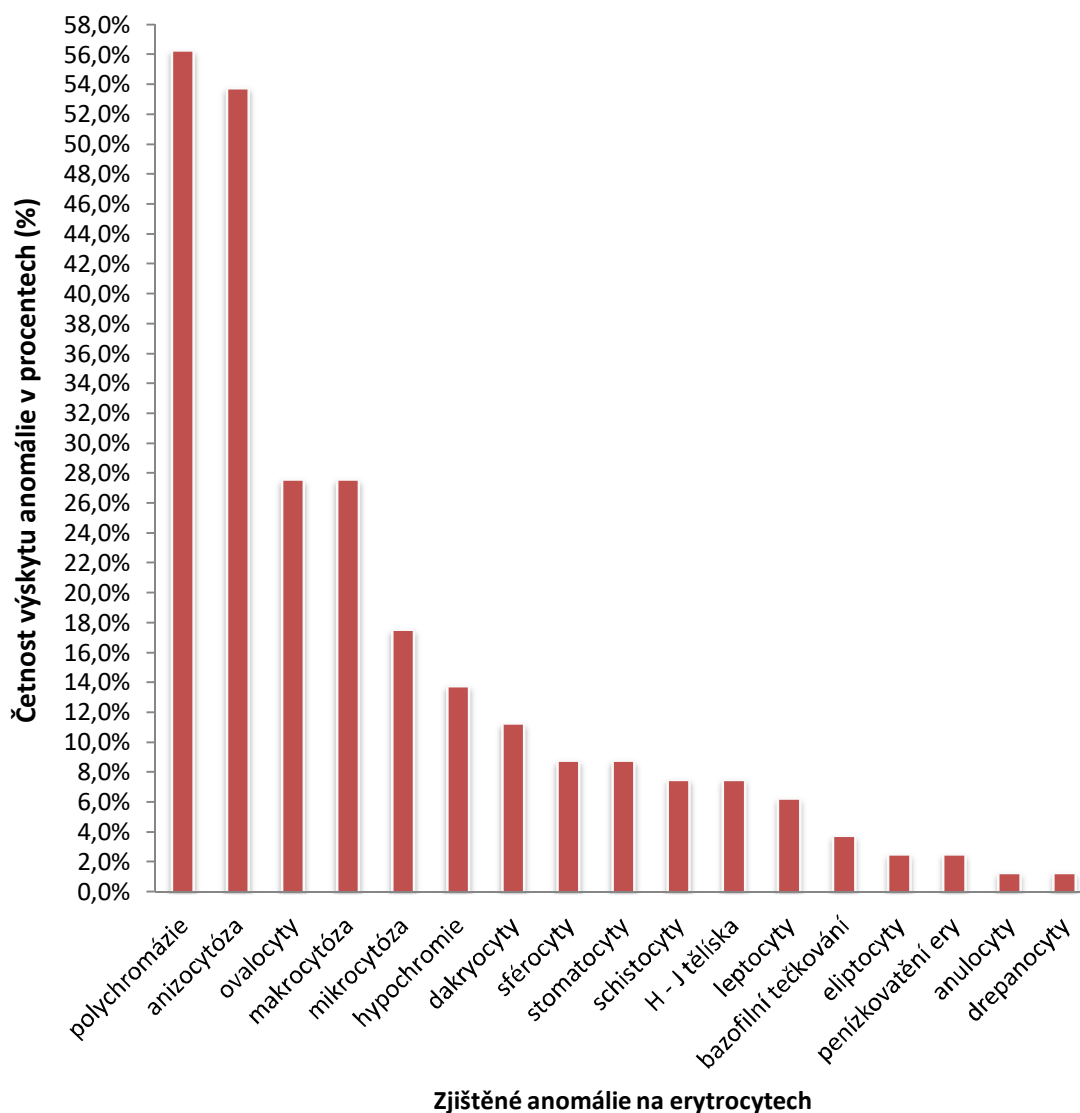
Obr. 7: Procentuální výskyt hodnocených onemocnění

Tabulka 1: Počet vzorků u studovaných kategorií onemocnění

Onemocnění	Výskyt
Myeloproliferativní onemocnění	14
Novorozenci	12
Zánětlivá a virová onemocnění	10
Onkologická onemocnění primárně nepostihující krvetvorbu	7
Lymfoproliferativní onemocnění	5
Onemocnění GIT	4
Trombocytopenie	4
Myelodysplastický syndrom	3
Renální insuficience	3
Jiné nehematologické diagnózy	3
Neurčité příznaky a diagnózy	3
Sideropenická anémie	2
Akutní leukemie	2
Úraz	2
Splenomegalie a lymfadenopatie blíže neurčená	2
Hemoglobinopatie	1
Monoklonální gamapatie	1
Leukopenie, leukocytóza	1
Jiné a blíže neurčené chronické anemie	1

Zjištěné anomálie pak byly hodnoceny, v jaké četnosti se u dané kategorie onemocnění vyskytují. Celkově nejčastěji se vyskytující změnou, která byla zjištěna, byla polychromázie, a to u 45 vzorků (56,3 %), druhá byla anizocytóza u 43 vzorků (53,8 %). Na třetím a čtvrtém místě byly ovalocytóza a makrocytóza u 22

vzorků (27,5 %). Další změny, které byly zjištěny, jsou uvedeny v následujícím grafu (Obr. 8).



Obr. 8: Procentuální výskyt patologií erytrocytů u vzorků

3.1 Hodnocení vybraných onemocnění

3.1.1 Myeloproliferativní onemocnění (MPO)

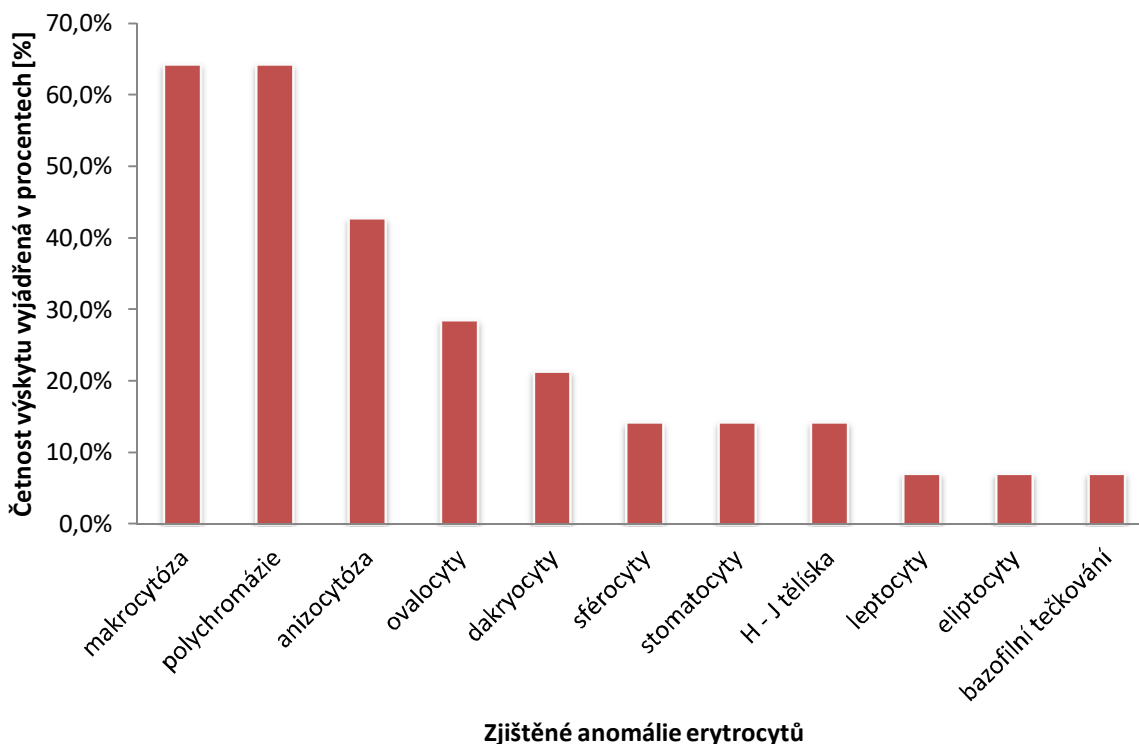
U myeloproliferativních onemocnění dochází ke zmnožení jedné nebo více krevních řad. Podle toho, která řada (popřípadě řady) se proliferuje, se liší krevní obraz

onemocnění. I přes odlišnost jednotlivých onemocnění, v této kategorii, mohou být nalezeny jejich společné znaky. (Adam, Vorlíček et al., 2001)

Anomálie erytrocytů u studovaných vzorků byly vyvolány jednak samotným onemocněním, jednak léčbou. U studovaných vzorků byly mezi třemi nejčastějšími zjištěnými patologiemi makrocytóza (64,3 %), polychromázie (64,3 %) a anizocytóza (42,9 %). Myeloproliferativní onemocnění bylo diagnostikováno celkem u čtrnácti vzorků. V jednom případě šlo o polycytemia vera v počátečním stadiu, ostatní vzorky patřily nemocným s esenciální trombocytémií nebo s pokročilým MPO ve stadiu myelofibrózy. Jedena nemocná měla myeloproliferativní nemoc s dysplastickými rysy MPN/MDS. Celkový přehled zjištěných anomálií a jejich procentuální zastoupení je znázorněno v následujícím grafu (Obr. 9). Podle použitých zdrojů se může u pacientů vyskytovat anizocytóza, ovalocyty, poikilocytóza.

Ve zkoumaných vzorcích byla zjištěna makrocytóza, což může být způsobeno léčbou, protože někteří pacienti užívají lék Litalir. Tento lék je známý tím, že způsobuje vznik velkých červených krvinek. Dalším výrazným znakem byla polychromázie, která je způsobená bazofilní cytoplazmou v erytrocytech. K tomuto dochází díky tomu, že kostní dřeň produkuje velké množství erytrocytů, které ale nestačí dozrát. V krevním řečišti jsou následně přítomny mladé erytrocyty. Pro pozdější stadia myeloproliferativních onemocnění je typická fibróza kostní dřeně a návrat k extramedulární krvetvorbě, a to v játrech a slezině. S tímto souvisí i ostatní znaky, které byly pozorovány u vzorků.

U polycytemia vera jsou v literatuře uváděny hodnoty hemoglobinu jakožto důležité hodnoty pro stanovení onemocnění. Pro muže se uvádí hodnota 185 g/l a vyšší, pro ženy 165 g/l a vyšší. Průměrné hodnoty zjištěné ze zkoumaných vzorků mužů i žen byly nižší, a to u mužů průměrně 146,3 g/l, u žen průměrně 109,3 g/l. Nižší hodnoty u zkoumaných vzorků byly způsobeny diagnózou a stadiem onemocnění a také léčbou. V literatuře se uvádí, že změny v krevním obraze u myeloproliferativních onemocnění mohou souviset se změnou genu nebo genů v hematopoetických buňkách, také se stadiem onemocnění a s léčbou onemocnění. (Adam, Vorlíček et al., 2001; Čermák, 2002; Levine a Gilliland, 2008)



Obr. 9: Výskyt anomálií u myeloproliferativních onemocnění

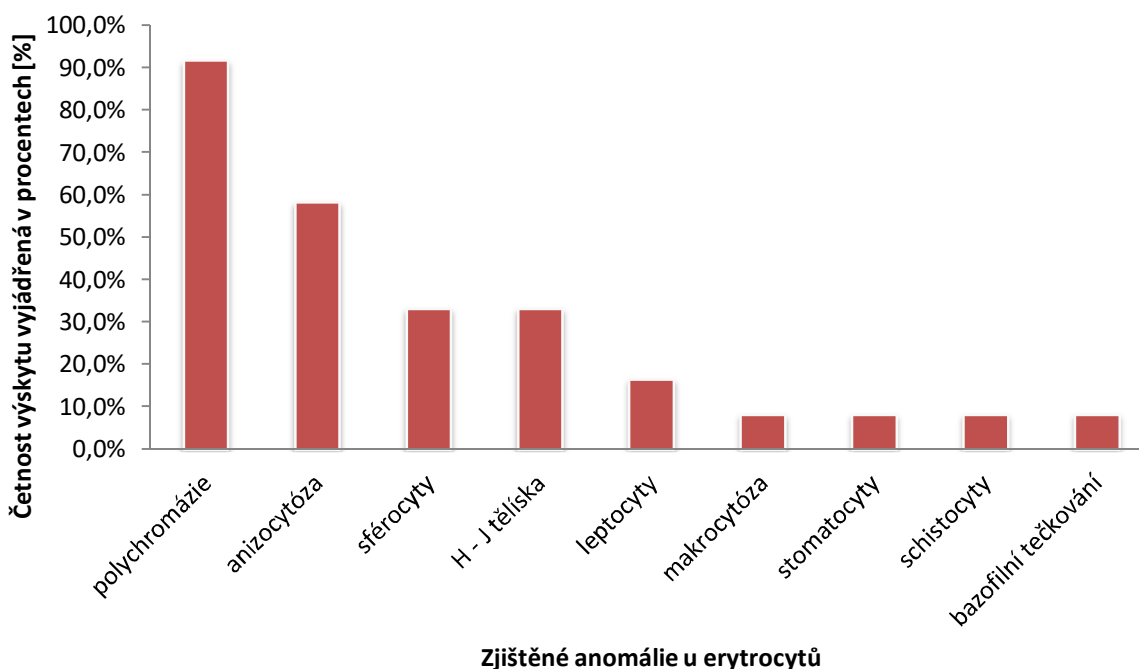
3.1.2 *Novorozenci*

Téměř veškeré změny v červeném krevním obraze u novorozenců jsou způsobeny nezralostí organismu.

Ve vzorcích studovaných v této práci se nejvíce u novorozenců vyskytovala polychromasie (91,7 %), poté anizocytóza (58,3 %) a také sférocytóza (33,3 %). Procentuální výskyt všech nalezených změn je ukázán v následujícím grafu (Obr. 10). Celkový počet vzorků patřící novorozencům byl dvanáct.

Po narození dochází k významným změnám jak ve složení krve, tak v krevtvorbě novorozence. Organismus má nyní snadnější přísun kyslíku než v těle matky a musí se tomu přizpůsobit. Dochází například ke změně typu hemoglobinu, je snižená koncentrace erytropoetinu a naopak je vyšší hemolýza. Díky tomu dochází ke vzniku fyziologické anémie – tzv. novorozenecká anémie. Zcela běžně se vyskytuje polychromázie, která opět souvisí s nezralostí organismu a během tří až pěti dnů sama zmizí. U zcela zdravých novorozenců se rovněž může vyskytovat mírná anizocytóza,

poikilocytóza anebo stomatocyty. Vzácněji se také mohou nacházet v krevním nátěru terčovité krvinky, fragmenty erytrocytů a další změny. Častěji se změněné erytrocyty vyskytují u předčasně narozených novorozenců, u kterých je také výraznější novorozenecká anemie. (Esan, 2016)



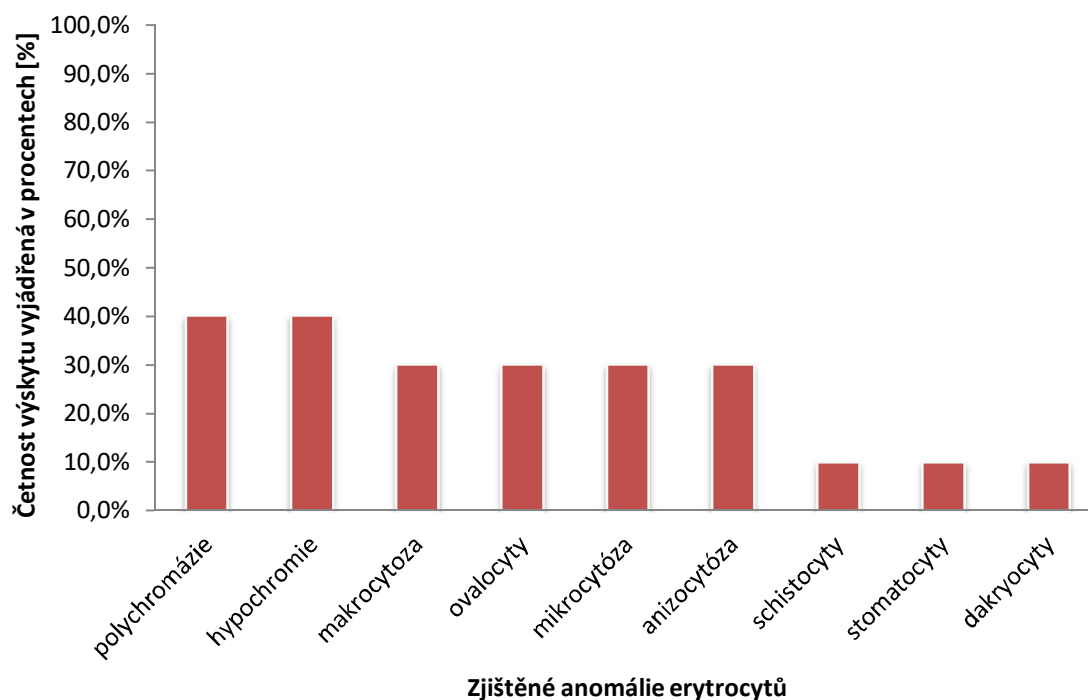
Obr. 10: Změny erytrocytů ve vzorcích novorozenců

3.1.3 Zánětlivá a virová onemocnění

Při vzniku závažných zánětlivých onemocnění může dojít i ke změnám v červeném krevním obraze, nebývá to způsobeno přímo samotnou infekcí, ale spíše jako následek probíhajících bojů v organismu. V důsledku zánětu uvolňují buňky účastníci se imunitních pochodů cytokiny, které blokují využití železa ke krvevorbě. Následkem je anemie chronických chorob. (Penka et al., 2009)

Anomálie zjištěné u vzorků odpovídají převážně změnám typickým pro anemii chronických chorob. Mezi nejčastěji se vyskytující změny patří polychromazie a hypochromie, které se obě vyskytovaly shodně ve 40,0 %. Tyto zjištěné znaky odpovídají nedostatku nedostatečnému využití železa při zánětu. Dále makrocytóza, ovalocytóza, poikilocytóza, mikrocytóza a anizocytóza, které se vyskytovaly shodně ve

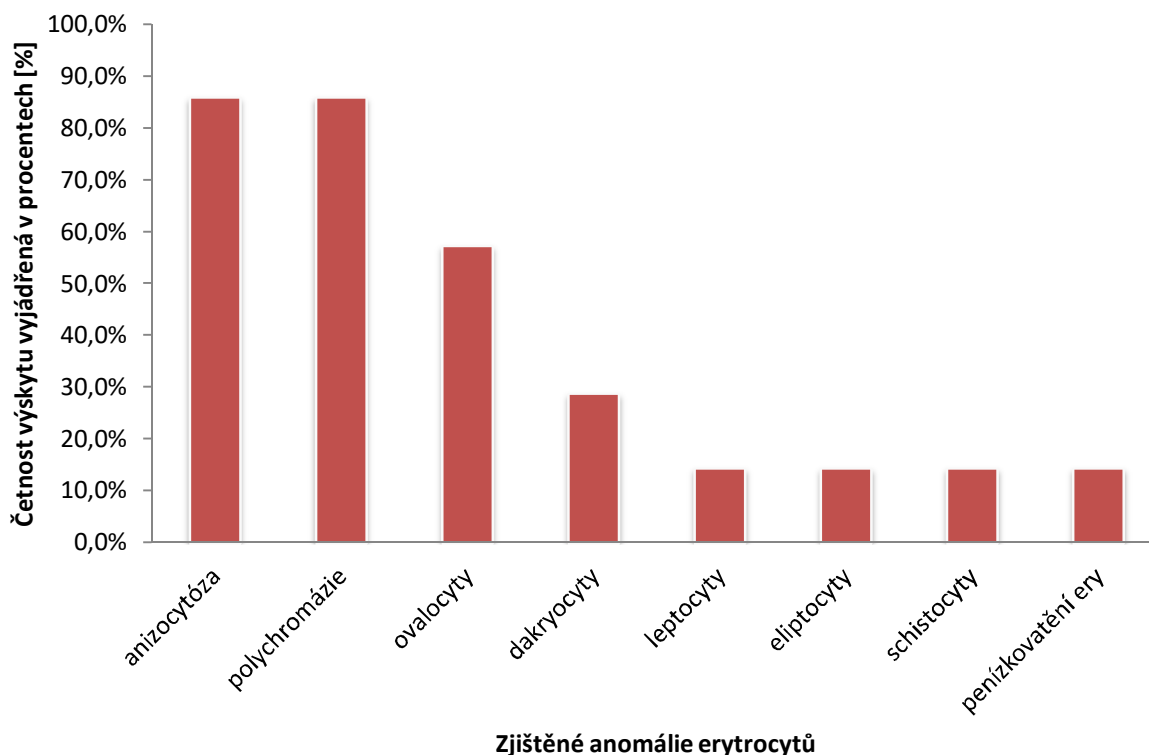
30 % vzorků. K typickým znakům vyskytující se při nepatří makrocytóza, která byla pozorována u tří vzorků (30%). Bylo zjištěno, že dva pacienti s makrocytózou v době vyšetření užívali Methotrexate pro revmatoidní artritidu a u jednoho bylo podezření na hepatopatii. U léčby pomocí Methotrexate je známo, že způsobuje vznik makrocytární anémie. U alkoholické hepatopatie vznikají makrocyty jako důsledek poškození jater. Počet zkoumaných vzorků byl deset. 3 pacienti měli revmatoidní artritidu, 4 pacienti bakteriální infekci a 3 virovou infekci. Všechny změny jsou opět uvedeny v následujícím grafu (Obr. 11).



Obr. 11: Zjištěné změny u zánětlivých a virových onemocnění v procentech

3.1.4 Onkologická onemocnění primárně nepostihující krevtvorbu

Onkologická onemocnění mají vliv na fungování celého organismu. Působení jak onkologického onemocnění, tak ale i léčby lze pozorovat i ve změnách krevního obrazu. Změny mohou být různorodé, jejich vznik je ovlivněn mnoha faktory, a to od typu nádoru a jeho výskytu, tak přes zvolenou léčbu. Samozřejmě významným faktorem na průběh onemocnění má fyziologický a psychický stav pacienta. U některých pacientů je možný výskyt trombózy, zatímco u jiných jsou krvácivé stavy. Ať už nastane jakákoliv z těchto skutečností, odrazí se na krevním obrazu červené řady. Nádorová onemocnění jsou často provázena anemií různého stupně. Podle zjištěných znaků se většinou řadí mezi anemie chronických chorob. Anemii, zpravidla spolu s leukopenií a trombocytopenií také vyvolává chemoterapie nádorových onemocnění. Nejčastější anomálie, která byla pozorována, je anizocytóza (85,7 %), která je nejčastěji projevem anemie chronických chorob, ale také může vznikat díky působení chemoterapie. Hodnota anizocytózy se v budoucnu možná stane důležitou hodnotou pro hodnocení prognózy pacienta. Podle práce D. Kusta zvýšená anizocytóza zhoršuje prognózu přežití pacienta u kolorektálního karcinomu. Existují i další práce dokazující, že anizocytóza zhoršuje přežití u různých onemocnění. (Kust et al., 2017). Dalšími výraznými změnami byla polychromazie, která se vyskytovala v 85,7 % a ovalocytóza v 57,1 % vzorků. Tyto i další změny mohou být kromě vlastního onemocnění opět způsobené anemií, která vznikla v důsledku podávání chemoterapeutik nebo ozařování pacienta. Netypické je penízkovatění u pacientky po operaci karcinomu pankreatu, nemocná v době vyšetření absolvovala chemoterapii. Celkový přehled zjištěných odchylek a jejich procentuální zastoupení je uvedený v následujícím grafu (Obr. 12). Diagnóza maligního onemocnění nehematologické povahy byla u sedmi studovaných vzorků. (Penka et al. 2009; Kust et al., 2017)

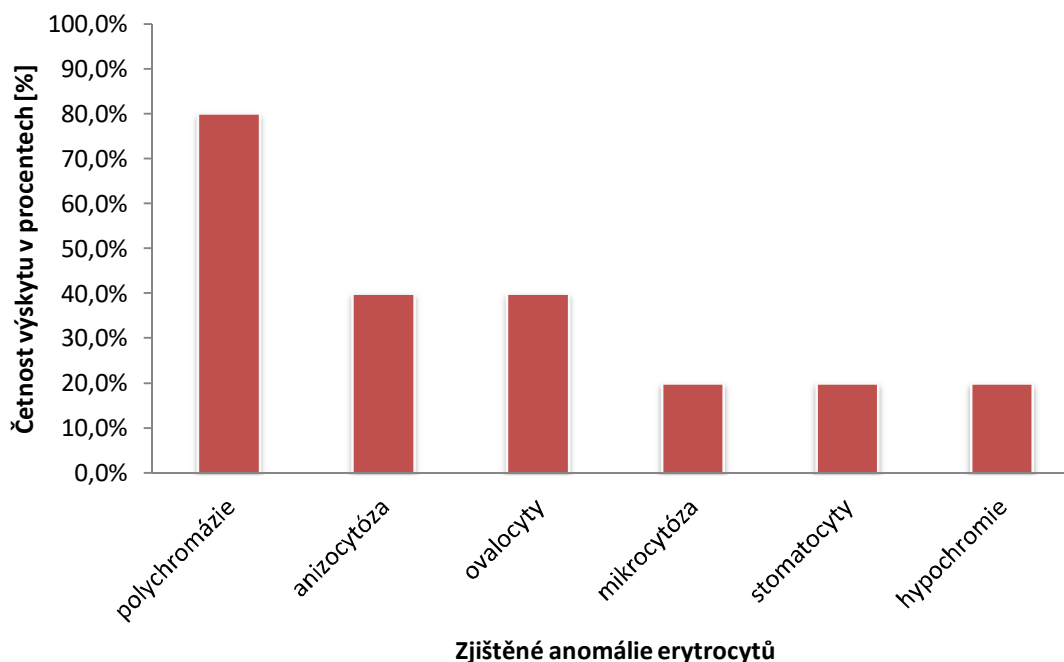


Obr. 12: Procentuální výskyt zjištěných anomálií u vzorků onkologických onemocnění

3.1.5 Lymfoproliferativní onemocnění

Celkem bylo zkoumáno pět vzorků. Čtyři pacienti měli diagnózu chronická B-lymfocytární leukemie (B-CLL) a jeden pacient měl diagnózu B-nonhodgkinský lymfom typu mantle cell lymfom. Zkoumaná lymfoproliferativní onemocnění postihující kostní dřeň, mohou vyvolávat změny v morfologii erytrocytů, ale nemusí vyvolávat anemii. Pokud, ale dojde ke vzniku anemie účinkem lymfoproliferativního onemocnění, může mít různé příčiny, např. útlak krvetvorby, autoimunitní anemie, anemie chronických chorob, čistá aplazie červené řady. Jestliže je anemie vyvolaná přímo lymfoproliferativním onemocněním znamená pokročilé onemocnění. Mezi běžné projevy patří polychromázie, která byla zjištěna i u 80 % vzorků (i bez anemie) zkoumaných v této práci. Dalšími znaky, které se vyskytovaly ve 40 % vzorků, byla anizocytóza a ovalocytóza. U pacienta s lymfomem z pláštěvých buněk (mantle cell lymfom) byla anemie vyvolána chemoterapií. Netypický obraz byl u jedné pacientky s B-CLL, která při relativně málo pokročilé B-CLL měla výraznou mikrocytární hypochromní anemii. Nemocná následně sdělila těžké opakované krvácení

z hemorroidů. Později ji byly operovány. Navíc byl u nemocné zjištěn lupus erytematodes. Zjištěná anemie netypická pro B-CLL vedla lékaře k pátrání po jiné příčině anemie. Všechny zjištěné znaky je možno vidět v následujícím grafu (Obr. 13). Pro diagnostiku onemocnění je významnější bílý krevní obraz. (Adam et al., 2001; Hoffbrand et al., 2011)



Obr. 13: Procentuální výskyt anomálií u lymfoproliferativních onemocnění

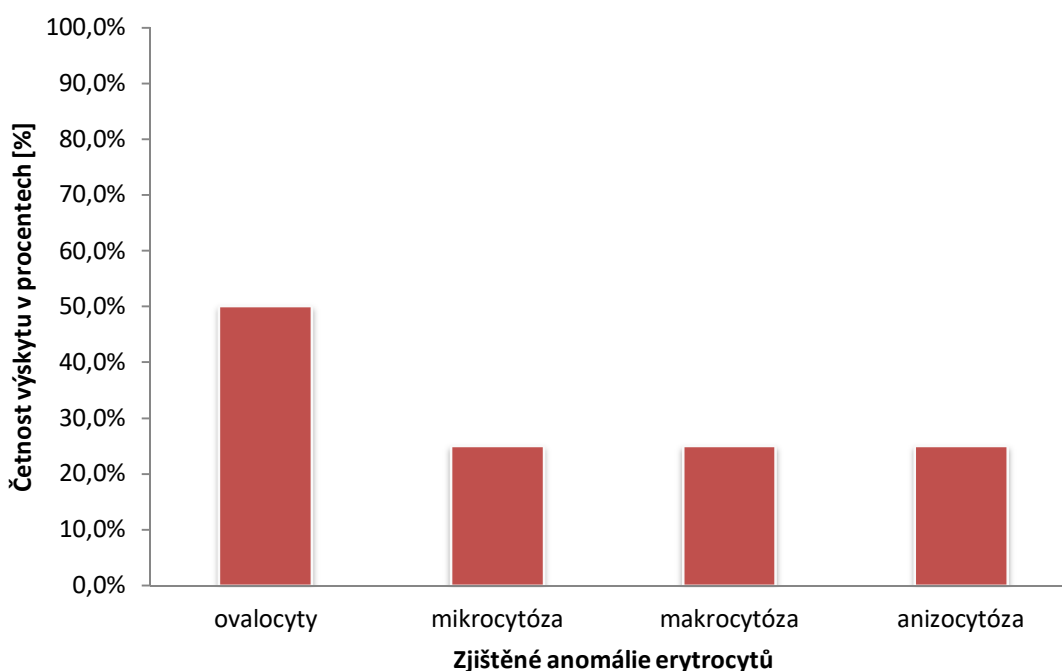
3.1.6 Onemocnění GIT

Byly studovány čtyři vzorky. Vliv onemocnění gastrointestinálního traktu na červený obraz je silně spjatý s vážností stavu a také jaký orgán popřípadě orgány jsou postiženy. Pacienti s cirhózou jater častěji inklinují ke krvácivým stavům, bez krvácení je u nich často pozorována makrocytóza erytrocytů. Při akutním krvácení do gastrointestinálního traktu (GIT) se u pacienta rozvíjí akutní posthemorrhagická anemie, u chronického krvácení se vyvíjí sideropenická anemie různého stupně v závislosti na délce trvání krvácení, jeho vydatnosti a možnostech kompenzace.

Pacienti s onemocněním tenkého střeva bývají postiženi malabsorpcí důležitých látek. Rozdílnost projevů onemocnění je možné pozorovat ve studovaných vzorcích. Procentuální zastoupení zjištěných anomálií je uvedeno v následujícím grafu (Obr. 14). Jediným znakem, který se vyskytoval u více vzorků je ovalocytóza, a to u 50 %.

S ovalocytózou se lze setkat u pacientů s onemocněním jater, i když běžnější je výskyt makrocytózy. U ostatních znaků se jednalo o výskyt vždy u jednoho vzorku.

V souboru byli dva pacienti s jaterní cirhózou na podkladě abusu alkoholu, jedna pacientka s chronickým krvácením do GIT a jedna pacientka s nejasnou makrocytózou erytrocytů. U pacientky s chronickým krvácením do GIT byla zjištěna hodnota hemoglobin při příjmu 53 g/l a těžká mikrocytóza a hypochromie erytrocytů. Pacientka s makrocytózou erytrocytů byla v době zkoumání vyšetřována pro bolesti břicha, přestala docházet na vyšetření a o rok později u ní byla diagnostikována perniciózní anemie. (Penka et al., 2009)



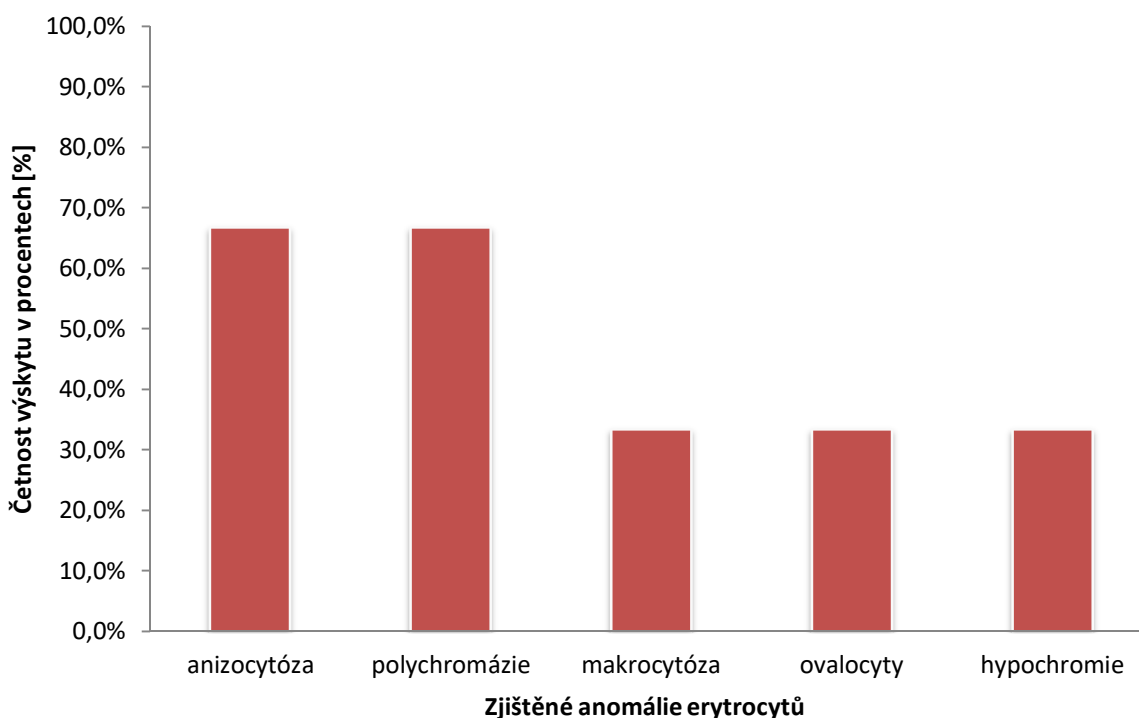
Obr. 14: Procentuální výskyt anomálií u onemocnění GIT

3.1.7 *Trombocytopenie*

Trombocytopenie nemusí být pouze samostatné onemocnění, ale daleko častěji se jedná o příznak jiného onemocnění. Nejčastějšími příčinami jsou autoimunní destrukce, myelodysplastický syndrom, chronické hepatopatie. Lehká trombocytopenie se může objevit i při nedostatku vitamínu B₁₂ nebo kyseliny listové. Podle příčiny se liší i krevní obraz pacienta, který dále napovídá, o jaké konkrétní onemocnění se může jednat.

Trombocytopenie s velmi nízkým počtem trombocytů může vyvolat krvácení. Při počtu trombocytů větším než $20 \times 10^9/l$ je však krvácení vzácné.

U výše uvedených onemocnění je postižena i červená krevní řada a mohou se vyskytovat nejrůznější morfologické anomálie. Často mohou vznikat nestejně velké krvinky a rovněž je možné nalézt mladé erytrocyty s bazofilní cytoplazmou. V naší studii byla anizocytóza a polychromázie pozorovány u 50 % vzorků, viz. (Obr. 15). Byla zjištěna rovněž makrocytóza, ovalocytóza a hypochromie, všechny tyto změny se vyskytovaly shodně u 30 % vzorků. Makrocytóza bývá spojována s nedostatkem vitamínu B₁₂ a kyseliny listové, s jaterními poruchami a s myelodysplastickým syndromem. Ovalocytóza se vyskytuje u různých typů anémií a hypochromie vzniká převážně z nedostatku železa. Do této kategorie byly zařazeny čtyři vzorky, u kterých v době zkoumání ještě nebyla známa přesná diagnóza. (Penka et al., 2009; Vydra et al., 2015)

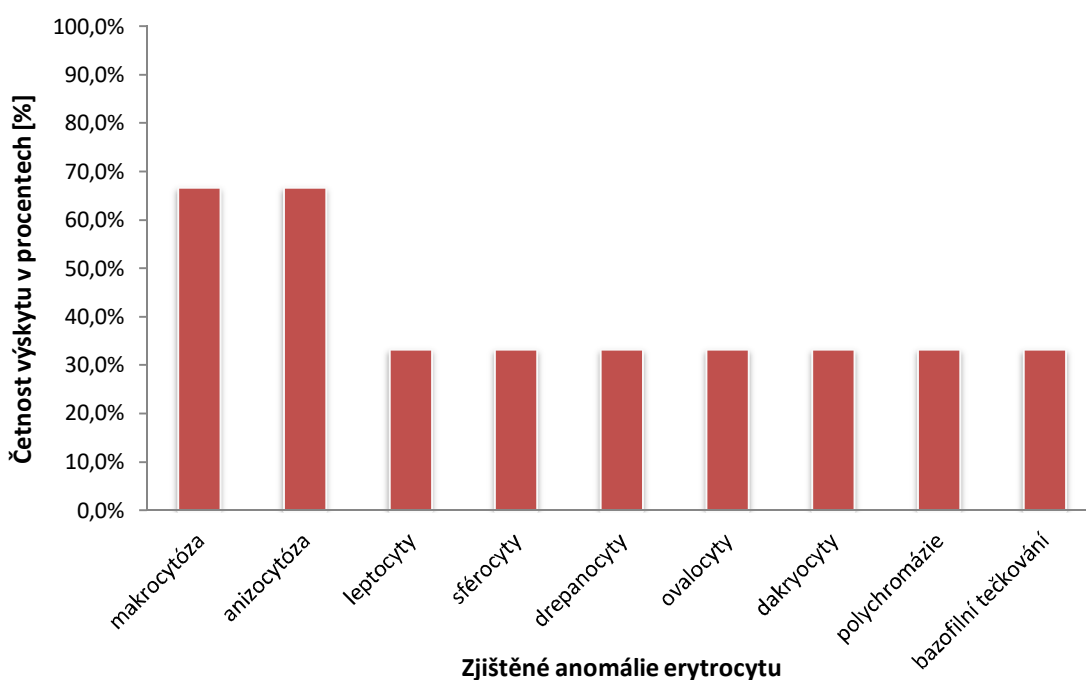


Obr. 15: Procentuální výskyt změn u trombocytopenie

3.1.8 Myelodysplastický syndrom (MDS)

Takto je označována skupina onemocnění, které se vyskytují hlavně u starších lidí (nad 60 let). Erytrocyty při myelodysplastickém syndromu mohou při defektní krvetvorbě vykazovat nejrůznější morfologické abnormality, což se projevilo i ve studovaných vzorcích.

Studované vzorky se vyznačovaly výraznou rozmanitostí a počtem různých změn na erytrocytech, jak je vidět v následujícím grafu (Obr. 16). Mezi nejčastěji se vyskytující změny patří makrocytóza a anizocytóza, které byly u 64,3 % vzorků. Pozorované anomálie jsou i dle literatury zcela běžné u tohoto typu onemocnění. Před stanovením diagnózy myelodysplastického syndromu je vždy nutné podle charakteru změn v krevním obraze vyloučit jiné příčiny nálezů. Myelodysplastický syndrom byl ve studovaném souboru určen u tří vzorků. (Penka et al., 2001; Barzi, Sekeres, 2010; Vydra et al., 2015)

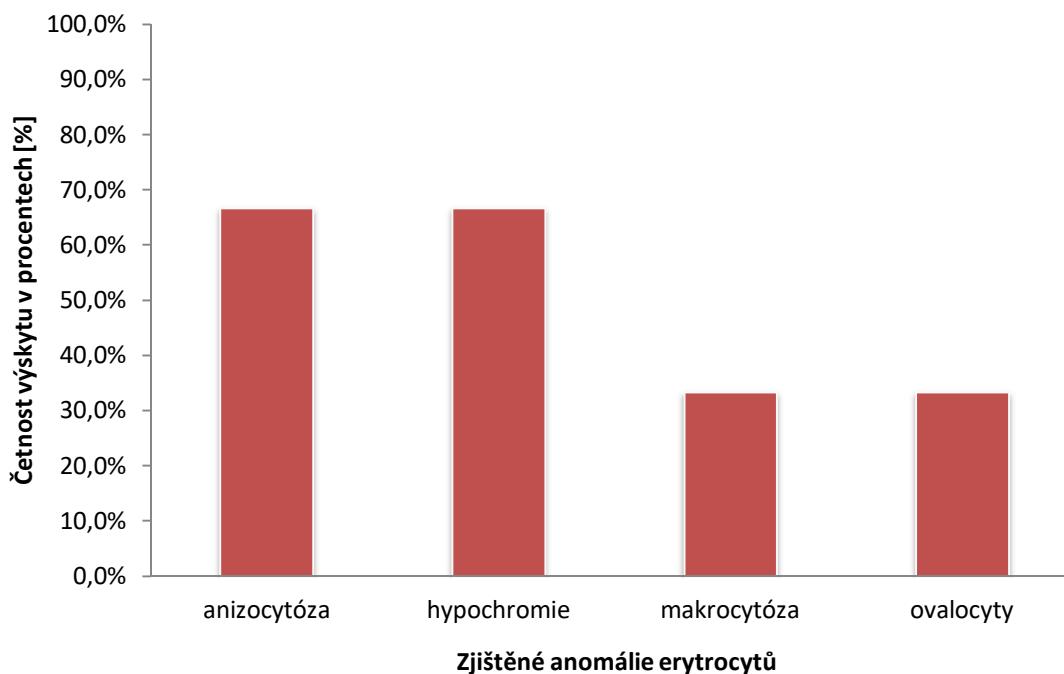


Obr. 16: Procentuální výskyt změn erytrocytů u myelodysplastického syndromu

3.1.9 Renální insuficience

Postižení ledvin má vliv i na tvorbu krve, protože dochází ke snížení syntézy erythropoetinu, který přímo ovlivňuje tvorbu erytrocytů. Nemocný často trpí anémií, která v některých případech může být řazena i mezi anémie chronických chorob. Její vznik je však zcela spjat s ledvinovou nedostatečností.

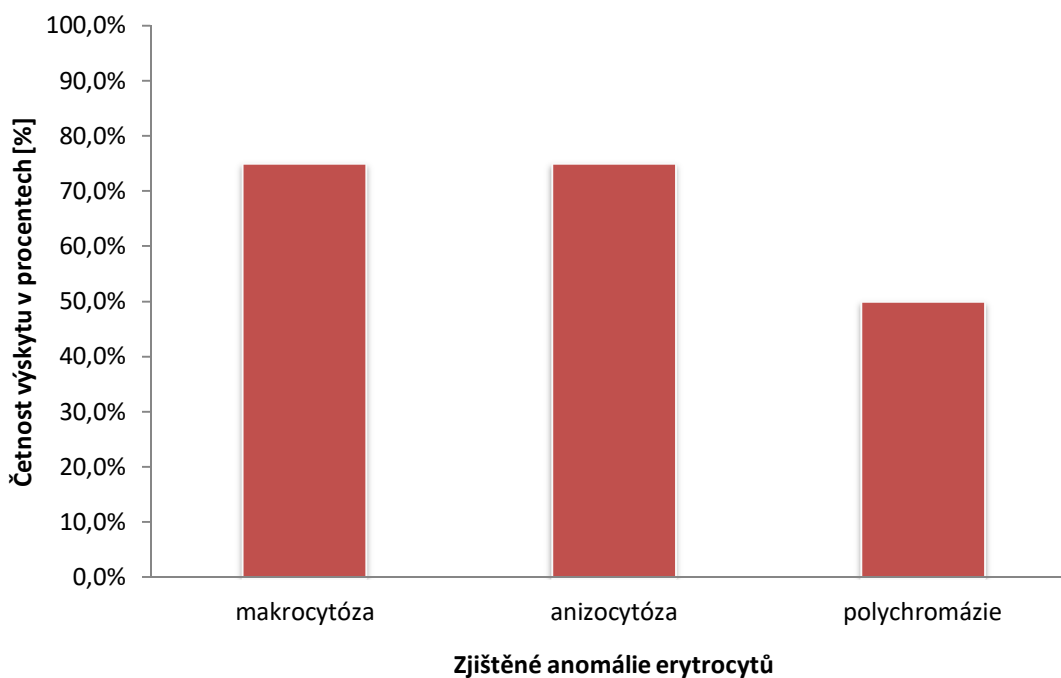
Morfologické změny erytrocytů u tohoto typu anemie bývají chudé. Zjištěné anomálie jsou uvedeny v následujícím grafu (Obr. 17). Z grafu je vidět, že nejčastější změnou byla anizocytóza a hypochromie, které se obě vyskytovaly v 66,3 % vzorků. Obě tyto anomálie mohou být způsobené sníženou tvorbou erythropoetinu a následně i erytrocytů. Při renální insuficienci také dochází ke sníženému vstřebávání železa a vitamínu B₁₂, což se projeví vznikem mikrocytózy u nedostatku železa, která byla u 33,3 % vzorků, anebo jako makrocytóza u nedostatku vitamínu B₁₂, která byla rovněž zjištěna u 33,3 % vzorků. Zjištěné hodnoty hemoglobinu jsou snižené pod normální hodnoty a to bez ohledu na pohlaví. Průměrná hodnota byla pouze 91,3 g/l. Renální insuficience byla diagnostikována u tří studovaných vzorků. (Penka et al., 2009; Vydra et al., 2015)



Obr. 17: Procentuální výskyt změn erytrocytů u renální insuficience

3.1.10 Jiné nehematologické diagnózy

V této kategorii se skrývají rozličná onemocnění, která neovlivňují krvetvorbu. Samozřejmě i u nich může docházet ke vzniku anémie, ale není to pro ně určujícím znakem. Byť se jedná o široké spektrum onemocnění, změny, které byly nalezeny, nejsou až tak odlišné, jak je vidět v následujícím grafu (Obr. 18).



Obr. 18: Procentuální výskyt změn erytrocytů u jiných nehematologických onemocnění

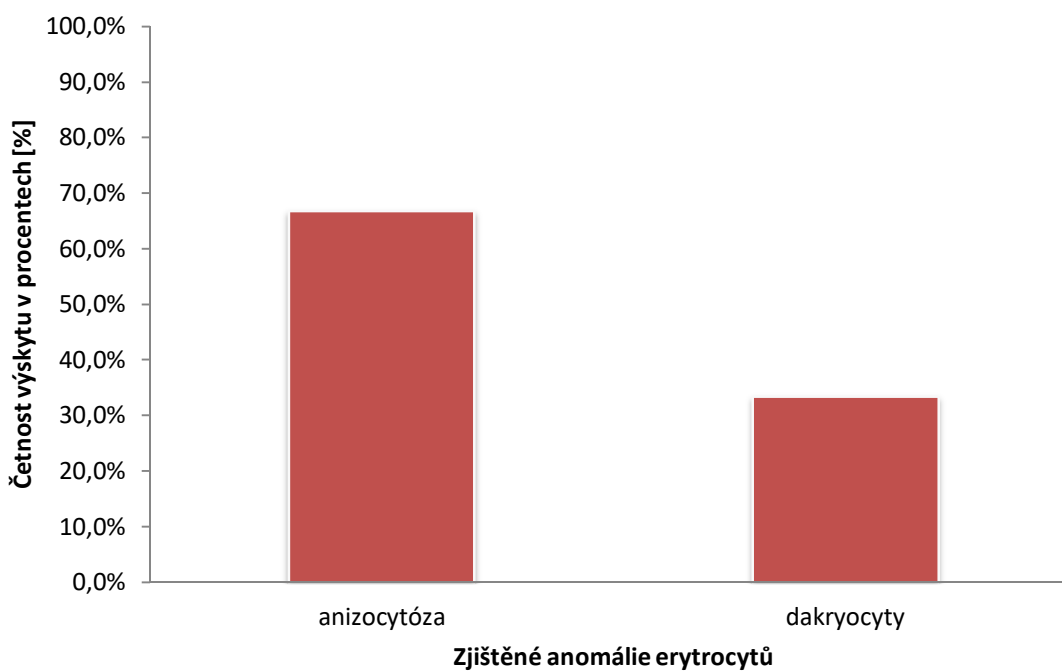
Nejčastěji se vyskytující změnou byla makrocytóza a anizocytóza, které se obě vyskytovaly u 75 % vzorků. Další nalezená změna byla polychromázie u 50 % vzorků. Jak již je napsáno výše v této práci, makrocytóza může souviset s nedostatečným příjmem, vstřebáváním nebo zvýšenými nároky na vitamín B₁₂ anebo kyselinu listovou, ale také s hepatopatií a myelodysplastickým syndromem. Objasnění anizocytózy je poněkud složitější, její výskyt je poměrně častý a může souviset s různými onemocněními. Často se anizocytóza dává do souvislosti s nedostatkem nebo poruchou metabolismu železa. Rovněž může souviset s onemocněním jater atd. Do kategorie byly zařazeny celkem tři vzorky. Jeden vzorek patřil polymorbidnímu pacientovi s ischemickou cévní mozkovou příhodou. Vzorky dalších dvou pacientů byly odeslány z ambulancí mimo nemocnici, jeden s diagnózou diabetes mellitus a druhý

s diagnózou srdeční arytmie. Je pravděpodobné, že měli další diagnózy, které na žádance nebyly uvedeny. (Vydra et al., 2015; Seymour, 2017)

3.1.11 Neurčité příznaky

Do této kategorie patří všechny vzorky, které nemají konečnou diagnózu a jejich příznaky mohou patřit pod jakékoliv onemocnění. Pokud není znám celkový stav pacienta, lze jen velmi obtížně určit, z jakých příčin vznikly anomálie na erythrocytech.

Ve vzorcích byly přítomny pouze dvě změny: anizocytóza u 66,7 % vzorků a dakryocyty u 33,3 %, jak je možno prohlédnout v následujícím grafu (Obr. 19). Anizocytóza, jak již bylo uvedeno výše v této práci, se vyskytuje poměrně často a může být způsobena mnoha onemocněními a je na ošetřujícím lékaři, aby zjistil její příčinu. Na rozdíl od anizocytózy, dakryocyty se vyskytují zřídka, celkově se vyskytovaly pouze u 10,6 % vzorků ze všech zkoumaných vzorků (viz. Obr. 8). Dakryocyty se dávají do spojitosti s autoimunními onemocněními, poruchou sleziny anebo kostní dřeně a z toho vyplývajícími onemocněními. Do kategorie byly zařazeny celkem tři vzorky. (Maslak, 2006; Pecka, 2006)

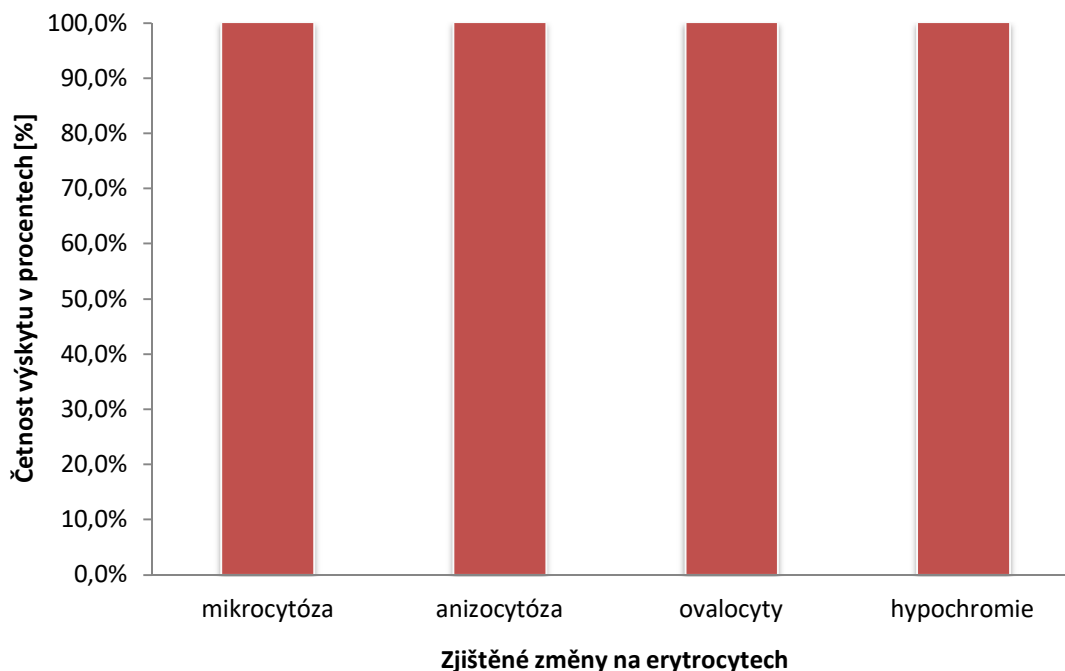


Obr. 19: Procentuální výskyt změn erythrocytů u neurčitých příznaků

3.1.12 Sideropenická anémie

Sideropenická anémie patří mezi jednu z nejrozšířenějších anémií nejen na našem území, ale i na světě. Vyznačuje se mikrocytózou, hypochromií a také se může vyskytovat anizocytóza.

Ve vzorcích, které byly studovány, byla nalezena mikrocytóza, anizocytóza, ovalocytóza a hypochromie. Všechny změny se vyskytovaly u všech vzorků, jak je i vidět v následujícím grafu (Obr. 20). Všechny zmiňované znaky jsou typické pro sideropenickou anemii. Další znak, který je u sideropenické anémie a opět to tato práce může jen potvrdit, je snížené množství hemoglobinu. Průměrné množství hemoglobinu bez ohledu na pohlaví bylo vypočítáno 94,5 g/l. Tato hodnota je pod referenční hodnoty pro muže i ženy. Snížené množství hemoglobinu je způsobeno právě nedostatkem železa. Při poklesu hemoglobinu pod 110 g/l začínají se tvořit menší erytrocyty a vzniká mikrocytóza, která byla u všech vzorků. Nejvyšší naměřená hodnota hemoglobinu byla 107 g/l u muže. Díky nedostatku železa vzniká hypochromie, protože železo je důležitou součástí hemoglobinu (jeho centrální atom) a když není přítomno, nemůže se tvořit hemoglobin.

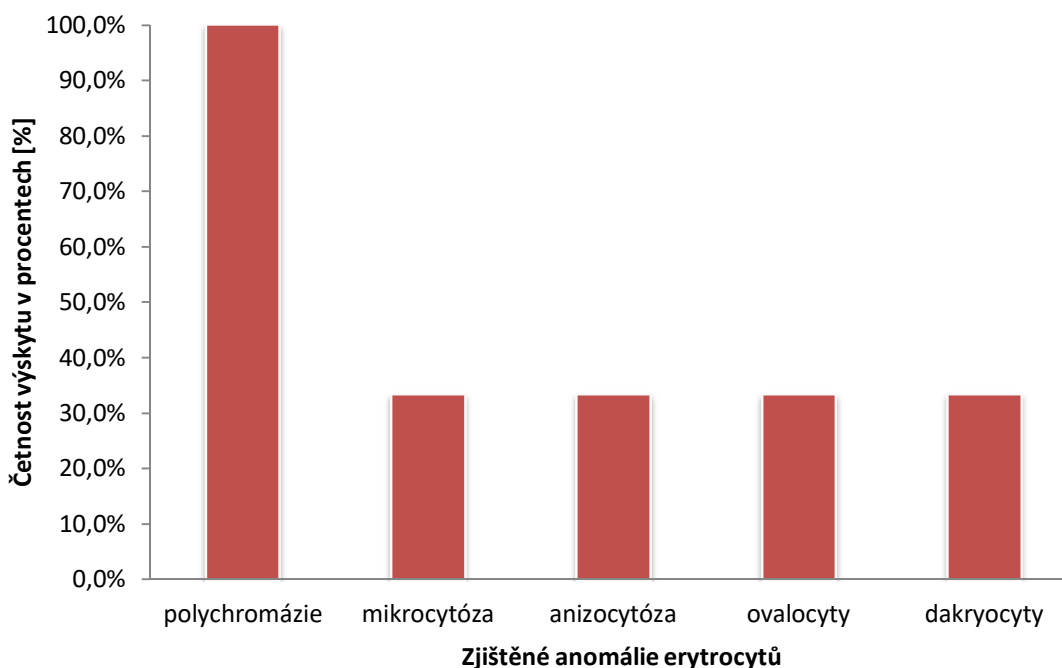


Obr. 20: Procentuální výskyt změn erytrocytů u sideropenické anémie

Ošetřující lékař by měl zjistit příčinu sideropenické anémie, zda se jedná o patologický stav vzniklý například nadměrnou menstruační krevní ztrátou u žen, krvácení do gastrointestinálního traktu, poruchu vstřebávání železa (nejčastěji je to celiakie), fyziologický stav (růst, těhotenství atd.) nebo špatné stravovací návyky (špatně sestavený jídelníček u vegetariánů a veganů), a podle toho anemii léčit. Vždy je třeba zároveň léčit příčinu anémie a doplnit chybějící železo v organismu. Tato kategorie obsahuje pouze dva vzorky. (Penka et al. 2009; Camaschella, 2015, Vydra et al. 2015)

3.1.13 Akutní leukémie

Akutní leukémie je skupina nádorových onemocnění postihující kmenové buňky v kostní dřeni. U kmenových buněk dojde k mutaci genetické informace. Díky tomu vznikne klon patologických buněk (blastů), u něhož dochází k zástavě diferenciaci a k jejich nekontrolovatelnému dělení a růstu. Ostatní buňky jsou jimi utlačovány a nemohou vytvářet krevní buňky v dostatečném množství. Pacient tak po krátké době trpí anémií a trombocytopenií a rovněž krvácivými stavy. Tomuto stavu odpovídají změny v červeném krevním obrazu. V následujícím grafu (Obr. 21) lze vidět, že u akutní leukémie dominuje polychromázie, která byla ve všech vzorcích. Vzniká uvolňováním nezralých erytrocytů, u kterých je stále ještě přítomna bazofilní cytoplazma a mohou se vyskytovat i zbytky RNA. Mikrocytóza a anizocytóza se vyskytovala ve 33,3 % vzorků a souvisí s nedostatkem železa, které je nutné pro správné fungování erythropoézy. Uvádí se, že je to díky spotřebě železa maligními buňkami. Onemocnění bylo studováno u dvou vzorků. (Penka et al., 2011; Vydra et al., 2015)

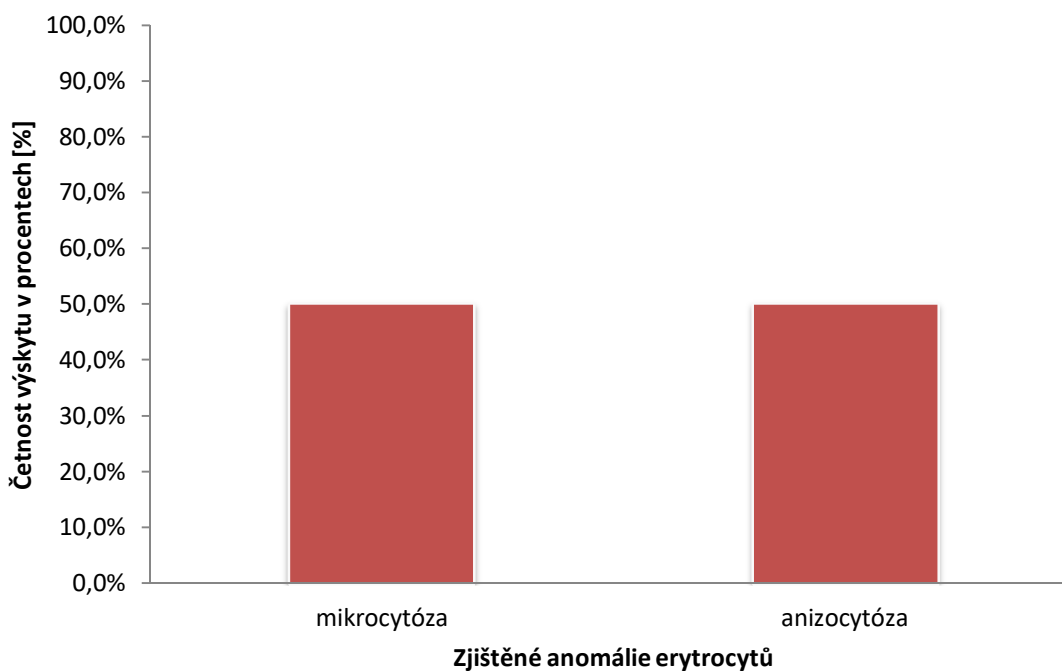


Obr. 21: Procentuální výskyt změn erytrocytů u akutní leukémie

3.1.14 Úrazové stavy

Při hodnocení krevního obrazu při úrazu je nutné si uvědomit, o jaký úraz se jedná a k jakému poškození při jeho vzniku došlo. Zajisté se bude lišit krevní obraz pacienta s amputací končetiny, který ztratil významné množství krve, a pacienta, který si zlomil páteřní obratel při pádu, ale nedošlo k téměř k žádnému krvácení.

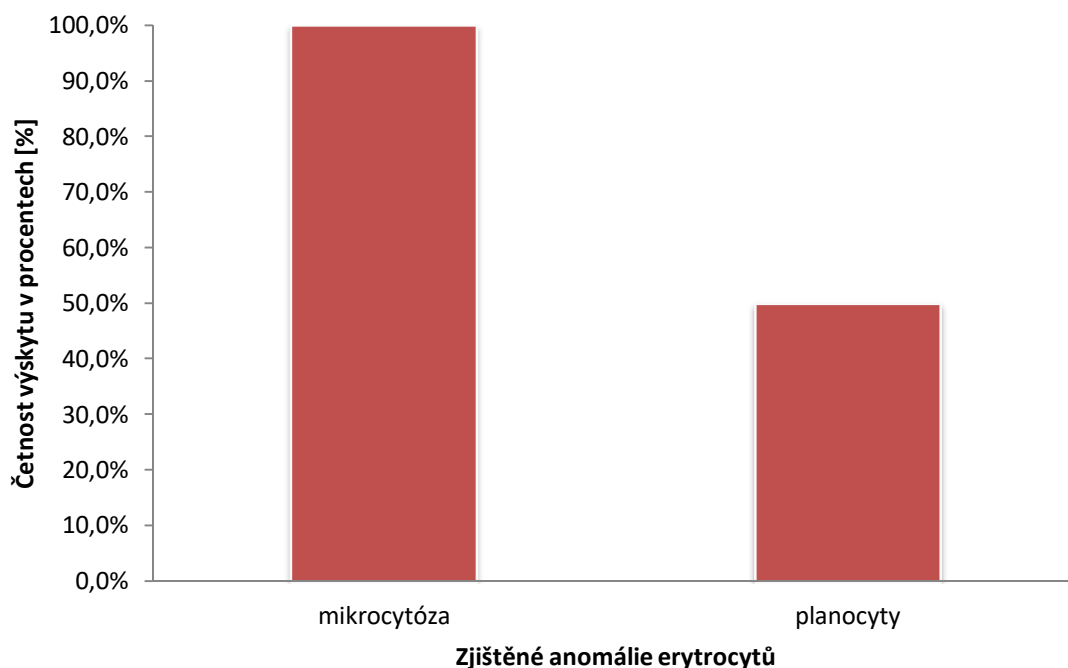
Podle výsledků studovaných vzorků, které lze vidět na dalším grafu (Obr. 22), nelze usuzovat, že pacienti utrpěli ztrátu krve, kterou se poté tělo snažilo vyrovnat. Pokud by to tak bylo, objevila by se polychromázie, která zde ale není přítomna. Změny, které byly zjištěny, mikrocytóza a anizocytóza, se obě objevovaly v 50 %. Do kategorie jsou zařazeny dva vzorky. Jeden pacient byl roční chlapec pozorovaný po pádu na hlavičku s velmi lehkým poklesem hemoglobinu a hematokritu, jeden pacient byl ošetřen pro úraz kolene a lehkou mikrocytózu erytrocytů měl již před úrazem. Není zde žádná spojitost úrazu se změnami v krevním obraze. (Penka et al., 2011)



Obr. 22: Procentuální výskyt změn erytrocytů u úrazů

3.1.15 Splenomegalie a lymfadenopatie blíže neurčená

Splenomegalie i lymfadenopatie se řadí mezi příznaky, ne však samostatná onemocnění. Z tohoto důvodu je velmi obtížné určit vliv na krevní obraz. Do této kategorie patří pouze dva vzorky. U obou vzorků se vykytovala mikrocytóza, ale jen u jednoho byly zjištěny planocyty, jak je vidět v dalším grafu (Obr. 23). Mikrocytóza se dává do souvislosti s nedostatkem železa, u které ale není typický výskyt splenomegalie. U sideropenické anémie může dojít k mírné splenomegalii u velmi vážného nedostatku železa. Lymfadenopatie se spojuje s celou řadou onemocnění, u kterých jsou možné různé změny v krevním obraze, pro bližší určení by bylo potřeba více informací o pacientovi. (Novotný, 2007; Penka et al., 2011)



Obr. 23: Výskyt anomálií u splenomegalie a lymfadenopatie vyjádřeno v procentech

3.1.16 Ostatní onemocnění

Ostatní kategorie onemocnění (hemoglobinopatie, monoklonální gamapatie, anémie chronických chorob a anemie jiného původu, leukopenie a leukocytóza) se vyskytovaly v příliš malém počtu. Z tohoto důvodu vyskytující se anomálie u těchto vzorků většinou nemají vypovídající charakter. Výjimku představuje nemocná s hemoglobinopatií, u které byl prokázán abnormální hemoglobin D v 10,9%. Tato nemocná má dlouhodobě výraznou mikrocytózu a hypochromii erytrocytů obdobnou, jako se nachází u talasemií.

Do této kategorie byl zařazen i vzorek anemie chronických chorob a anemie jiného původu. Původně se jednalo nejpočetnější kategorii. Byly pozorovány morfologické změny erytrocytů typické jak pro anemii chronických chorob tak jiné změny. Díky tomu mohly být zařazeny do jiné kategorie, které odpovídaly nalezeným změnám.

U ostatních vzorků nelze usoudit, zda výskyt/chybění změny je dáno stavem pacienta nebo studovaným onemocněním (Pospíšilová, 2007; Penka et al, 2009; Vydra et al., 2015; Gallagher, 2018)

4 Diskuze

Hodnocení morfologie erytrocytů je součástí hodnocení krevního nátěru. Jeho kvalitní provedení má klíčový význam pro hodnocení vzorku. Pokud byl nátěr proveden nekvalitně, nátěr vzorku bylo nutné opakovat, aby vyhodnocení mělo vypovídající hodnotu.

Celkem bylo posuzováno 80 vzorků, které byly rozděleny do devatenácti kategorií, podle diagnózy určené ošetřujícím lékařem a podle hlavních znaků. Tato část byla poměrně obtížná, protože přidělená diagnóza na žádance o laboratorní vyšetření ne vždy odpovídala skutečnému momentálnímu onemocnění pacienta. Vzorky poté musely být dohledány v nemocničním informačním systému a diagnóza musela být opravena, aby mohl být vzorek správně vyhodnocen.

Rozdělení do stanovených kategorií je nerovnoměrné, takže v některých kategoriích je o mnoho více vzorků než v jiné skupině, jak je vidět na (Obr. 7). Pro lepší vyhodnocení zjištěných anomálií by bylo lepší mít všechny kategorie s vyšším počtem vzorků, protože by se z výsledků dalo lépe usuzovat, zda se jedná o změnu, která se vyskytuje u daného onemocnění, nebo jen u konkrétního pacienta. To však přesahovalo možnosti této práce.

Většina nalezených změn odpovídá literatuře, i když u řady onemocnění bylo velmi složité dohledat popis změn týkající se červeného krevního obrazu a u některých jeho popis téměř chyběl. Tato skutečnost velmi znesnadnilo vyhodnocení, ale díky zkušenostem vedoucí práce mohly být vzorky vyhodnoceny.

5 Závěr

Jak již bylo několikrát v práci zmíněno, morfologie erytrocytů je jedním z důležitých bodů hodnocení krevního obrazu. Lékaři by proto neměli vzorky hodnotit pouze podle naměřených hodnot, ale při abnormalitách v krevním obraze a pochybnostech o diagnóze nechat vyšetřit krevní nátěr mikroskopicky a hodnotit celkový stav vzorku. Změny morfologie mohou být nápomocné pro určení správné diagnózy, ale také pro výběr vhodné léčby. Například zjištění mikrocytové hypochromní anemie by mělo lékaře vést k vyšetření metabolismu železa a při potvrzení sideropenie k odeslání pacienta/pacientky ke gastroenterologickému nebo gynekologickému vyšetření podle dalších příznaků, zjištění makrocytové anemie by lékaře mělo vést k vyšetření vitamínu B₁₂ a kyseliny listové a zjištění stavu jater a při negativních nálezech k odeslání pacienta na hematologické vyšetření.

Praktičtí lékaři a lékaři ostatních oborů by proto měli mít základní znalosti o morfologii erytrocytů a významu jejich změn pro diagnostiku různých onemocnění. Při pochybnostech a nejasnostech v nálezů mají možnost využít konzultace lékařů spádového hematologického oddělení.

6 Seznam literatury a zdrojů

[1] ADAM, Z., KREJČÍ, M., VORLÍČEK, J., 2008. *Hematologie: přehled maligních hematologických nemocí*. 2. vydání. Praha: Grada Publishing. 404 s. ISBN 978-80-247-2502-4

[2] ADAM, Z., VORLÍČEK, J., 2001. *Hematologie I: přehled maligních hematologických nemocí*. Praha: Grada Publishing. 677 s. ISBN 80-247-0116-2

[3] ASLINIA, F., MAZZA, J. J., YALE, S. H., 2006. Megaloblastic Anemia and Other Causes of Macrocytosis. *Clinical Medicine & Research* [online]. 4(3), 236-241 [cit. 2017-01-06]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1570488/>

[4] BAIN, B. J., 2004. *A Beginner's Guide to Blood Cells*. 2. edition. Oxford: Blackwell Publishing. 121 p. ISBN 1-4051-2175-0.

[5] BARZI, A., SEKERES, M. A., 2010. Myelodysplastic syndromes: A practical approach to diagnosis and treatment. *Cleveland Clinic Journal of Medicine* [online]. 77(1), 37-44 [cit. 2019-03-18]. doi: 10.3949/ccjm.77a.09069. Dostupné z: <https://www.mdedge.com/ccjm/article/95213/hematology/myelodysplastic-syndromes-practical-approach-diagnosis-and-treatment>

[6] BEJAR, R. et al., 2011. Clinical Effect of Point Mutations in Myelodysplastic Syndromes. *New England Journal of Medicine* [online]. 364(26), 2496-2506 [cit. 2018-04-28]. doi: 10.1056/NEJMoa1013343. Dostupné z: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa1013343>

[7] *Beta thalassemia*, 2017. [online] Genetics Home Reference. [cit. 2017-26-07]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/beta-thalassemia>

[8] BEUTLER, E. et al., 1995. *Williams Hematology*. 5. edition. New York: McGraw-Hill. 1668 p. ISBN 0-07-070386-8.

[9] BRYCHTOVÁ, Y., 2007. Primární myelofibróza. In: *Linkos.cz* [online]. 2. 11. 2017. [cit. 2018-12-03]. Dostupné z: <https://www.linkos.cz/pacient-a-rodina/onkologicke-diagnozy/myeloproliferativni-onemocneni/primarni-myelofibroza/>

[10] BULIKOVÁ, A., PENKA, M., 2006. Antifosfolipidový syndrom. *Interní medicína pro praxi* [online]. 8(5), 240-243 [cit. 2019-04-17]. Dostupné z: <https://www.internimedica.cz/pdfs/int/2006/05/08.pdf>

[11] CAMASCHELLA, A., 2015. Iron-Deficiency Anemia. *New England Journal of Medicine* [online]. 372(19), 1832-1843 [cit. 2019-03-19]. doi: 10.1056/NEJMra1401038. Dostupné z: <http://iacld.ir/DL/elm/94/irondeficiencyanemia.pdf>

[12] CAO, A., GALANELLO, R., 2010. Beta-thalassemia. *Gene Test Review* [online]. vol. 12, number 2, 61-76 [cit. 2017-05-24]. doi: 10.1097/GIM.0b013e3181cd68ed. Dostupné z: <https://www.nature.com/gim/journal/v12/n2/pdf/gim201012a.pdf>

[13] ČERMÁK, J., 2002. Myelodysplastický syndrom. In: *Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně* [online]. ČLS JEP, z.s. [cit. 2018-12-03]. Dostupné z: <http://www.cls.cz/seznam-doporucenych-postupu>

[14] DIEZ-SILVA, M. et al., 2010. Shape and Biomechanical Characteristics of Human Red Blood Cell in Health and Disease. *National Center for Biotechnology Information* [online]. vol. 35, number 5, 382-388 [cit. 2017-04-01]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21151848>

[15] ESAN, J. A., 2016. Hematological Differences in Newborn and Aging: A Review Study. *Hematology & Transfusion International Journal* [online]. 3(3), 178-190 [cit. 2019-03-09]. doi: 10.15406/htij.2016.03.00067. Dostupné z: <http://medcraveonline.com/HTIJ/HTIJ-03-00067.php>

[16] FENCLOVÁ, E., 2004. *Heinzova tělíska* [online]. Encyklopedie laboratorní medicíny pro klinickou praxi [cit. 2017-01-04]. Dostupné z: <http://www.enclabmed.cz/encyklopedie/D/EFAEC.htm>

[17] FRIEDMANN, B., 1994. *Hematologie v praxi*. Praha: Galén. 368 s. ISBN: 80-85824-05-1

[18] GALANELLO, R., CAO, A., 2011. Alpha-thalassemia. *Genetics in Medicine* [online]. vol. 13, number 2, 83-88. [cit. 2017-09-05].

doi: 10.1097/GIM.0b013e3181fcb468.

Dostupné z:

<https://www.nature.com/gim/journal/v13/n2/pdf/gim9201117a.pdf>

[19] GALANELLO, R., ORIGA, R., 2010. Beta-thalassemia. *Orphanet Journal of Rare Diseases* [online]. 5(1), 1-15. [cit. 2017-05-24]. doi: 10.1186/1750-1172-5-11.

Dostupné z: <https://ojrd.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1750-1172-5-11?site=ojrd.biomedcentral.com>

[20] GALLAGHER, P. G., 2018. Red Blood Cell Membrane Disorders. In: HOFFMAN, R., Benz E. J., Silberstein L. E, Heslop H. E, Weitz J. I, Anastasi J., Salama M. E., Abutalib S. A. (eds). *Hematology: Basic Principles and Practice*. 7. edition [online]. Philadelphia: Elsevier, 626-647 p.[cit. 2019-03-19]. doi: 10.1016/B978-0-323-35762-3.00045-7.

Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780323357623000457>

[21] GEORGE, J. N., 2011. Systemic Malignancies as a Cause of Unexpected Microangiopathic Hemolytic Anemia and Thrombocytopenia. *Oncology Journal* [online]. 25(10), 1-3 [cit. 2018-12-03]. Dostupné z:

<http://www.cancernetwork.com/cancer-complications/systemic-malignancies-cause-unexpected-microangiopathic-hemolytic-anemia-and-thrombocytopenia>

[22] GROSS, S., ROARH, S., 1996. *Hematology: A Problem-Oriented Approach*. Baltimore: Williams and Wilkins. 814 s. ISBN 0-683-03636-X

[23] HAFERLACH, T. et al., 2014. *Kapesní atlas hematologie*. 1. české vydání, Praha: Grada Publishing. 230 s. ISBN 978-80-247-4787-3

[24] *Hemoglobin Bart's & Alpha Thalassemia*, 2013. [online]. Washington: Washington State Department of Health. [cit. 2018-12-03]. Dostupné z: <https://www.doh.wa.gov/Portals/1/Documents/5220/HbBartFactSheet.pdf>

[25] HILLMAN, R. S. et al., 2010. *Hematology in Clinical Practice*. 5. edition. New York: McGraw-Hill Education. 512 p. ISBN 978-0-07-176653-1.

[26] HLUŠÍ, A., KRČOVÁ, V., 2003. Antifosfolipidový syndrom. *Interní medicína pro praxi* [online]. 5(9), 434-436 [cit. 2017-07-30]. Dostupné z: <https://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2003/09/02.pdf>

[27] HOFFBRAND, A. V. et al., 2016. *Postgraduate haematology*. 7. edition. Hoboken, NJ: John Wiley and Sons [online]. 934 p [cit. 2019-01-21]. ISBN 978-1-118-85432-7.

Dostupné z: https://books.google.cz/books?id=AvhcCgAAQBAJ&pg=PA51&lpg=PA51&dq=HOFFBRAND,+A.+V.+Postgraduate+haematology.+6&source=bl&ots=8t8fAIwe9K&sig=ACfU3U3Bo_KsUJSDpNdO3N41Fxe6_27hdw&hl=cs&sa=X&ved=2ahUKEwi2uqDQ_vLhAhUkzIUKHQLXC2gQ6AEwDXoEACAcQAQ#v=onepage&q=HOFFBRAND%2C%20A.%20V.%20Postgraduate%20haematology.%206&f=false

[28] HOFFMAN, J. F., 1992. On Red Blood Cells, Hemolysis and Resealed Ghosts. In: Magnani M., DeLoach J.R. (eds). *The Use of Resealed Erythrocytes as Carriers and Bioreactors. Advances in Experimental Medicine and Biology*. [online], Boston, s. 1-15 [2018-01-12]. doi: 10.1007/978-1-4615-3030-5_1. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4615-3030-5_1

[29] HOŘEJŠÍ, V. et al., 2013. *Základy imunologie*. 5. vydání. Praha: Triton, 320 s. ISBN 978-80-7387-713-2.

[30] HOWARD, M. R., HAMILTON, P. J., 1997. *Haematology: An Illustrated Colour Text*. New York: Churchill Livingstone, 110 s. ISBN 0-443-05276-X.

[31] INDRÁK, K. et al., 2015. Anémie. In: *Interní medicína pro praxi* [online]. [cit. 2017-12-28]. Dostupné z: https://www.internimedicina.cz/incpdfs/act-000194-0001_10_001.pdf

[32] JURÁŇOVÁ, J., MIKULENKOVÁ, D., 2014. Doporučení ČHS ČLS JEP Schistocyty – identifikace, kvantifikace a diagnostický přínos. In: *Hematology.cz* [online]. 14. 4. 2014 [cit. 2017-04-21]. Dostupné z: http://www.hematology.cz/doporuceni/laboratorni_sekce/files/k_cinnostem/Doporuceni_LS_CHS_CLS_JEP-Schistocyty_v01.pdf

[33] KUST, D. et al., 2017. Clinical and Prognostic Significance of Anisocytosis Measured as a Red Cell Distribution Width in Patients with Colorectal Cancer. *QJM* [online]. 110(6), 361-367 [cit. 2019-03-09]. doi: 10.1093/qjmed/hcw223. Dostupné z: <https://academic.oup.com/qjmed/article-lookup/doi/10.1093/qjmed/hcw223>

[34] LECHNER, K., OBERMEIER, H. L., 2012. Cancer-Related Microangiopathic Hemolytic Anemia: Clinical and Laboratory Features in 168 Reported Cases. *Medicine Journal* [online]. 91(4), 195 – 205 [cit. 2017-12-28]. Dostupné z: http://journals.lww.com/md-journal/Abstract/2012/07000/Cancer_Related_Microangiopathic_Hemolytic_Anemia_.3.aspx

[35] LEVINE, R. L., GILLILAND, G. D., 2008. Myeloproliferative disorders. *Blood* [online]. 112(6), 2190-2198 [cit. 2019-03-09]. doi: 10.1182/blood-2008-03-077966. Dostupné z: <http://www.bloodjournal.org/cgi/doi/10.1182/blood-2008-03-077966>

[36] MADU, A. J., UGHASORO, M. D., 2017. Anaemia of Chronic Disease: An In-Depth Review. *Medical Principles and Practice* [online]. 26(1), 1-9 [cit. 2018-12-03]. doi: 10.1159/000452104. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5588399/>

[37] MASLAK, P., 2006. Dacryocytes (teardrop cells). *Blood Journal: Blood work images in hematology* [online]. 108(9), 2892 [cit. 2019-03-19]. Dostupné z: <http://www.bloodjournal.org/content/bloodjournal/108/9/2892.full.pdf>

[38] MATÝŠKOVÁ, M. et al., 2013. Doporučení ČHS ČLS JEP Postup při hodnocení nátěru periferní krve. In: *Hematology.cz* [online]. 2013 [cit. 2017-04-28]. Dostupné z: https://www.sekk.cz/infoservis/CHS_doporuceni-hodnoceni_nateru_pk.pdf

[39] MIHU, D. et al., 2008. HELLP Syndrome – a Multi Systemic Disorder. *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases* [online]. 16(4) [cit. 2017-06-21]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/profile/Andrada_Seicean/publication/5658642_HELLP_syndrome_-_A_multisystemic_disorder/links/00b7d51f25879356ee000000/HELLP-syndrome-A-multisystemic-disorder.pdf

[40] MIKULENKOVÁ, D., MATÝŠKOVÁ, M., BOURKOVÁ, L., 2014. Doporučení ČHS ČLS JEP Příprava a barvení nátěru periferní krve a aspirátu kostní dřeně, včetně kontrolní činnosti. In: *Hematology.cz* [online]. 2014 [cit. 2017-04-28].

Dostupné z: http://www.hematology.cz/doporuceni/laboratorni_sekce/files/k_cinnostem/Doporuceni_LS_CHS_CLS_JEP-Barveni_nateru_2013.pdf

[41] *Morphological Abnormalities of Red Blood Cells*, 2015. [online]. The Art of Medicine. [cit. 2017-07-21]. Dostupné z: <https://theartofmed.wordpress.com/2015/09/05/morphological-abnormalities-of-red-blood-cells/>

[42] NOVOTNÝ, J., 2007. Sideropenická anémie. *Medicína pro praxi* [online]. 4(11), 390-394 [cit. 2019-04-18]. Dostupné z: <https://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2007/10/02.pdf>

[43] NYTROVÁ, P. et al., 2009. Antifosfolipidový syndrom aneb syndrom, jenž může napodobit roztroušenou sklerózu. *Neurologie pro praxi* [online]. 10(1), 54-57 [cit. 2019-04-22]. Dostupné z: <https://www.neurologiepropraxi.cz/pdfs/neu/2009/01/12.pdf>

[44] *Pappenheimer Bodies*, ©2001 – 2019 [online]. LabCe. [cit 2018-11-14]. Dostupné z: https://www.labce.com/spg543472_pappenheimer_bodies.aspx

[45] PECKA, M., 1995. *Přehled laboratorní hematologie I*. Praha: Galén. 144 s. ISBN 80-85824-28-0

[46] PECKA, M., 2002. *Laboratorní hematologie v přehledu: Buňka a krvetvorba*. Český Těšín: FINIDR. 304 s. ISBN 80-86682-013

[47] PECKA, M., 2006. *Laboratorní hematologie v přehledu: Fyziologie a patofyziologie krevní buňky*. Český Těšín: FINIDR, 304 s. ISBN 80-86682-00-5.

[48] PECKA, M. a kol., 2010. *Praktická hematologie laboratorní metody*. Český Těšín: Infiniti art, s.r.o., 343 s. ISBN 978-80-903871-9-5

[49] PENKA, M. a kolektiv, 2009. *Neonkologická hematologie. 2., dopl. a zcela přeprac. vydání*. Praha: Grada. 240 s. ISBN 978-80-247-2299-3

[50] PENKA, M., BULIKOVA, A., MATÝŠKOVÁ, M., ZAVŘELOVÁ, J., 2001. *Hematologie I: Neonkologická hematologie*. Praha: Grada Publishing, 201 s. ISBN 80-247-0023-9

- [51] PENKA, M. a kolektiv, 2011. *Hematologie a transfuzní lékařství I*. Praha: Grada Publishing. 421 s. ISBN 978-80-247-3459-0
- [52] *Plasma Components*, 2014. [online]. NHS. [cit. 2017-04-12]. Dostupné z: <http://www.nhs.uk/conditions/Plasma-products/Pages/Definition.aspx>
- [53] *Popis červené řady v nátěru periferní krve*, 2017. [online]. IKEM. [cit. 2017-05-06]. Dostupné z: http://www2.ikem.cz/plm_lp/HVEZDASADO.htm
- [54] *Popis červené řady v nátěru periferní krve*, 2018. [online]. Praha: IKEM, [cit. 2018-12-03]. Dostupné z: https://www2.ikem.cz/plm_lp/_LP_03485-L0000006.htm
- [55] POSPÍŠILOVÁ, D., 2007. Anémie chronických chorob ve světle nových poznatků. *Pediatric pro praxi* [online]. 2007(5), 276-280 [cit. 2018-12-03]. Dostupné z: <https://www.pediatricpropraxi.cz/pdfs/ped/2007/05/05.pdf>
- [56] *Primary myelofibrosis*, 2018. [online]. Genetics Home Reference: National Library of Medicine. [cit. 2018-12-03]. Dostupné z: <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/primary-myelofibrosis#genes>
- [57] ROČKOVÁ, M., MAJERČÁKOVÁ, H., 2018. Laboratorní příručka Hematologicko-Transfuzního oddělení. In: *Nemopisek.cz*. 28. 8. 2018 [cit. 2018-10-20]. Dostupné z: https://www.nemopisek.cz/media/ke_stazeni/HTOLabPrir08_2018_.pdf
- [58] RYŠAVÁ, R., 2014. Atypický hemolyticko-uremický syndrom a nové možnosti léčby. *Interní medicína pro praxi* [online]. 16(1), 22-25 [2019-03-29]. Dostupné z: <https://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2014/01/05.pdf>
- [59] RYU, W. S., 2017. *Molecular Virology of Human Pathogenic Viruses* [online]. Amsterdam: Academic Press, an imprint of Elsevier [cit. 2018-12-03]. ISBN 0128008385. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128008386000047>
- [60] SEYMOUR, T., 2017. What is anisocytosis?. In: *Medical News Today*. [online]. 29 October [cit. 2019-03-18]. Dostupné z: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/319852.php>

- [61] STAVITSKY, A. B., 1998. Agglutination. In: DELVES, P. J., ROITT I. M. (eds). *Encyclopedia of immunology*. 2. edition [online]. San Diego: Academic Press, 56 p. [cit. 2018-07-02]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/sdfe/pdf/download/eid/3-s2.0-B0122267656000189/first-page-pdf>
- [62] *Stomatocytes*, ©2001-2017. [online]. LabCe. [cit. 2017-05-24]. Dostupné z: https://www.labce.com/spg469628_stomatocytes.aspx
- [63] ŠČUDLA, V., 2002. Anémie u chronických nemocí. In: *Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně* [online]. ČLS JEP, z.s. [cit. 2018-12-03]. Dostupné z: <http://www.cls.cz/seznam-doporucenych-postupu>
- [64] *The Cardiovascular System: Blood, 2017*. [online]. Rice University. [cit. 2017-06-28]. Dostupné z: <http://cnx.org/contents/FPtK1z mh@8.103:IUrEdFyf@7/An-Overview-of-Blood>
- [65] VÁCHOVÁ, Z. 2014. *Analyzátory krevních částic (principy, omezení, interference)* [online]. Plzeň: BioHema. [cit. 2018-12-03]. Dostupné z: <http://www.biohema.cz/course/view.php?id=30>
- [66] *Variations in Red Blood Cell Morphology : Size, Shape, Color and Inclusion Bodies, 2017*. [online]. Laboratory info. [cit. 2017-04-24]. Dostupné z: <http://laboratoryinfo.com/variations-in-red-blood-cell-morphology/>
- [67] VONDRÁKOVÁ, J., 2010. Myelodysplastický syndrom, diagnostika a léčba. *Interní medicína pro praxi* [online]. 12(11), 535-539 [2018-03-08]. Dostupné z <https://www.internimediceina.cz/pdfs/int/2010/11/03.pdf>
- [68] VYDRA, J. a kolektiv, 2015. *Hematologie v kostce*. Praha: Mladá fronta a. s. 389 s. ISBN 978-80-204-3698-6.
- [69] ZIEG, J. et al., 2011. Hemolyticko-uremický syndrom. *Pediatric pro praxi* [online]. 12(2), 102-104 [cit. 2017-07-30]. Dostupné z: <https://www.pediatricpropraxi.cz/pdfs/ped/2011/02/08.pdf>

7 Seznam obrázků

Obr. 1: Anulocyty (fotografie autorky)

Obr. 2: Eliptocyt (fotografie autorky)

Obr. 3: Stomatocyty (fotografie autorky)

Obr. 4: Bazofilní tečkování (fotografie autorky)

Obr. 5: Správná technika provedení krevního roztěru (Mikulenková et al, 2014)

Obr. 6: Správně provedený krevní nátěr a bajonetový pohyb (Matýšková et al., 2013)

Obr. 7: Procentuální výskyt hodnocených onemocnění

Obr. 8: Procentuální výskyt patologií erytrocytů u vzorků

Obr. 9: Výskyt anomálií u myeloproliferativních onemocnění

Obr. 10: Změny erytrocytů ve vzorcích novorozenců

Obr. 11: Zjištěné změny u zánětlivých a virových onemocnění v procentech

Obr. 12: Procentuální výskyt zjištěných anomálií u vzorků onkologických onemocnění

Obr. 13: Procentuální výskyt anomálií u lymfoproliferativních onemocnění

Obr. 14: Procentuální výskyt anomálií u onemocnění GIT

Obr. 15: Procentuální výskyt změn u trombocytopenie

Obr. 16: Procentuální výskyt změn erytrocytů u myelodysplastického syndromu

Obr. 17: Procentuální výskyt změn erytrocytů u renální insuficience

Obr. 18: Procentuální výskyt změn erytrocytů u jiných nehematologických onemocnění

Obr. 19: Procentuální výskyt změn erytrocytů u neurčitých příznaků

Obr. 20: Procentuální výskyt změn erytrocytů u sideropenické anémie

Obr. 21: Procentuální výskyt změn erytrocytů u akutní leukémie

Obr. 22: Procentuální výskyt změn erytrocytů u úrazů

Obr. 23: Výskyt anomálií u splenomegalie a lymfadenopatie vyjádřeno v procentech

8 Seznam zkratek

aHUS	Atypický hemolyticko-uremický syndrom
ATP	Adenosintrifosfát
B-CLL	Chronická B-lymfocytární leukemie
BFU-E	Eryteroidní progenitorové buňky
DIC	Diseminovaná intravaskulární koagulace
HbS	Hemoglobin srpkovité anémie
HCT	Hematokritická hodnota
HGB	Hemoglobin
HUS	Hemolyticko-uremický syndrom
IL-1	Interleukin 1
IL-6	Interleukin 6
LD	Laktátdehydrogenáza
MAHA	Mikroangiopatické hemolytické anémie
MCD	Střední průměr erytrocytu
MCV	Střední objem erytrocytů
MDS	Myelodysplastický syndrom
MCH	Střední množství hemoglobinu v erytrocytech
MCHC	Střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu
MMM	Myelofibróza s myeloidní metaplázií
MPO	Myeloproliferativní onemocnění
RBC	Počet červených krvinek
RDW	Šíře distribuce erytrocytů
TNF	Tumor necrosis faktor
TTP	Trombotická trombocytopenická purpura
vWF	von Willebrandův faktor