

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra biologických a lékařských věd

Anémie – přehled a laboratorní diagnostika

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: MUDr. Daniela Dušková

Garant bakalářské práce: Mgr. Zdenka Kudláčková, Ph.D.

Hradec Králové, 2008

Jana Žatecká

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.

Děkuji Daniele Duškové, primářce Fakultního transfuzního oddělení Všeobecné fakultní nemocnice a Doc. MUDr. Petru Cieslarovi, CSc. za korekturu bakalářské práce.

Rovněž děkuji MUDr. Hance Březinové (FTO Všeobecné fakultní nemocnice), MUDr. Květě Petrtýlové, primářce Krevní banky Fakultní nemocnice v Motole, MUDr. Ivaně Lesné (IKEM) a Martinu Matějčkovi, vedoucímu laborantovi Krevní banky Fakultní nemocnice v Motole, za cenné rady a připomínky při zpracování této bakalářské práce. Děkuji Mgr. Zděnce Kudláčkové Ph.D., za odborné vedení bakalářské práce.

OBSAH

ÚVOD A CÍL PRÁCE.....	6
1 CHARAKTERISTIKA ANÉMIE.....	7
2 ZÁKLADNÍ KLINICKÉ PŘÍZNAKY	8
3 FYZIOLOGIE ERYTROCYTŮ	9
4 HEMOGLOBIN	10
4.1 GLOBIN	10
4.2 HEM	11
4.3 FERITIN	11
4.4 TRANSFERIN	11
4.5 TRANSFERINOVÉ RECEPTORY	12
4.6 ERYTROPOETIN.....	13
5 MEMBRÁNA ERYTROCYTU	14
6 METABOLISMUS ERYTROCYTU	15
7 PARAMETRY, KTERÉ POPISUJÍ ERYTROCITY A ČERVENOU SLOŽKU KRVE	16
7.1 POČET ERYTROCYTŮ (RBC).....	16
7.2 HEMOGLOBIN (HB).....	16
7.3 STŘEDNÍ OBJEM ERYTROCYTU (MCV)	16
7.4 HEMATOKRIT (HT)	16
7.5 STŘEDNÍ MNOŽSTVÍ HEMOGLOBINU V ERYTROCYTU (MCH)	16
7.6 STŘEDNÍ KONCENTRACE HEMOGLOBINU V ERYTROCYTU (MCHC)	16
7.7 DISTRIBUČNÍ ŠÍŘE ERYTROCYTU (RDW)	17
8 OBECNÁ PATOFYZIOLOGIE	18
8.1 ZMĚNY VELIKOSTI ERYTROCYTŮ	18
8.2 ZMĚNY BARVITELNOSTI ERYTROCYTŮ	18
8.3 ZMĚNY TVARU ERYTROCYTŮ.....	18
8.3.1 SE ZACHOVALÝM KULATÝM TVAREM BUŇKY	18
8.3.2 SE ZMĚNĚNÝM TVAREM BUŇKY.....	19
8.3.3 PŘÍTOMNOST CIZORODÝCH ČÁSTIC V ERYTROCYTECH, TZV. INKLUZÍ.....	20
9 ROZPAD ERYTROCYTŮ.....	21
9.1 EXTRAVASKULÁRNÍ DESTRUKCE	21

9.2	INTRAVASKULÁRNÍ DESTRUKCE	21
10	LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ U ANÉMII	23
11	SPECIÁLNÍ PATOFYZIOLOGIE – DĚLENÍ ANÉMII.....	25
11.1	MORFOLOGICKÉ DĚLENÍ	25
11.1.1	PODLE MCV	25
11.1.2	PODLE MCH.....	25
11.1.3	PODLE RDW	25
11.2	ETIOPATOGENETICKÉ DĚLENÍ	26
11.2.1	ANÉMIE Z NEDOSTATEČNÉ TVORBY ERYTROCYTŮ.....	26
11.2.1.1	PORUCHA ČASNÝCH PROGENITORŮ ERYTROPOÉZY.....	26
11.2.1.2	PORUCHY TVORBY HEMOGLOBINU.....	27
11.2.1.3	PORUCHY SYNTÉZY DNA – MEGALOBLASTOVÉ ANÉMIE	32
11.2.2	ANÉMIE Z AKUTNÍ A CHRONICKÉ ZTRÁTY KRVE	34
11.2.2.1	ANÉMIE Z AKUTNÍ ZTRÁTY KRVE	34
11.2.2.2	ANÉMIE Z CHRONICKÝCH ZTRÁT KRVE.....	34
11.2.3	ANÉMIE ZE ZVÝŠENÉ DESTRUKCE ERYTROCYTŮ	34
11.2.3.1	KORPUSKULÁRNÍ ANÉMIE.....	35
11.2.3.2	EXTRAKORPUSKULÁRNÍ HEMOLYTICKÉ ANÉMIE	40
11.2.4	ANÉMIE Z KOMBINOVANÝCH PŘÍČIN	50
12	APLASTICKÉ ANÉMIE (DŘEŇOVÉ ÚTLUMY)	51
12.1	VROZENÉ	51
12.2	ZÍSKANÉ	52
13	MYELODYSPLASTICKÝ SYNDROM.....	53
13.1	REFRAKTERNÍ ANÉMIE (RA).....	53
13.2	REFRAKTERNÍ ANÉMIE SE SIDEROBLASTY (RAS)	53
	DISKUZE.....	54
	ZÁVĚR.....	57
	SOUHRN.....	58
	SUMMARY.....	59
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	60
	SEZNAM OBRÁZKŮ.....	63
	SEZNAM ZKRATEK.....	64

ÚVOD A CÍL PRÁCE

Hematologie byla původně malým podoborem vnitřního lékařství, který se opíral o klinická pozorování a morfologické popisy abnormalit krevních buněk. Postupně se prohlubovala znalost souvislostí změn v krvi a v krvetvorných orgánech se vznikem nejrůznějších onemocnění.

Dnešní hematologie je dynamický a rozvíjející se obor, který zaujímá ve vnitřním lékařství mimořádně významné místo. Řeší nejen choroby primárně krvetvorného systému, ale četné hematologické syndromy i dalších interních onemocnění, neboť krev je jednou z hlavních součástí vnitřního prostředí organismu. Svým složením představuje důležitou tekutinu, která jako pohyblivé médium spojuje všechny orgány a tkáně v těle a má rozhodující hemostatický význam. Změny složek krve, ať po stránce kvantitativní či kvalitativní jsou důležitými markery, bez kterých si dnes moderní lékařství nelze představit.

Tato práce má charakter rešerše. Cílem práce je definovat chorobný stav – anémie, prezentovat rozdělení anémií a shrnout možnosti jejich laboratorní diagnostiky.

1 CHARAKTERISTIKA ANÉMIE

Chorobné stavy se sníženým množstvím hemoglobinu a obvykle též se sníženým hematokritem a počtem erytrocytů se označují jako anémie. Anémie není choroba, ale syndrom vznikající z různých příčin (*Klener et al., 2003*). Anémie patří k nejčastějším chorobným stavům vůbec, dle WHO tzv. nutriční anémie v důsledku nedostatečné výživy postihuje až 30% lidstva. Anémie může být projevem primárně hematologického onemocnění, či jen příznakem jiného onemocnění (*Petrtylová, 2003*).

Důsledkem anémie je porucha přenosu kyslíku do tkání. Na tkáňovou hypoxii z anémie organismus odpovídá různými kompenzačními mechanismy, které mají zajistit dostatečný přísun kyslíku do tkání. Prvním a velmi účinným kompenzačním mechanismem hypoxie je posun disociační křivky hemoglobinu doprava, což umožňuje intermediární produkt anaerobního metabolismu glukózy, a to 2,3-disfosfoglycerát (2,3-DPG) v erytrocytech. Čím větší je koncentrace 2,3-DPG, tím snadněji se uvolňuje kyslík z vazby na hemoglobin. Dalším mechanismem je redistribuce krve, což je zvýšený průtok krve spojený se sníženou viskozitou, který zlepší perfuzi tkání citlivých na hypoxii, na úkor tkání méně citlivých (např. kůže, břišní orgány). K tomuto přesunu dochází pomocí arteriovenózních zkratů. Dojde-li u anémie k hypoxii ledvin, zvýší se produkce erythropoetinu (EPO), a tím dochází k užitečné stimulaci erytropoézy. Erytrocyty žijí v periferní krvi 110 až 120 dní, a tak jich denně zaniká 0,8-1,0% stárnutím. Toto množství je třeba denně nahradit. Obecně platí, že se anémie objeví tehdy, když se tvorba erytrocytů nevyrovná jejich zániku. Tato nerovnováha může být jednak důsledkem nedostatečné erytropoézy a jednak v důsledku urychleného zániku erytrocytů. K urychlenému zániku erytrocytů dochází buď zvýšenými krevními ztrátami, při akutním nebo chronickém krvácení nebo hemolýzou, které nestačí krýt zvýšené erythropoetické úsilí. Je možná i kombinace obou mechanismů vzniku anémie (*Klener et al., 2003*).

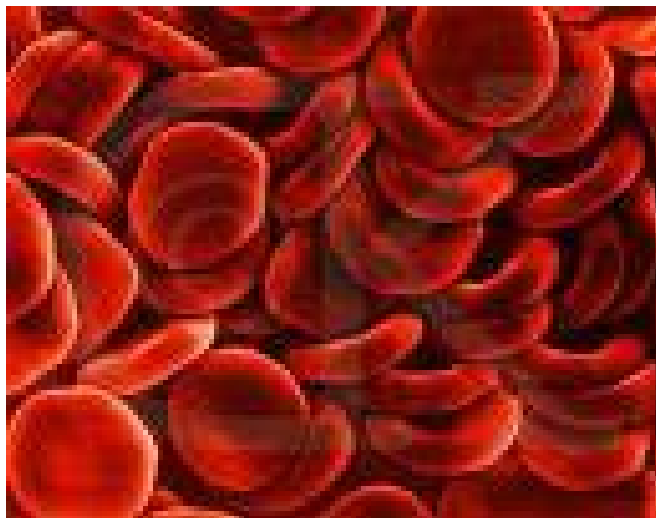
2 ZÁKLADNÍ KLINICKÉ PŘÍZNAKY

Klinické projevy anémie jsou zhruba v závislosti na její hloubce, tj. na stupni redukce transportní kapacity pro kyslík. Jsou však v určité míře ovlivněny různými činiteli, rychlostí vzniku, věkem nemocného, stavem jeho kardiovaskulární soustavy atd. Hlavní příznaky jsou společné všem typům anémií: únava, dušnost, spavost, závratě, hučení v uších, neschopnost koncentrace, podrážděnost, bolesti hlavy, u starších nemocných i stenokardie. Nemocný je bledý, tachykardický, a v důsledku zvýšené zátěže kardiovaskulárního systému se může objevit systolický srdeční šelest (*Klener et al., 2003*).

3 FYZIOLOGIE ERYTROCYTŮ

V lidském těle se nachází asi $330 \cdot 10^9$ erytrocytů na kilogram hmotnosti, denně se tvoří $2 \cdot 10^{11}$ nových erytrocytů. Fyziologické hodnoty počtu erytrocytů jsou u mužů $4,3-5,7 \cdot 10^{12}/l$ a u žen $3,8-4,9 \cdot 10^{12}/l$ (Lexová, a kol., 2000).

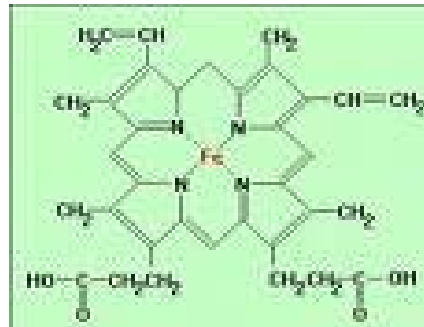
Erytrocyty jsou přizpůsobené své základní funkci, to je přenosu kyslíku, ve které klíčové postavení zaujímá hemoglobin. Ten tvoří 90% suché hmotnosti erytrocytu. Ve zralém erytrocytu chybí jádro, mitochondrie a ribozomy. Důležitou funkci v erytrocytu si zachovává buněčná membrána. K fyziologické činnosti membrány erytrocytu jsou potřebné neporušené určité metabolické děje, nezbytné k udržení energetického stavu buňky. Erytrocyt má svůj typický bikonkávní tvar, který umožňuje spolu s elasticitou membrány snadnou „deformovatelnost“ a tím usnadňuje průchodnost arteriolami a kapilárami, které jsou užší než průměr erytrocytu, má i nejvhodnější poměr mezi svým povrchem a velikostí, což usnadňuje průnik plynů přes membránu. Bikonkávní tvar zvětšuje povrch erytrocytu asi o 30%. Tím se zvětšuje plocha pro difúzi kyslíku.



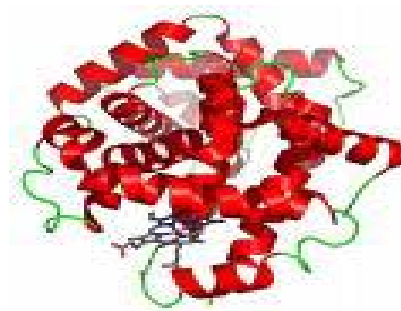
Obr.č.1 Erytrocyty (<http://faculty.ccri.edu/kamontgomery/physiology.htm>)

4 HEMOGLOBIN

Hemoglobiny jsou chromoproteiny – tedy bílkoviny s obsahem kovu, zde konkrétně železa. Molekuly lidského hemoglobinu jsou tetramery – skládají se ze čtyř bílkovinných – globinových řetězců a čtyř hemů. Nejdůležitější funkcí hemoglobinu je přenos kyslíku z plic do tkání, tedy je nositelem prvotní funkce erytrocytů.



Obr.č.2 Hemoglobin (www.drvsrs.com)



Obr.č.3 Hemoglobin (www.3dchem.com)

4.1 Globin

Představuje 96% molekuly hemoglobinu. Existuje více typů globinových řetězců – jsou označovány podle složení aminokyselin a dalších strukturálních vlastností jako alfa(α), beta (β), gama (γ), delta (δ), epsilon (ϵ). Všechny hemoglobiny, které se u člověka vyskytují za fyziologických okolností obsahují 2 řetězce α , zbývající dva řetězce se liší podle typu hemoglobinu:

- Embryonální hemoglobin Gower – 2 řetězce ϵ v erytropoéze žloutkového vaku
- Fetální hemoglobin HbF – 2 řetězce γ
- Hemoglobin A2 – HbA2 – 2 řetězce δ , fyziologicky 1,5 – 3,5% HbA
- Hemoglobin A1 – HbA1 – 2 řetězce β , tvoří 98% HbA

Pro funkci hemoglobinu je důležité zastoupení i posloupnost aminokyselin globinového řetězce-tzv. primární a sekundární struktura i vzájemná poloha jednotlivých řetězců, které tvoří dimery a celkové prostorové uspořádání celé molekuly, všech čtyř podjednotek-struktura terciární a kvarterní. V centru molekuly hemoglobinu mezi jednotlivými řetězci se vytváří kapsa, v níž se mohou vázat nízkomolekulární látky. Velikost této dutiny se mění podle toho, zda je hemoglobin v oxidovaném či deoxygenovaném stavu. V deoxygenovaném stavu se obvykle váže v této dutině molekula 2,3-DPG, která významně ovlivňuje afinitu hemoglobinu ke kyslíku. Při navázání kyslíku na Fe hemu se tvar hemoglobinové molekuly mění, zmenší se centrální dutina a molekula 2,3 DPG je z molekuly uvolněna.

4.2 Hem

Základem molekuly hemu je protoporphyrin – tetrapyrrol, neboli čtveřice pyrolových jader spojených methioninovými můstky do cyklického porfyrinového kruhu. Uprostřed něj je pak vázáno železo ve formě Fe^{2+} . Hem tvoří 4% molekuly hemoglobinu (*Lexová, a kol., 2000*).

4.3 Feritin

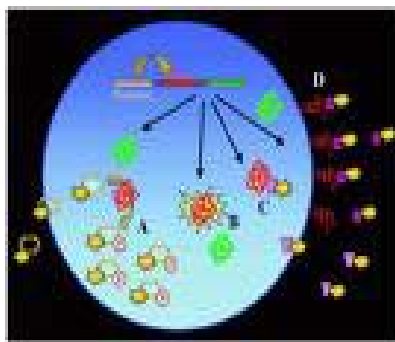
Je bílkovina obsahující zásobní železo. Nachází se v játrech, slezině, kostní dřeni a střevní sliznici. Malý podíl se uvolňuje do krevního oběhu, kde se dá velmi citlivými metodami prokázat. Koncentrace feritinu v séru odráží tkáňové zásoby železa, její hodnota klesá dříve, než roste hladina transferinu, dalšího ukazatele zásob železa v těle.

4.4 Transferin

Tento globulin je vytvářen v játrech. Má molekulovou hmotnost 76 500 a může vázat dva atomy železa (jako Fe^{3+}). Slouží jako transportní bílkovina pro železo a zároveň zajišťuje, že se tento přechodný prvek nevyskytuje v plazmě ve volné formě. Za fyziologických okolností je kapacita transferinu nasycena železem asi z 1/3, zbytek se nazývá volná vazebná kapacita transferinu (*Racek, 1999*).

4.5 Transferinové receptory

Hrají hlavní roli v příjmu železa buňkou, množství transferinových receptorů odráží nároky buňky na přísun železa. Snížený přísun železa vede ke zvýšení syntézy receptorů i jejich uvolnění do krve. Zvýšená aktivita transferinových receptorů v séru je citlivým ukazatelem nedostatku železa. Jejich hladina navíc není ovlivněna tzv. odpovědí akutní fáze. Hladina transferinových receptorů v séru je ovlivněna i stupněm aktivity erythropoézy, hodnoty narůstají při zvýšené erythropoéze u hemolytických anémií, myelodysplastického syndromu, polycytémii. Norma je 1,0 – 3,7 mg/l. Pro diagnosu jsou transferinové receptory důležité hlavně pro odlišení latentního deficitu železa od anémie z chronických chorob (*Lexová, a kol., 2000*).



Obr.č.4 Transferin-receptor (www.bijj.org)

Předpokládá se, že železo má schopnost samoregulační kontroly při vychytávání železa erytroblastem, při skladování železa a při jeho inkorporaci do hemu. Regulace se uskutečňuje pomocí železo regulujících proteinů (IRPs), které reversibilně vážou železo na "železo odpovídající elementy" (IREs), cestou mRNA transferinového receptoru (TfR), erytroid 5- aminolevulové kys. syntáze (ALA-S2) a feritinu. Deficit železa vede k vazbě IRP na IRE. Tato vazba inhibuje translaci mRNA pro ALA-S2 a feritin, ale stabilizuje mRNA pro expresi TfR. Sideroblastická erythropoéza je vysoce neefektivní a je charakterizována ukládáním mitochondriálního Fe. Studie X-vázané sideroblastické anémie ukázaly, že vstup Fe do mitochondrie je jen málo ovlivňován a může k němu docházet, když je snížena produkce protoporfyrinu a taky při mutacích ALA-S2, nebo při ABC7 transportér mutacích. Sideropenie charakterizuje jak anémii z nedostatku Fe (IDA), tak i anémii při chronických onemocněních (ACD). Erytroblasty při ACD jak se zdá, nabývaly schopnosti zadržovat Fe a neúčelně zvyšovaly zásoby Fe a to jednak díky své schopnosti zvýšit efektivitu vazby transferin - Fe a jednak schopností

aktivovat IRP/IRE systém. Vzestup efektivity omezuje potřebu nárůstů produkce povrchových TfR a udržuje hodnoty v séru rozpustných TfR (sTfR) v normě u ACD s dostatkem Fe. Koexistence deficiencie Fe s chronickým onemocněním je však spojována se vzestupem v účinnosti a množství a velmi výrazným nárůstu hodnot TfR (*McLintock, Fitzsimons, 2002*).

4.6 Erytropoetin

Tvoří se v peritubulárních buňkách intersticia ledvin, v malém množství v játrech. Stimuluje proliferaci progenitorových buněk červené krvetvorné řady a umožňuje jejich diferenciaci (*Lexová, a kol., 2000*).

5 MEMBRÁNA ERYTROCYTU

Membrána erytrocytu je nejen povrchovou buněčnou organelou ale svými vlastnostmi se podílí na schopnosti erytrocytu přenášet kyslík organizmem. Této funkci je uzpůsobena svou strukturou. Jedná se o lipoproteinovou membránu, která má uspořádání a vlastnosti tekuté mozaiky. Na vnitřní stranu membrány se vážou bílkovinné struktury, mikrofilamentového a mikrotubulárního uspořádání se schopnostmi kontraktility tzv. membránový cytoskelet. Hlavní součástí skeletu jsou bílkoviny (spektrin, aktin, ankyrin). Toto složení a uspořádání membrány dává erytrocytu pevnost a plasticitu. Membrána vykazuje různý typ propustnosti. Voda a některé anionty difundují pasivně, kationty jsou transportovány aktivně. Prostupnost pro bílkoviny je omezená. Průběžně probíhá výměna lipidů, cholesterolu a fosfolipidů mezi membránou a krevní plasmou. Regenerace membrány a její funkce jsou závislé na přísunu energie. Tu poskytuje ATP generované v procesu glykolýzy, anaerobní (Embdenův-Meyerhofův cyklus) a aerobní (oxidační pentosofosfátový cyklus).

6 METABOLISMUS ERYTROCYTU

Erytrocyt přežívá v periferní krvi po dobu 110 – 120 dní. Erytrocyt bez buněčného jádra nemá schopnost syntetizovat bílkoviny a nukleové kyseliny. Stejně tak je v rámci buněčného metabolismu ochuzen o tzv. citrátový cyklus. Erytrocyty přesto mají intenzivní metabolismus. Zralý erytrocyt disponuje asi 22 základními enzymy, které se uplatňují v metabolických procesech erytrocytu. Metabolismus erytrocytů je ve své podstatě metabolismem sacharidů. Omezuje se tedy na anaerobní glykolýzu (Embdenův-Meyerhofův cyklus) a aerobní glykolýzu (oxidační pentosofosfátový cyklus). Při obou procesech se získává energie, hlavně v podobě ATP. Odbourávání glukózy je tedy hlavním zdrojem energie v erytrocytu (*Pecka, 2006*).

7 PARAMETRY, KTERÉ SPECIFIKUJÍ ERYTROCITY A ČERVENOU SLOŽKU KRVE

7.1 Počet erytrocytů (RBC)

Závisí na pohlaví, stáří, ovlivňuje jej způsob výživy, nadmořská výška. Na automatických analyzátoch je přímo měřenou hodnotou. Referenční hodnoty u mužů jsou $4,3-5,7 \cdot 10^{12}/l$, u žen $3,8-4,9 \cdot 10^{12}$.

7.1 Hemoglobin (Hb)

Udává se v gramech na liter (g/l), opět přímo měřená hodnota analyzátoru.

7.2 Střední objem erytrocytu (MCV)

Udává se ve femtolitrech (fl). Je opět přímo měřenou hodnotou. Referenční hodnota je 84 – 96fl, hodnoty jsou vyšší u novorozenců a dětí v pubertě. Erytrocyt tohoto MCV označujeme normocyt, při snížení mikrocyt a zvýšení makrocyt.

7.3 Hematokrit (HCT)

Je bezrozměrné číslo, v analyzátoru je počítán z množství erytrocytů a jejich středního objemu (MCV). Vyjadřuje poměr objemu erytrocytů a objemu celé krve. Referenční hodnota u žen je 0,37 – 0,47, u mužů 0,42 – 0,52.

7.4 Střední množství hemoglobinu v erytrocytu (MCH)

Udává se v pikogramech (pg) a je vypočítán z hodnoty hemoglobinu a počtu erytrocytů, udává průměrnou hmotnost hemoglobinu v jedné krvince. Referenční hodnota je 27 – 31 pg. Je dalším důležitým parametrem pro dělení na hypochromní či normochromní anemii.

7.5 Střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu (MCHC)

Je vyjádřena v gramech na liter (g/l), jde o počítanou veličinu z hodnoty hemoglobinu a hematokritu. Referenční hodnota je 310 – 360 g/l.

7.6 Distribuční šíře erythrocytu (RDW)

Charakterizuje rozptřeni erythrocytů do histogramů dle středního objemu erythrocytu MCV (*Lexová, a kol., 2000*).

Krevní buňky jejich parametry měřime na hematologických analyzátorech, erythrocyty, leukocyty a trombocyty lze počítat i mikroskopickou technikou.



Obr.č.5 Hematologický analyzátor CELL-DYN 3700 (www.abbottdiagnostics.cz)



Obr.č.6 Mikroskop (www.mikro.cz)

8 OBECNÁ PATOFYZIOLOGIE

8.1 Změny velikosti erytrocytů

- Anizocyty jsou nestejně velké erytrocyty.
- Mikrocyty jsou erytrocyty menší velikosti než je fyziologické rozmezí.
- Makrocyty jsou erytrocyty větší velikosti než je fyziologické rozmezí.

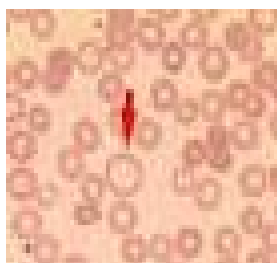
8.2 Změny barvitelnosti erytrocytů

- Hypochromie se projeví snížením obsahu hemoglobinu a centrální bledostí erytrocytů.
- Anizochromie je nestejná barvitelnost erytrocytů.
- Anulocyty jsou erytrocyty s výrazným snížením obsahu hemoglobinu, prstenčité s centrální bledostí erytrocytu, hemoglobin je nashromážděn po obvodu erytrocytu.
- Polychromázie se vyznačuje přítomností mladých červených krvinek, které obsahují zbytky RNA.

8.3 Změny tvaru erytrocytů

8.3.1 Se zachovalým kulatým tvarem buňky

- Leptocyty jsou terčovitě erytrocyty s centrální precipitací hemoglobinu, vyskytují se u anémií z nedostatku železa.



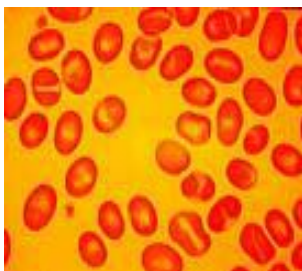
Obr.č.7 Leptocyty (www.hematologica.pl)

- Sférocyty jsou erythrocyty kulovitého nebo bochníkovitého tvaru, vyskytují se u sférocytózy.



Obr.č.8 Sférocyty (www.wadsworth.org)

- Stomatocyty jsou erythrocyty tvaru pootevřených úst, vyskytují se u stomatocytózy a alkoholické cirhózy jater.



Obr.č.9 Stomatocyty (www.lmp.ualberta.ca)

8.3.2 Se změněným tvarem buňky

- Ovalocyty jsou erythrocyty oválného tvaru, vyskytují se u ovalocytózy.
- Eliptocyty jsou erythrocyty vejčitého tvaru.
- Poikilocyty jsou erythrocyty různého až bizardního tvaru, nejčastěji mají tvar visící vodní kapky nebo hrušky, vyskytují se u těžkých anémií
- Schistocyty jsou fragmenty erythrocytů, vyskytují se u mikroangiopatické hemolytické anémie.

- Echinocyty jsou erytrocyty připomínající zdánlivě konfiguraci povrchu ježka, vyskytují se u nemocných po bypassu a někdy po transfuzi
- Akantocyty jsou erytrocyty s ostnatými výběžky, vyskytují se při alkoholickém poškození jater.
- Drepanocyty jsou erytrocyty mající úzký měsíčkovitý až srpkovitý tvar, zvýrazněný zejména při nedostatku kyslíku, vyskytují se u srpkovité anémie
- Dakryocyty jsou erytrocyty tvaru slzy nebo kapky, nachází se u myeloproliferativních onemocnění, u perniciózní anémie, u talasémie, myeloidní dysplázie a u některých hemolytických anémií.

8.3.3 Přítomnost cizorodých částic v erytrocytech, tzv. inkluzí

- Bazofilní tečkování je nahromadění ribozomů.
- Howell-Jollyho tělíka jsou fragmenty DNA.
- Pappenheimerova tělíka reprezentují agregáty feritinu.
- Cabotovy prstence jsou zbytkem jaderné membrány erytroblastů.
- Heinzova tělíka jsou tvořena agregáty hemoglobinu (*Pecka, 2006*).

9 ROZPAD ERYTROCYTŮ

V průběhu stárnutí buňky dochází v erytrocytu ke změnám, které nakonec vedou k jeho zániku. Snižuje se obsah enzymů, množství ATP jako zdroje energie, zmenšuje se velikost buňky. Výsledkem těchto změn je obvykle ztráta schopnosti erytrocytu se deformovat a následkem toho dochází k membránovému poškození.

Přibližně 1% erytrocytů opouští denně cirkulaci a jsou destruovány monocyto - makrofágovým systémem (MMS). Tento extravaskulární rozpad probíhá především ve slezině. Takto se rozpadá 90% starých erytrocytů.

Existují dva základní mechanismy destrukce erytrocytu:

9.1 Extravaskulární destrukce

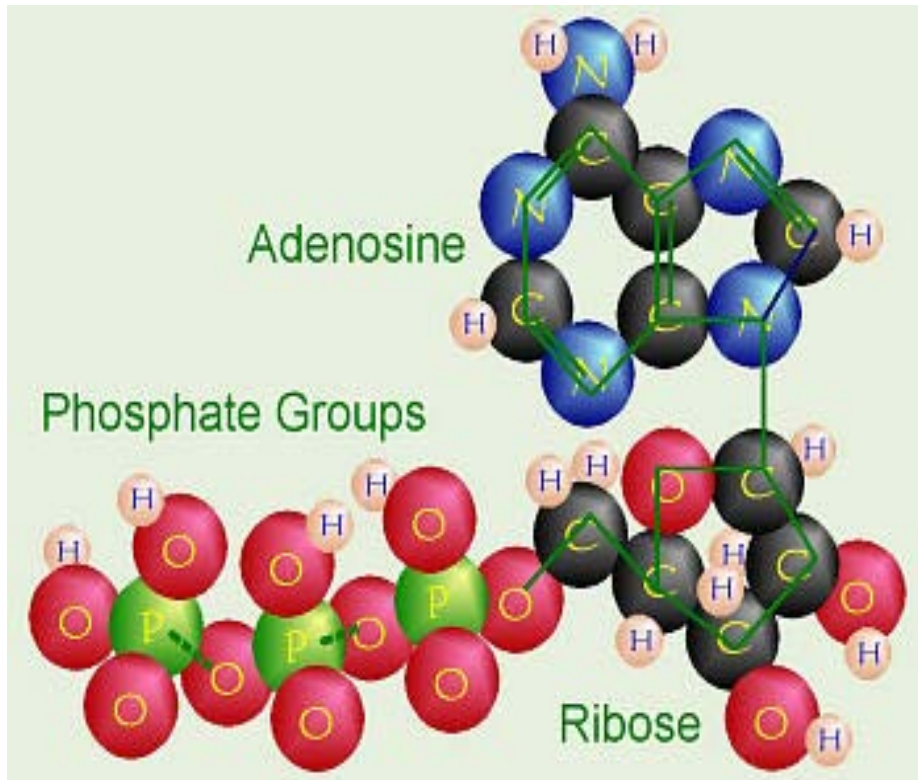
Po odstranění erytrocytu z cirkulace dochází k protržení membrány erytrocytu, hemoglobin je štěpen enzymem hemoxygenázou, železo z hemu se vrací do plazmy nesené transferinem jako zásobní, aminokyseliny z globinu se vrací do aminokyselinového poolu. Zbývající protoporfirinový kruh je rozštěpen a vzniká biliverdin, který je v MMS redukován na bilirubin, který v nekonjugované formě putuje do jater. Na této cestě se váže na albumin plazmy, v játrech je pomocí glukuronidázy konjugován s kyselinou glukuronovou a vyloučen se žlučí do střeva. Střevní flora jej přemění na urobilinogen, který je jako urobilin vyloučen stolicí.

9.2 Intravaskulární destrukce

10% erytrocytů na konci doby své životnosti podléhá destrukci přímo v cévách a hemoglobin je uvolněn do krve. Rozpadá se na alfa, beta dimery a váže se na bílkovinu plazmy- haptoglobin. Tento komplex je vychytán MMS. K filtrování ledvinami nedochází, neboť komplexy jsou příliš velké. Jestliže však dojde ke spotřebování haptoglobinu z plazmy, dimery hemoglobinu jsou vylučovány ledvinami anebo jsou v krvi oxidovány na methemoglobin. Za této situace jsou skupiny hemu odštěpeny a vážou se na jiný transportní protein – hemopexin. Takto opouští cirkulaci přes játra, kde jsou katalyzovány.

Za fyziologických okolností erytrocyt přežívá v oběhu přibližně 120 dní. Hemolytické stavy jsou charakterizovány zkráceným přežíváním erytrocytů. Za běžných

okolností má kostní dřeň kapacitu pro zvýšení erythropoézy až na desetinásobek běžné produkce. K rozvoji anémie dochází tehdy, když dochází k nerovnováze mezi zvýšenou tvorbou a zánikem erytrocytů (*Lexová, a kol., 2000*).



Obr.č.10 Struktura ATP (biology.clc.uc.edu)

10 LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ U ANÉMII

U laboratorní diagnostiky anémií využíváme vyšetření těchto základních parametrů.

- Krevní obraz (Hb, HCT, MCV, MCH, MCHC, WBC, PLT)
- Krevní nátěr (anomálie erytrocytů, retikulocyty, rozpočet leukocytů)
- Kostní dřeň (hodnocení aspirátu v obarveném nátěru s posouzením morfolgie)
- Ostatní (hladiny v séru pro vitamín B₁₂, kyselina listová, celkové železo, vazebná kapacita pro železo aj.)

Primárním a nejdostupnějším vyšetřením u laboratorní diagnostiky anémie je krevní obraz. Součástí vyšetření krevního obrazu mimo parametrů červené složky je i vyšetření počtu leukocytů se stanovením diferenciálního rozpočtu leukocytů a počtu trombocytů. Diferenciální rozpočet leukocytů stanovíme jednak pomocí hematologického analyzátoru nebo manuálně - nátěrem krevní kapky na sklíčko, následným cytochemickým barvením a mikroskopickým hodnocením. Při podrobnějším vyšetření přistupujeme k vyšetření kostní dřeně a to buď punkcí nebo trepanobiopsií.

Ty nám umožní posoudit buněčnost kostní dřeně, případně infiltraci dřeně maligními buňkami a eventuální fibrózu. Počet erytrocytů není pro posouzení anémie směrodatný, protože může být i při nižších hodnotách hemoglobinu snížený, normální nebo zvýšený, jak je tomu např. u talasemie minor nebo u mírných forem sideropenické anémie (Pecka, 2006).

Aspirace kostní dřeně - po vpichu a zavedení jehly do spongiózní části kosti aspirace stříkačkou, následný nátěr aspirátu na sklíčko a po obarvení provedení cytologické analýzy.

Trepanobiopsie-odběr části kosti k histologickému vyšetření, při výkonu se nejčastěji používá Yamshidiho jehla (*Cetkovský et al, 2004*).



Obr. č. 11 Odběr kostní dřeně (www.trepanobiopsie.cz)

11 SPECIÁLNÍ PATOFYZIOLOGIE – DĚLENÍ ANÉMÍÍ

Anémie můžeme třídit podle patofyziologických nebo morfologických kritérií. V praxi nejčastěji používáme kombinaci obou klasifikací, protože ze zkušenosti víme, že je vždy nutná integrace anamnézy, somatického a laboratorního vyšetření (*Klener et al., 2003*).

11.1 Morfologické dělení

11.1.1 Podle MCV

Anémie můžeme dělit na mikrocytární, normocytární a makrocytární. Mezi nejčastější mikrocytární anémie řadíme anémie z nedostatku železa (*Lexová a kol., 2000*).

Mezi vzácné příčiny *mikrocytárních* anémií patří hemoglobinopatie. Hemoglobin Lepore je stabilní abnormální hemoglobin, který je tvořen 2 normálními alfa a 2 fúzními delta beta řetězci.

Příčinou vzniku je crossing-over mezi delta a beta globinovými lokusy. Častý výskyt tohoto abnormálního hemoglobinu je ve středomoří (*Bělohávková, 2004*).

11.1.2 Podle MCH

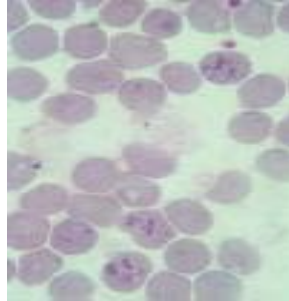
Anémie můžeme dělit na hypochromní a normochromní.

11.1.3 Podle RDW

Můžeme dělit na anemie s anizocytozou a s homogenní populací.

Další diferenciální diagnóze napomůže zjištění počtu *retikulocytů*, které nám oddělí stavy se zachovanou kompenzační schopností dřeně a stavy, u nichž je tato schopnost porušena nebo snížení erythropoézy je přímo příčinou anémie. Pomocí tohoto rozdělení se nám široký soubor anemických syndromů rozčlení na menší počet podskupin, které jsou vymezeny stejnou charakteristikou erytrocytu, většinou jeho odchylkou.

Umožní to v dalším stupni diagnostiky použít cíleně dalších laboratorních vyšetření a zobrazovacích metod, které nakonec odhalí příčinu anémie (*Lexová, a kol., 2000*).



Obr.č.12 Retikulocyty (www.med.muni.cz)

11.2 Etiopatogenetické dělení

Znamená dělení anémií podle příčiny a mechanismu jejich vzniku. Přestože morfologické dělení je velmi praktické, neboť parametry, které užívá, má jako první informaci lékař k dispozici, zjištění příčiny chudokrevnosti je naprosto nezbytné před zahájením cílené léčby nemocného (*Lexová a kol., 2000*).

Základní rozdělení: (*Pecka, 2006*).

- Anémie z nedostatečné tvorby erytrocytů
- Anémie z akutní a chronické ztráty krve
- Anémie ze zvýšené destrukce erytrocytů
- Anémie z kombinovaných příčin

11.2.1 Anémie z nedostatečné tvorby erytrocytů

11.2.1.1 Porucha časných progenitorů erytropoézy

Čistá aplazie červené řady (Pure Red Cell Aplasia – PRCA)

Příčinou tohoto onemocnění je kvantitativní porucha krvetvorby, postihující výlučně červenou řadu.

Laboratorní nález:

V krevním obraze je normocytová anémie, prakticky chybí retikulocyty, je normální počet trombocytů a leukocytů.

V krevním nátěru je těžká normocytová normochromní anémie.

V kostní dřeni se nachází se výrazné snížení až chybění erytropoézy, normální granulocytopenie, lymfopenie a megakaryocytopenie.

Hladiny EPO jsou zvýšeny.

PRCA může být vrozená a získaná.

Dyserythropoetické anemie

Jedná se o velmi vzácné formy vrozených anémií s nápadnými morfologickými změnami vývojových stadií krve tvořící červené řady v kostní dřeni i periferní krvi (mnohojaderné normoblasty, bazofilní tečkování a vakuolizace cytoplazmy, cytoplazmatické můstky mezi erytroblasty, Howell-Jollyho tělíčka, mezibuněčné jaderné chromatinové můstky, předčasná ztráta jádra). Rozlišujeme na vrozené a získané.

11.2.1.2 Poruchy tvorby hemoglobinu

Poruchy tvorby hemoglobinu mohou být vyvolány řadou příčin. Nejčastější příčinou bývá nedostatek železa. U anémií z poruchy tvorby hemoglobinu je produkováno málo hemoglobinu a to vede k nízké produkci i červených krvinek. Porucha syntézy hemoglobinu je způsobena těmito příčinami: poruchou syntézy *hemu* nebo poruchou syntézy *globinu*. (Pecka, 2006).

a) porucha syntézy hemu

Sideropenická anémie

Vyskytuje se zejména u žen ve fertilním věku a dětí. Její prevalence je zásadně ovlivnitelná dietou a značně kolísá podle regionů: u evropských ročních dětí je její výskyt 2-3% (Male, 2001). U stejně starých dětí v rozvojových zemích je její incidence i více než 35% (Munic, Castro, Araújo, 2007). Tato anémie z nedostatku železa patří k nejčastějším onemocněním vůbec. U některých dětí je anémie vyléčena po zjištění a odstranění její příčiny, u některých dětí bývá anémie dlouhodobým problémem (Petřelová, 2003). Rozlišujeme tři stupně nedostatku železa:

- prelatentní sideropenie
- latentní sideropenie
- sideropenická anémie

Příčina: nedostatek železa v organismu může být vyvolán nadměrnou ztrátou, nedostatečným přívodem (včetně poruchy vstřebávání) anebo zvýšenými nároky v organismu.

Laboratorní nález:

V periferní krvi, je-li manifestní nedostatek železa, objevuje se anémie a to nejprve normocytární a při poklesu hemoglobinu cca pod 110g/l dochází i ke zmenšování objemu erytrocytu a anemie bývá mikrocytární. Současně v rozvinutých případech je přítomná hypochromie a anizocytoza. V nátěrech z periferní krve nacházíme převahu hypochromních mikrocytů, u těžkých stavů i anulocyty, je rovněž patrna anizocytoza a poikilocytoza. Leukocyty nebývají obvykle početně změněny, zatímco počet trombocytů bývá zvýšen. Počet retikulocytů bývá normální, nebo je zvýšen méně, než by odpovídalo stupni anémie.

Nátěry kostní dřeně nebývají výrazněji buněčné, při barvení na železo je snížen počet sideroblastů v kostní dřeni, nebo mohou zcela chybět. Stejně tak není přítomno zásobní Fe v makrofázích.

Dalším laboratorním nálezem je snížená hodnota plazmatického železa v séru, spolu se zvýšenou celkovou kapacitou pro železo a se sníženou její saturací. O vymizelých zásobách Fe v organismu nás informuje snížená hladina sérového feritinu. Dalšími vyšetřeními, která mohou napomoci diagnóze, neboť mapují metabolismus železa, jsou obsah feritinu v erytrocytech, stanovení volného protoporfyrinu v erytrocytech a vyšetření transferinového receptoru.

Léčba sideropenie a sideropenické anemie spočívá v odstranění příčiny a substituci železa (*Lexová, a kol., 2000*).

Anaemia factitia

Jde o sideropenickou anémii navozenou arteficiálním krvácením – sebepoškození nemocných, většinou psychopatických osob (*Klener et al., 2003*).

Dědičné sideroblastické anémie

Jde o heterogenní skupinu vzácných onemocnění. Příčinou těchto onemocnění jsou vrozené defekty enzymů, které se účastní syntézy hemoglobinu – snížená aktivita ALA syntetázy, jindy byla prokázána snížená koncentrace protoporfyrinu či koproporfirinu v erytrocytech (*Lexová, a kol., 2000*).

Získané sideroblastické anémie

Pokud nezjistíme příčinu vzniku získané sideroblastické anémie, hodnotíme anémii jako primární získanou sideroblastickou anémii, která patří do myelodysplastického syndromu (refrakterní anémie s prstenčitými sideroblasty).

Anémie chronických onemocnění

Jde o velmi častý typ anémie. Jejím charakteristickým rysem je, že závažnost změn krevního obrazu obvykle souhlasí se závažností základního onemocnění. V patogenezi se uplatňuje celá řada mechanismů:

- snížená erythropoéza v důsledku nedostatečné produkce erythropoetinu
- snížená odpověď kostní dřeně na účinek erythropoetinu
- snížené uvolňování železa z makrofágů kostní dřeně
- přežívání erytrocytů v periferní krvi je obvykle lehce zkráceno
- podílet se může i zmnožení objemu cirkulující plazmy

Laboratorní nález

V periferní krvi je anémie zprvu normochromní normocytární, v postupném rozvoji nálezu posléze mikrocytární hypochromní, na rozdíl od sideropenie obvykle není výrazně vyjádřena anizocytoza.

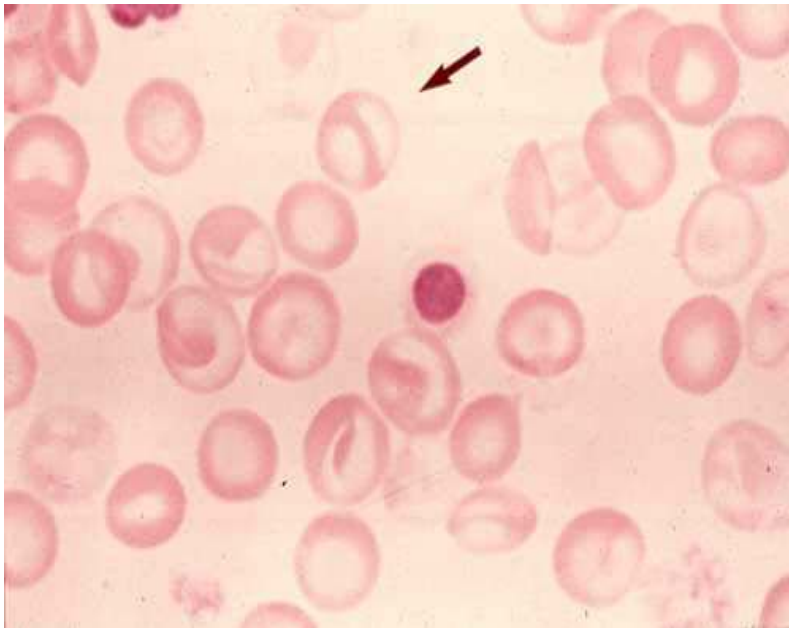
Kostní dřeň bývá středně buněčná, nebývá nápadnější zmnožení erythropoézy. Proti sideropenické anémii je výraznější rozdíl v barvení na železo. Počet sideroblastů je obvykle snížen, bývá však přítomno zásobní železo v makrofázích.

Sérové Fe je obvykle sníženo, ale současně je snížena nebo nejvýše normální vazebná kapacita pro železo a její saturace normální nebo jen lehce snížená (*Lexová a kol., 2000*).

b) porucha syntézy globinu

Talasémie

Anémie, které jsou způsobeny poruchou tvorby globinových řetězců jsou označovány jako talasémie. Jde o vrozená dědičná onemocnění, která se vyskytují především v oblasti Středoziemního moře, v Asii a Africe, ale s lehčí formou talasemie se setkáváme i u osob narozených u nás (*Lexová a kol., 2000*). Podle toho, zda je porušena především tvorba řetězce alfa nebo beta, rozlišujeme dva hlavní typy talasémie: alfa-talasémii a beta-talasemii.



Obr.č.13 Talasémie (www.academic.marist.edu)

Název talasémie, historicky též - Cooleyova anémie či anémie středozevní, pochází z řeckého slova *thalassemia*, což znamená "anémie při moři". Povaha poruchy může být různá a následně také stupeň anémie. Minor forma talasemie většinou ani v normálním životě neznamená závažnější problém (*Palkovič, 2001*).

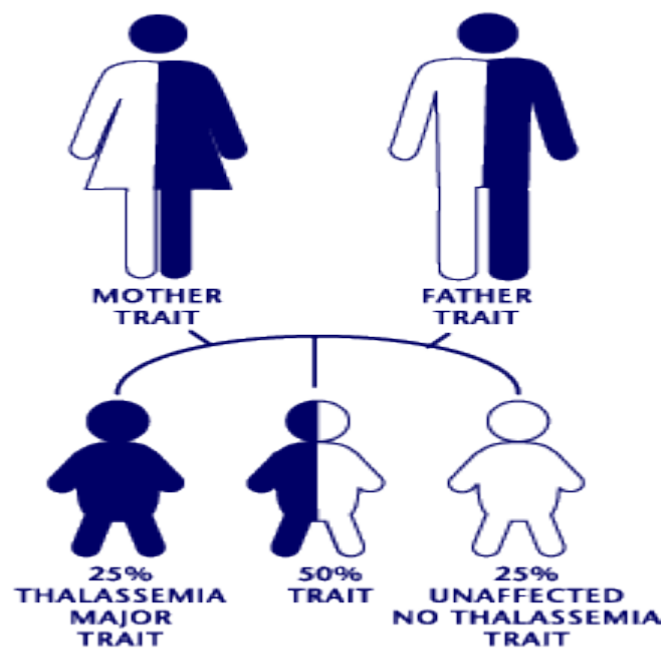
Podle recentního průzkumu bylo ve středomořské populaci (Sardinie) zachyceno v populaci 10,3% nosičů mutací zodpovědných za beta-talasémii a 25,6% mutací zodpovědných za alfa-talasémii (*Cao, Congiu, Sollaino, 2008*). Anémie u talasémii vzniká především v důsledku snížení erythropoézy, uplatňuje se v různé míře též mechanismus hemolýzy.

Laboratorní nález

V krevním obraze je normální nebo zvýšený počet erytrocytů, hypochromie, extrémní mikrocytoza, nízká hodnota RDW, retikulocytoza, hladina Hb většinou vyšší než 90 g/l.

V krevním nátěru jsou leptocyty a jaderné buňky červené řady (Pecka, 2006).

V kostní dřeni bývá zvýšená erytropoéza, v erytroblastech se nachází Howellova – Jollyho tělíska, rovněž bývají nalézány fagocytované erytroblasty.



Obr.č.14 Genetika talasémie (www.daviddarling.info)

Beta – talasémie

Je způsobena hlavně bodovými mutacemi, mnohem méně často delecemi beta-globinového genu, uloženého na krátkém raménku chromozomu 11.

Dvě formy:

- Thalassemia minor* – nejčastější forma, s mírnými klinickými příznaky lehčí anémie, malá splenomegalie. Příčinou je heterozygotní nosičství.
- Thalassemia major* – homozygotní forma, má těžký průběh, záleží na tom, jaká alela byla zděděna.

Alfa – talasémie

Patří k nejčastějším genetickým onemocněním. Předpokládá se, že tvorba alfa řetězců hemoglobinu je kódována v diploidní erytroidní buňce 4 geny – dva lokusy na každém z obou šestnáctých chromozomů. Stupeň poruchy a množství přebývajících beta řetězců závisí na tom, jaký počet genů je porušen. Je-li snižená produkce alfa řetězců, dochází k nahromadění řetězců gama v průběhu fetálního života (čtyři gama řetězce dávají hemoglobin Bart), po narození se tvoří hemoglobin H, složený ze čtyř řetězců.

a) *Tiché nosičství* (silent carrier) - nastává při poruše jediného genu pro alfa řetězec. Jediným příznakem je mikrocytoza bez anémie. (Lexová a kol., 2000).

b) *Alfa – thalassemia minor* nastává při chybění dvou genů pro tvorbu alfa řetězců. U asijských nositelů to bývá dalece obou genů na témže 16. chromozomu, zatímco u černochů je každá dalece na jiném chromozomu.

c) *Choroba hemoglobinu H* - vzniká při postižení tří genů pro tvorbu alfa řetězců. Pro nedostatečnou produkci alfa řetězců vzniká hemoglobin H, který je nestabilní, jeho intracelulární precipitace způsobuje zkrácené přežívání erytrocytů.

d) *Choroba hemoglobinu Barts* - vzniká při chybění všech čtyř genů pro tvorbu hemoglobinu alfa. Jde o nejzávažnější formu, tedy homozygotní alfa – talasemii. Alfa řetězce se vůbec netvoří, takže nemůže vzniknout žádný z hemoglobinu HbA, HbA₂, ani HbF. Vznikající hemoglobin Barts má vysokou afinitu ke kyslíku a důsledkem je nedostatečné předávání kyslíku do tkání. Stav je neslučitelný se životem, většinou dochází k odúmrtí plodu ve 24. až 34. týdnu nitroděložního života.

11.2.1.3 Poruchy syntézy DNA – megaloblastové anémie

Jde o skupinu anemických syndromů různé patogeneze, která je charakterizována tzv. megaloblastovou přestavbou v kostní dřeni. Příčinou je buď porucha metabolismu vitamínu B₁₂ a kyseliny listové, nebo může vznikat porucha syntézy DNA v důsledku působení léků (antimetabolity, cytostatika), či je porucha přímo v genetickém vybavení buňky, jak je tomu například u myelodisplastických syndromů.

Perniciosní anémie

Jde o onemocnění především starších lidí, vzácně postihuje nemocné mladší 40 let. Je řazena k tzv. autoimunním onemocněním. Základním patogenetickým faktorem je nedostatek vnitřního faktoru žaludku (Castleho faktor), který je nezbytný pro resorpci vitamínu B₁₂. Důvodem jsou protilátky, které jsou namířeny buď proti parietálním buňkám žaludeční sliznice, v nichž se vnitřní faktor tvoří, nebo proti samotnému vnitřnímu faktoru a nakonec to mohou být tzv. blokuující protilátky (*Lexová, a kol., 2000*).

Na základě různých studií lze odhadovat, že prevalence atrofické gastritidy je u starších lidí až 20-50% (*Selhub, Bagley, Miller, 2000*)

Laboratorní nález:

V periferní krvi je přítomna makrocytární anémie s MCV více než 100fL, často o hodně vyšší. Anémie může být velmi výrazná, s hemoglobinem i pod 50g/l. Je přítomna leukopenie s neutropenií a trombocytopenie. Počet retikulocytů bývá snížený. V nátěrech je typická makroovalocytóza, anizocytoza a poikilocytoza. V erytrocytech lze najít Cabotovy prstence. U těžkých stavů je obvyklý nález basofilního tečkování, Howell Jollyho tělíška a mohou být nalezeny i jaderné červené krvinky. Dalším typickým nálezem jsou tyče, metamyelocyty a neutrofilily s hypersegmentací jader. V nátěru zjišťujeme krom trombocytopenie i nález velkých až gigantických trombocytů.

Kostní dřeň je buněčně bohatá, hyperplastická. V erythropoéze je megaloblastová přestavba s posunem k méně zralým formám – tzv. „modrá dřeň“. V granulopoeze jsou velké tyče a metamyelocyty, nalézáme hypersegmentované megakaryocyty nebo elementy s bizarními jádry.

Je pozitivní Schillingův test (v současnosti zřídka používaný), přežívání erytrocytů je zkráceno, hladina vitamínu B₁₂ v krvi je snížena, jsou pozitivní protilátky proti parietálním buňkám nebo proti vnitřnímu faktoru.

Léčebně se podává vitamín B₁₂ v parenterální formě.

Ostatní anémie z nedostatku vitamínu B₁₂: postresekční - nedostatek vnitřního faktoru po resekci žaludku, enterogenní - po resekci ilea (chybí resorpční plocha), malabsorbce.

Dále je třeba upozornit, že obdobnou makrocytární anemií a megaloblastovou přestavbu kostní dřeně může způsobit nedostatek kyseliny listové - během těhotenství, jako důsledek nedostatečné výživy (nedostatek kyseliny listové v potravě), alkoholismus.

11.2.2 Anémie z akutní a chronické ztráty krve

11.2.2.1 Anémie z akutní ztráty krve

Příčina tohoto typu anémie je významná ztráta krve po traumatu nebo poškozením cév řady orgánů při jejich chorobném postižení, především nádory. Při akutní ztrátě krve je nemocný ohrožen selháním oběhu, oběhovým šokem. Překoná-li však ztrátu krve a pokles krevního tlaku, může se rozvinout anemie.

Laboratorní nález

V krevním obraze se po několika hodinách krvácení objeví leukocytóza, trombocytóza, po 24 -48 hodinách nacházíme normocytovou a normochromní anémii, retikulocytózu, makrocytózu, zvýšené MCV a pokles hladiny plazmatického železa.

11.2.2.2 Anémie z chronických ztrát krve

Chronická ztráta krve je jednou z nejčastějších příčin anémie (blíže viz sideropenické anémie).

11.2.3 Anémie ze zvýšené destrukce erytrocytů

Prvními průkaznými zprávami o hemolytické anémii jsou případy paroxysmální chladové hemoglobinurie pozorované koncem 13. století Johannisem Actuarinem, dvorním lékařem v Konstantinopoli, který popsal u některých jedinců pasáž černé moči po prochlazení. Do kategorie anemií se zvýšené destrukce erytrocytů se řadí pestrá skupina stavů, jejímž společným znakem je zvýšený předčasný zánik erytrocytů. Změny a funkce erytrocytů mohou totiž zkrátit životnost erytrocytů a způsobit tak jejich zvýšené odbourávání – hemolýzu.

Za hemolytickou anémii považujeme anemii, která vznikne v důsledku urychlené destrukce erytrocytů, kterou nedokáže kostní dřeň zvýšením erythropoézy kompenzovat (Pecka, 2006).

Hemolytické anémie dělíme na:

Korpuskulární, kde příčina zkráceného přežívání erytrocytu tkví přímo v krvince, jedná se s výjimkou PNH o vrozené formy hemolytické anémie.

Extrakorpuskulární, kde příčina zkráceného přežívání erytrocytu je v prostředí, ve kterém se erytrocyt pohybuje. Anemie v této skupině jsou naopak získanými.

11.2.3.1 Korpuskulární anémie

Defekt erytrocytů vyvolávající jejich zkrácené přežívání se může týkat:

a) membrány – hemolytické anémie z odchylek ve skladbě membrány

Jsou to choroby, u nichž porucha buněčné membrány erytrocytu vede k ztrátě normálních vlastností membrány, zabezpečující řadu funkcí, což se projeví zkrácením života erytrocytu.

Hereditární sférocytóza(HS)

Jde o vrozené onemocnění membrány erytrocytů, které zapříčiňuje zvýšenou propustnost pro sodík. Z hereditárních hemolytických stavů se vyskytuje v evropských podmínkách nejčastěji (Lexová, a kol., 2000). Většina těchto chorob je autozomálně dominantně dědičná, vzácná je tzv. atypická HS s autozomálně recesivní dědičností a těžkým průběhem. Příčina tkví v defektu periferních bílkovin membrány krvinky, které se účastní formování cytoskeletu buňky – jako první byl popsán nedostatek spektrinu, ale může jít o poruchu i jiných proteinů, které spektrum v membráně ukotvují. Celkem se dnes popisují čtyři typy poruchy: samostatný deficit spektrinu, kombinovaný deficit spektrinu a ankyrinu, defekty proužku 3 a proteinu 4.2. Tento genetický defekt má za následek nestabilitu lipidové dvouvrstvy membrány, dochází ke snížení lipidů (zvláště cholesterolu a fosfolipidů). Změna je provázena zvýšenou propustností membrány krvinky pro sodík a Na-K pumpa musí proti gradientu „vypumpovat“ více sodíku z buňky (Lexová, a kol., 2000). Tento proces je energeticky náročný. Omezený energetický metabolismus erytrocytu není schopen tuto zvýšenou energetickou potřebu krýt. Ztráta membránového povrchu vede ke vzniku sférického tvaru erytrocytu. Takto

změněná krvinka není schopna projít slezinnými sinusy více než 20-30 krát. Pak již ve slezině uvízne, a protože je zde nepříznivé prostředí (vyšší hematokrit, méně glukózy) je krvinka nakonec ve slezině fagocytována buňkami monocyto-makrofágového systému.

Laboratorní nález:

Lehčí až středně těžká normocytární normochromní anémie. U pacientů probíhají hemolytické krize a vzácně i aplastické krize. Někteří nemocní mohou mít i normální hodnoty krevního obrazu. Hodnoty retikulocytů jsou zvýšené. V nátěrech vidíme v různém počtu sférocyty – s tmavším zbarvením, chybí centrální projasnění, menší průměr. Není přítomna anizocytóza.

V kostní dřeni je hyperplazie erytropoézy, vzácně megaloidní rysy (z nedostatku kyseliny listové u zvýšené erytropoézy). Zásoby železa v kostní dřeni jsou normální, nebo dokonce zvýšeny.

Mezi ostatní laboratorní nálezy patří hyperbilirubinémie. Osmotická rezistence erytrocytů je snižena, Pink test na sférocytózu je pozitivní. Autohemolýza je zřetelně zvýšená a snižuje se po přidání glukózy (ne po ATP). Přežívání pacientových krvinek označených radioaktivním chrómem ^{51}Cr je zkráceno a zanikají s převahou nad slezinou. Rutinně se však tento test nevyužívá. Jsou známky extravaskulární hemolýzy – zvýšený nepřímý bilirubin, v moči urobilinogen, mírně zvýšená laktátdehydrogenáza.

Metodou volby při léčbě je splenektomie. U pacientů po splenektomii může docházet k trombotickým komplikacím, hlavně v portálním řečišti a žilách dolních končetin (*Cetkovský et al, 2004*).

Hereditární eliptocytóza(HE)

Jde o heterogenní skupinu dominantně dědičných membránových poruch erytrocytů, charakterizovaných přítomností eliptocytů v periferní krvi. Je pětikrát méně častá než hereditární sférocytóza. Některé HE mají genetickou vazbu na Rh antigen. Jde o molekulární poruchy spektrinu. Eliptické erytrocyty mají sníženou deformovatelnost, takže špatně prochází slezinou (*Lexová a kol., 2000*).

Hereditární stomatocytóza

Heterogenní skupina autozomálně dominantně dědičných membránových hemolytických anémií charakterizovaných přítomností stomatocytů (*Lexová, a kol., 2000*).

Je to extrémně vzácná dědičná porucha, erythrocyty jsou se středním pruhem bledosti, dávají vzhled úst (*Theml, Heinz, Haferlach, 2004*).

Hereditární akantocytóza

Jde o vzácné onemocnění, kdy změna tvaru erythrocytů vzniká v důsledku abetaproteinémie – chybění beta – lipoproteinů v plazmě. Onemocnění se manifestuje v prvních měsících života poruchou růstu, mentální retardací, steatorhoeou.

Paroxysmální noční hemoglobinurie

Je to jediná získaná korpuskulární hemolytická choroba (*Lexová, a kol., 2000*). Podle současných poznatků ji můžeme řadit k nemaligním klonálním onemocněním – jde o proliferaci abnormálního klonu s postižením všech tří vývojových řad. Choroba postihuje mladší dospělé, nejčastěji do 40. roku života. Somatickou mutací v kmenové buňce vzniká buněčný klonus, který může koexistovat s normální erythropoézou. V geneticky změněných buňkách dochází k defektu bílkovin, které za normálních okolností tlumí aktivaci komplementu. Byly popsány defekty bílkovin, které ukotvují glykosylovaný fosfatidylinositol v buněčné membráně. Patří sem např. MRL(CD59, membrane inhibitor of reactive lysis), DAF (CD55, decay accelerating faktor), C8B (C8 binding protein). Všechny tyto bílkoviny jsou schopny reagovat s komplementem. Důsledkem těchto změn je zvýšená citlivost membrán erythrocytů na aktivovaný komplement, který již v nepatrné koncentraci může způsobit hemolýzu erythrocytů. Na rozdíl od předchozích membránových defektů dochází k převážně intravaskulárnímu rozpadu – hemoglobinurii (*Lexová a kol., 2000*).

Jsou pozitivní testy na průkaz hemolýzy po aktivaci komplementu okyselením – Hamův test (*Lexová a kol., 2000*).

b) metabolismu – hemolytické anémie z poruchy nebo nedostatku enzymu

Erythrocyt má určenou konečnou enzymatickou výbavu získanou v erythroblastech.

Defekty enzymů vedou k různému stupni hemolýzy (*Chrobák, 2004*). Nejčastěji jde o poruchy těchto enzymů.

Defekt glukózo – 6 – fosfátdehydrogenázy (G-6-PDH)

Patří k nejrozšířenějším vrozeným hemolytickým stavům a současně k nejčastějším genetickým defektům v této skupině anémií. Gen pro G-6-PDH je lokalizován na chromozomu X. V případě, že má genetická abnormalita za následek snížení aktivity příslušného enzymu, dochází k narušení normální přeměny glukózo- 6 - fosfátu na 6 fosfoglukonát za současného vzniku NADPH. Tím vzniká nedostatek redukováného NADPH a tím i glutathionu, potřebného k ochraně hemoglobinu před oxidací. Oxidovaný hemoglobin může precipitovat v erythrocytech ve formě Heinzových tělísek, dochází k oxidaci lipidů membrány krvinek a k jejímu narušení.

Defekt pyruvátkinázy

Autosomálně recesivně dědičná nesférocytová hemolytická anémie. Vyskytuje se více v oblasti severní Evropy, ale je popsán i výskyt mimo Evropu (*Lexová, a kol., 2000*). Pyruvátkináza je enzym glykolytického Embden-Meyrhofova cyklu, který zabezpečuje přeměnu fosfoenolpyruvátu na pyruvát za vzniku ATP (*Pecka, 2006*).

Ve Francii bylo nalezeno ve zkoumaném rozsahu 56-ti rodinných studií devět homozygotních případů onemocnění a 41 případů onemocnění s neobvyklými mutacemi (*Pissard, a kol., 2007*).

c) hemoglobinu – hemolytické anémie z odchylek v molekule hemoglobinu

Hemoglobinopatie jsou vrozenými defekty genu tvořícího řetězce globinu v hemoglobinu. V molekule globinu dochází k záměně aminokyselin a následně k vytvoření patologicky změněné molekuly hemoglobinu. Jen některé z těchto patologicky změněných hemoglobinů vytváří nestabilní formy, které mohou vyvolat hemolytické stavy. Z hemoglobinopatií jsou nejznámější hemoglobinopatie S, dále C,D,E a tzv. nestabilní hemoglobiny (*Pecka, 2006*).

Hemoglobinopatie S – srpkovitá anémie

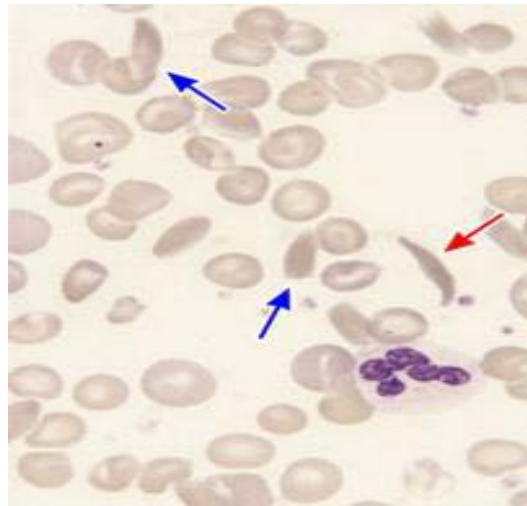
Je to dědičná hemolytická choroba, u které dochází k záměně glutamové kyseliny za valin v 6. pozici - globinového řetězce. Takto změněný hemoglobin se označuje jako hemoglobin S (HbS).

Existují dvě formy anémie: homozygotní HbSS a heterozygotní HbSA. Každá z forem má odlišný klinický průběh. Srpkovatění erytrocytů je pravděpodobně selekční ochranou proti tropické malárii. Buňky napadené původcem malárie vytváří srpky zvláště snadno a jsou fagocytovány ve slezině. Tím nedochází k rozvoji onemocnění (Pecka, 2006).

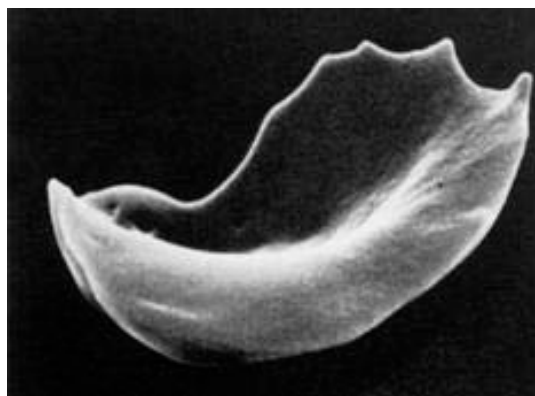
Laboratorní nález:

V krevním obrazu je anémie, retikulocytóza a trombocytóza.

V krevním nátěru jsou drepanocyty, leptocyty, anizocytoza, poikilocytoza, Howell-Jollyho tělíška.



Obr. č.15 Drepanocyty (www.sekk.cz)



Obr. č.16 Drepanocyt (www.sekk.cz)

V kostní dřeni je hyperplazie červené řady a drepanocyty.

Navzdory vylepšení podpůrné léčby u pacientů se srpkovitou anémií nebo beta - talasémií major je někdy nutné pro funkci hemopoetické aktivity přistoupit k transplantaci kmenových buněk z pupečnickové krve (*Pinto, et al., 2008*).

U pacientů se srpkovitou anémií dochází k orgánovému poškození, jako důsledku vazookluzivních krizí (subjektivně velice bolestivých) následkem srpkovatění erytrocytů při polymerizaci deoxydenaturovaného hemoglobinu S (*Indrák, a kol., 2006*).

Hemoglobinopatie C

Projevuje se jako anémie s terčovitými erytrocyty.

Hemoglobinopatie E

Projevuje se jako anémie s nálezem mikrocytozy.

11.2.3.2 Extrakorpulární hemolytické anémie

Jde o velkou skupinu získaných hemolytických stavů, které můžeme rozdělit takto:

A. IMUNITNÍ HEMOLYTICKÉ ANÉMIE

a) Způsobené aloprotilátkami

Akutní (intravaskulární) hemolytické anemie

b) Způsobené autoprotilátkami

AIHA s tepelnými protilátkami

AIHA s chladovými protilátkami

Paroxysmální chladová hemoglobinurie

Symptomatické autoimunní hemolytické anémie, polékové hemolytické anemie

B. NEIMUNITNÍ HEMOLYTICKÉ ANEMIE

Z chemických příčin

Z infekčních příčin

Z fyzikálních příčin

A) IMUNITNÍ HEMOLYTICKÉ ANÉMIE

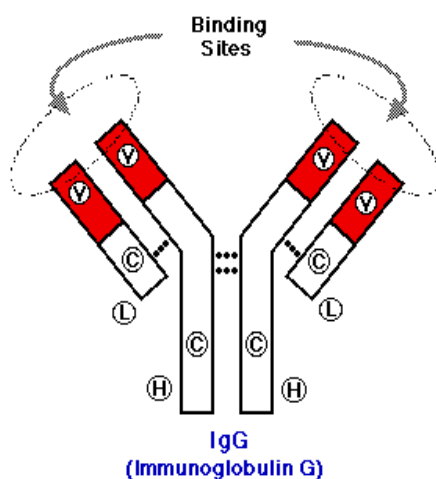
Jsou zapříčiněny imunitními mechanizmy – tedy přítomností protilátek namířených proti antigenním strukturám erytrocytů, a to buď v přítomnosti či nepřítomnosti komplementu.

Tyto protilátky mohou být aloimunní (namířené proti antigenu jiného organismu stejného druhu) - hemolytická potransfuzní reakce, hemolytické onemocnění novorozence anebo mají charakter autoprotilátek (po selhání kontrolních mechanismů imunity si organismus tvoří protilátky proti strukturám vlastního těla – erytrocytům).

Protilátky mohou být v obou případech buď třídy IgG, které způsobí senzibilizaci erytrocytů a jejich následnou destrukci ve slezině, nebo IgM, které mohou vést k přímé intravaskulární hemolýze krvinek cestou aktivace komplementu (*Penka, 2001*).

Přítomností negativního náboje na povrchu erytrocytů je způsobeno, že dvě červené krvinky se vzájemně odpuzují a nejmenší vzdálenost, která mezi nimi (v solném prostředí) vzniká je 20-30 nm. Velká molekula IgM protilátky je schopna svými Fab fragmenty přemostit dvě sousední krvinky a způsobit aglutinaci. Molekula IgG dosahuje na vzdálenost 14-18 nm, takže dva sousední ery se nepropojí a nedochází k aglutinaci. K aktivaci komplementu může v tomto případě dojít pouze v případě silné koncentrace protilátky nebo modifikací testovacího prostředí. Antierytrocytární protilátky působí tedy dvěma hlavními mechanizmy:

- buňkami zprostředkovaný extravaskulární zánik senzibilizovaných erytrocytů
- komplementem zapříčiněnou intravaskulární hemolýzu



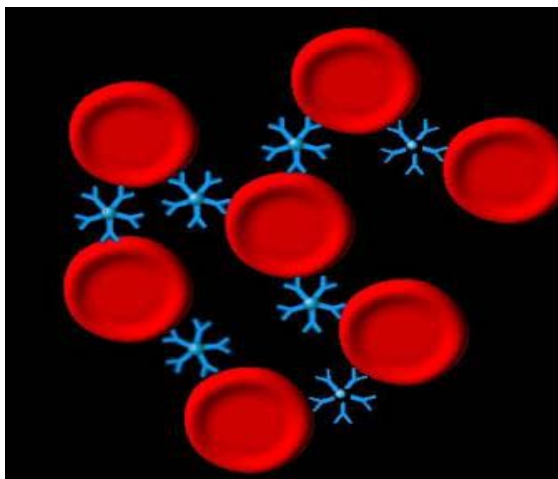
Obr. č.17 Molekula IgG (www. science-projects.com)

V prvním případě protilátka povléká krvinku a buňky MMS takto změněný erytrocyt rozeznávají prostřednictvím receptoru pro Fc fragment imunoglobulinu (IgG₁ a IgG₃) nebo receptoru pro C₃ složku komplementu.

Anémie způsobené aloprotilátkami

Akutní (intravaskulární) hemolytické anemie

K hemolýze po krevní transfuzi dochází po rychlé destrukci erytrocytů účinkem protilátek přítomných v plazmě příjemce. Příčinou reakce je inkompatibilita v ABO systému. Brzy po vzniku erythropoézy se v krvi každého jedince vytváří přirozené protilátky třídy IgM (aglutininy) a to proti těm antigenům ABO systému, které vlastní krvinky nenesou. Jedná se o imunitní odpověď na antigenní stimuly ze zevního prostředí. IgM protilátky příjemce jsou schopné vázat komplement s bezprostřední intravaskulární hemolýzou aplikovaných erytrocytů. Závažnost reakce závisí na objemu transfundovaných inkompatibilních erytrocytů, stavu MMS, rychlosti zahájení léčby. Volný hemoglobin zvyšuje plicní kapilární rezistenci a podílí se na vzniku ARDS.



Obr. č. 18 Přímá aglutinace erytrocytů molekulami IgM třídy – schéma
(www.bio-pro.de)

Klinické příznaky se objevují velmi rychle – horečka, zimnice, třesavka, úzkost, dušnost a bolest na hrudníku, tachykardie a hypotenze. Reakce je život ohrožující – hrozí akutní renální selhání a rozvoj DIC (diseminovaná intravaskulární koagulace).

Laboratorně se projeví hemoglobinémie, hemoglobinurie, hyperbilirubinémie, pokles hladiny haptoglobinu, v důsledku poškození ledvin narůstají hodnoty kreatininu a močoviny. PAT (přímý antiglobulinový test) i NAT (nepřímý antiglobulinový test) je pozitivní hemolýza v séru.

Pozdní potransfuzní hemolytická anemie

Jde o sekundární anamnestickou protilátkovou odpověď. Příčinou bývají protilátky namířené proti antigenům Rh systému (E, c, D) a Jk^a. Dochází k pozvolnému nárůstu protilátek za 4-8 týdnů po transfuzi, prokazatelné hodnoty jsou třeba až za 5 měsíců. Po následné transfuzi je již imunitní odpověď rychlejší a vysoká koncentrace protilátky se vyvíjí během několika dnů.

Klinické příznaky - v rozmezí několika dnů až týdnů po transfuzi se může rozvinout anémie a žloutenka.

Laboratorně je nutné vyšetření z čerstvého vzorku krve. PAT může být pozitivní, specifita je pak určena elučním testem. Jsou-li senzibilizované ery již hemolyzovány, může být PAT negativní, ale protilátka může být prokázána v séru. Problematický je

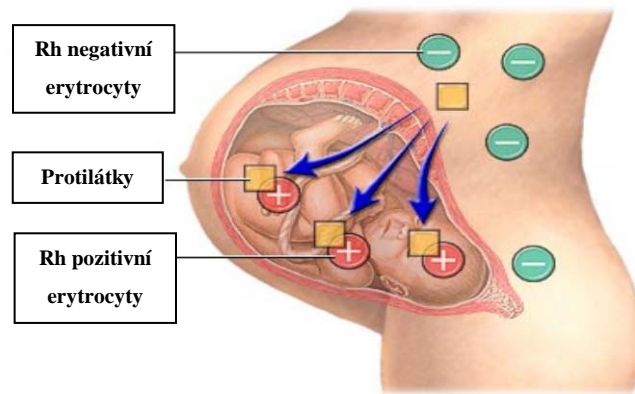
průkaz protilátek anti-Jk^a a anti-E, protože koncentrace těchto protilátek klesá rychleji a předtransfuzní testy jsou obvykle negativní i u pacientů ve skutečnosti senzibilizovaných (Penka, 2001).

Hemolytické onemocnění novorozence

Největší roli hraje v tomto případě inkompatibilita v systému Rh a AB0, dále Kell, MNSs, Lu, Diego, Dombrock. Dojde-li k průniku erytrocytů plodu přes placentu do oběhu matky, začne matka vytvářet imunní protilátky proti erytrocytárním antigenům které její erytrocyty nenesou, ale které dítě zdědilo od otce. K vycestování malého množství fetálních ery do krevního oběhu matky dochází obvykle v druhé polovině těhotenství, nejčastěji však při samotném porodu. Podstatné je, že přes placentu do krevního oběhu dítěte mohou pronikat jen protilátky třídy IgG, neboť protilátky třídy IgM jsou pro přechod placentární bariérou příliš velké. Vznikne-li fetomaternální inkompatibilita a proniknou-li erytrocyty plodu s odlišnou antigenní výbavou do oběhu matky a dají-li vzniknout díky nastalé inkompatibilitě tvorbě aloprotilátek, způsobují zkrácené přežívání erytrocytů (45-70 dní). Ischémie tkání má za následek zvýšení erythropoézy extramedulárně, což vede ke zvětšení jater a sleziny. V těžkých případech vzniká hluboká chudokrevnost, špatné prokrvení tkání a generalizovaný edém plodu – *hydrops fetalis*. Po porodu do hry dále vstupuje vysoká hladina nekonjugovaného bilirubinu dítěte, který díky nezralosti jater dítěte nemůže být konjugován s kyselinou glukuronovou ani vázán na albumin. Tento nevázaný bilirubin může pronikat hematoencefalickou bariérou a poškozovat mozek dítěte – *jádrový ikterus*.

a) Rh inkompatibilita

Onemocnění způsobené protilátkami proti antigenům Rh systému, které si vytváří Rh/D negativní matka, pokud je plod Rh/D pozitivní. Ty v těhotenství přestupují placentou a vedou k hemolýze Rh/D pozitivních krvinek plodu. Jde většinou o protilátky proti antigenu D, eventuelně v kombinaci antigenu C, E (Penka, 2001). V kavkazoidní populaci jsou nejčastější příčinou těžkého HON již ve II. trimestru (s nutností intrauterinní transfuze) protilátky anti-D (85%), anti-Kell (10%), anti-c (3,5%) a anti-E (De Silva, 2003). Protilátka anti-c může způsobit opožděnou anémii novorozence (Gooch, Parker, Wray, Quareshi, 2006).



Obr. č. 19 Imunizace Rh/D antigenem (www.google.com)

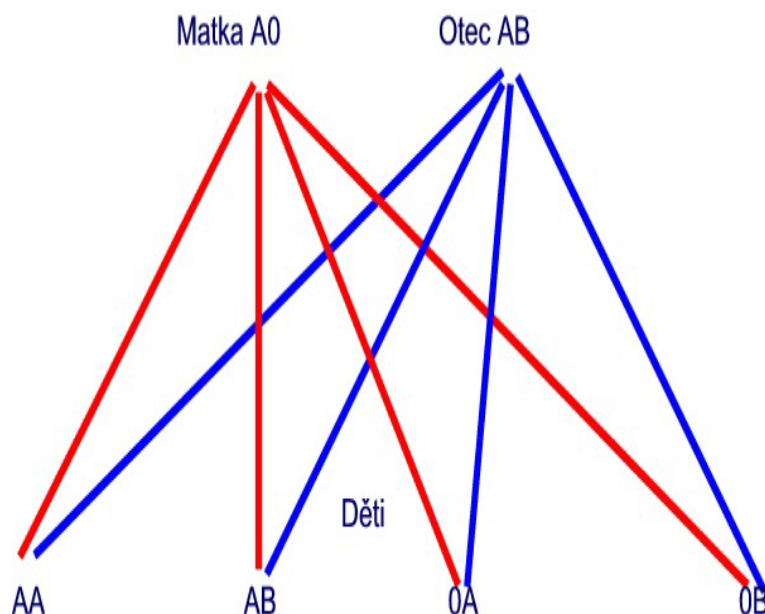
Klinické příznaky jsou odlišné od tíže postižení.

Laboratorně se projeví anémie, leukocytosa, zvýšený počet retikulocytů, hladina nepřímého bilirubinu narůstá v průběhu 24 hodin. Z pupečnickové krve lze zjistit pozitivitu PAT jako průkaz senzibilizace ery dítěte.

Výměnná transfuze představuje účinnou, ale invazivní eliminační metodu, při které dochází k odstranění významné části bilirubinu a v případě hemolytické nemoci i senzibilizovaných erytrocytů a protilátek podílejících se na hemolýze (*Novorozenecký ikterus, 2007*).

b) ABO inkompatibilita

Hemolytické onemocnění novorozence či plodu v tomto případě vzniká v důsledku přítomnosti imunních protilátek v ABO systému v oběhu matky. Inkompatibilita v ABO systému je častější než v Rh systému. K onemocnění dochází v případě, že matka má krevní skupinu 0, zatímco dítě má A nebo B. Matky mají v plazmě přítomny přirozené aglutininy anti A, anti B, které jsou třídy IgM, ale mají i imunní protilátky anti A, anti B třídy IgG. Ty pak mohou být příčinou hemolytického onemocnění novorozence, zdědil-li po otci ery, které nesou antigeny A nebo B. Na rozdíl od inkompatibility v Rh, kde je obvyklé onemocnění druhého a dalších dětí (pokud nebyla již matka imunizována jiným způsobem – potrat, transfuze), může v tomto případě být relativně často postiženo již první dítě.



Obr. č. 20 Krevní skupiny-genetika (www.dvojcata.kat.cz)

Klinické příznaky- žloutenka v prvních 24 hodinách života, anémie středně výrazná

Laboratorně- zvýšena hladina nepřímého bilirubinu, z pupečnickové krve je slabě pozitivní nebo pozitivní PAT. Nutno provést eluční test k průkazu protilátky, stanovit volnou protilátku v séru dítěte. V séru matky lze prokázat imunní protilátky anti A, anti B neutralizačním testem (Penka, 2001).

Amplifikace fetální DNA pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) se stává důležitým hráčem na poli prenatální diagnostiky HON. Stanovení genotypu lze uplatnit u systému Rh (D,c,E), Kell(K), Kidd (Jk^a) a Duffy(Fy^a). Největší význam má genotypizace pro gen RHD. U specifík, kde je výskyt HON vzácný, je však význam genotypizace sporný. Do popředí se jednoznačně dostává genotypizace plodu z fetální DNA získané ze vzorku plazmy těhotné. Výhodou použití mateřské plazmy je to, že se jedná o neinvazivní vyšetření. Nevýhodou jsou falešné negativy. Komplikací je i to, že u D^w těhotných nelze určit RHD genotyp plodu. (Masopust, 2008).

Anémie způsobené autoprotilátkami (AIHA)

Jde o hemolytické stavy způsobené protilátkami namířenými proti vlastním erytrocytům organismu.

AIHA s tepelnými protilátkami

Onemocnění charakterizované zkráceným přežíváním ery v důsledku přítomnosti protilátek reagujících optimálně při teplotě 37° C. Tepelné protilátky jsou nejčastěji namířeny proti antigenům systémů Rh (anti e), vzácněji proti Kell, Jk, MNS, Fy. Jde v naprosté převaze o protilátky třídy IgG, které mohou, ale nemusí vázat komplement (IgG1 a IgG3) a vedou k destrukci erytrocytů extravaskulárně ve slezině. Zřídka se uplatňují protilátky třídy IgM a výjimečně IgA event. v kombinaci s IgG. IgG1, IgG3 jsou pro indukci hemolýzy závažné, IgG2 a IgG4 se významněji na hemolýze nepodílí.

Klinické příznaky - proměnlivý klinický obraz od chronické hemolýzy po prudké a život ohrožující stavy, plíživý začátek onemocnění – slabost, únava, dušnost, nechutenství, horečka, tromboflebitis, u starších lidí může být prvním příznakem angína pectoris, při prudkém průběhu s intravaskulárním rozpadem – hemoglobinurie a tmavá moč.

Laboratorně bývá různě těžká anémie – normocytová někdy makrocytová, zvýšený počet retikulocytů, v nátěru sférocyty, anizocytoza, polychromázie. Kostní dřev je buněčně bohatá se zmnoženou erytroidní složkou, zvýšený nepřímý bilirubin v séru. Základní diagnostikou je přítomnost imunoglobulinu, komplementu či obou na povrchu ery. Je tedy pozitivní PAT (20 – 66% IgG, 24 – 63% IgG + C₃, 7 – 14% C₃), 1 – 4% má negativní PAT (hemolýza způsobena nízkoafinními IgG protilátkami). NAT je pozitivní v případě, že i po obsazení všech antigenních míst na krvinkách zůstávají v séru pacienta ještě volné antierytrocytární protilátky. Součástí diagnostiky je určení specifity protilátky.

AIHA s chladovými protilátkami

Jde o autoimunní chorobu s protilátkami reagujícími při teplotách nižších než 32° C. Chladové protilátky jsou IgM charakteru a mají schopnost aktivovat komplement, i když v některých případech jen částečně (po C₃b složku komplementu). Je-li komplement aktivován úplně, dochází k přímé intravaskulární hemolýze ery. Je-li aktivace jen částečná, chladové protilátky se po průchodu parenchymatózními orgány při tělesné teplotě z krvinky uvolňují. Zůstává navázána jen C₃b složka komplementu, která je příčinou adherence takto změněného ery na buňky MMS prostřednictvím příslušného receptoru.

Patologické chladové aglutininy bývají přítomny ve vysokých titrech a mají většinou široké teplotní rozmezí reaktivity protilátky (20 – 37°C). Specifita protilátek bývá anti-i, anti-I, anti-M, anti-N.

Klinickými příznaky jsou akrocyanosa, cyanotické zbarvení terminálních částí těla v chladu, žloutenka, bledost, hepatosplenomegálie, hemoglobinurie

Laboratorně se projeví anémie a má sezónní charakter – zvyrazňuje se v chladných měsících roku, je obtížné vyšetření ery v důsledku autoaglutinace in vitro při pokojové teplotě, PAT pozitivní, u pacientů s vysokým titrem protilátek nebo širokou teplotní amplitudou může být výrazně problematické stanovení krevní skupiny, zvýšený nepřímý bilirubin, pozitivní nález volného hemoglobinu, snížená hladina haptoglobinu.

Paroxysmální chladová hemoglobinurie

Vzácné autoimunní onemocnění charakterizované vznikem hemoglobinurie po expozici chladu. Vznik autoprotiátek není zcela objasněn, jako u jiných AIHA. Příčinou hemolýz a hemoglobinurie je v tomto případě Donath-Landsteinerova protilátka. Jde o chladovou komplement fixující protilátku třídy IgG, specifity anti – P, která je bifázickým hemolyzinem (v ochlazených částech těla se váže na erytrocyty, hemolýza je způsobena aktivací komplementu při teplotě 37° C.)

Klinickými příznaky jsou horečka, bolesti zad a končetin, hemoglobinurie po expozici chladu, nausea, zvracení, bolesti hlavy, cyanosa

Laboratorně se projeví hemoglobinémie, hemoglobinurie, PAT pozitivní (je –li použito sérum s antikomplementární aktivitou), pozitivní Donath – Landsteinerův test, prokazující reaktivitu protilátky jak v chladu, tak i při teplotě 37° C (Pecka, 2006).

Polékové hemolytické anémie

Léky mohou vést ke zkrácení přežívání erytrocytů dvěma mechanismy:

- oxidací hemoglobinu
- léky indukujícími imunitní mechanismy

Imunitní mechanismy vedoucí k polékové hemolýze můžeme rozlišit na:

a) tvorba imunitních komplexů

Lék vede k tvorbě protilátky, spolu pak vytváří komplexy, které jsou absorbovány na povrch erytrocytu. Imunitní komplex, který je takto na membránu navázán, může aktivovat komplement a vést k intravaskulární hemolýze. Tento mechanismus může být současně namířen i proti leukocytům či trombocytům.

b) adsorpce léku na povrch erytrocytu

Lék nebo jeho metabolit je absorbován na povrch erytrocytu, působí pak jako haptén a vede k tvorbě protilátek. Protilátky reagují s lékem na povrchu krvinky, což má za následek poškození a lýzu erytrocytu. Klasickým představitelem této skupiny je penicilin. Asi 3% nemocných léčených velkými dávkami penicilinu vytváří protilátky typu IgG, které povlečou krvinku a jsou příčinou její extravaskulární hemolýzy. Komplement není většinou těchto protilátek aktivován.

c) modifikace membrány erytrocytu

Například cefalosporiny v interakci se strukturami membrány erytrocytů mohou způsobit falešně pozitivní PAT.

d) neznámý mechanismus

I když přesný mechanismus vzniku AIHA po užívání alfa - metyldopy není znám, má tento lék přímý vliv na T lymfocyty, což může mít za následek ztrátu jejich supresorové regulační funkce a vede k sekundární k tvorbě autoprotilátek B lymfocyty. Tento typ polékové hemolýzy je nejčastější (*Penka, 2001*).

Symptomatické autoimunní hemolytické anémie

Jsou ty, které jsou způsobené autoprotilátkami a kde tvorba autoprotilátek je součástí základního onemocnění (nádorové, infekční, revmatické).

B) NEIMUNITNÍ HEMOLYTICKÉ ANÉMIE

Do této skupiny řadíme anémie kde je hemolýza vyvolaná působením chemických látek, fyzikálních činitelů a infekce. Patří sem také mikroangiopatické hemolytické anémie.

Mikroangiopatické hemolytické anémie

Jde o skupinu chorob, u kterých dochází k poškození drobných cév s následnými poruchami krevního srážení a tvorbou mikrotrombů. V takto pozměněném cévním řečišti dochází k poškozování (fragmentaci erytrocytů), jež podléhají hemolýze.

Laboratorní nález:

V krevním nátěru nacházíme schistocyty, dále je zvýšena hladina volného hemoglobinu.

Do skupiny mikroangiopatických hemolytických anémií řadíme hemolyticko-uremický syndrom (HUS), trombotickou trombopenickou purpuru (TTP) a diseminovanou intravaskulární koagulaci (DIC).

11.2.4 Anémie z kombinovaných příčin

Anémie jsou u těchto stavů přidruženým onemocněním a mají většinou mírný průběh. Příčiny anémií jsou různorodé, odvislé většinou od základní diagnózy.

Anémie z kombinovaných příčin nacházíme:

a) u maligních nádorů, kdy je anémie vyvolaná blasty a to infiltrací kostní dřeně, dále anémie vyvolané nádorovými buňkami. Do této skupiny řadíme též anémie vyvolané osteomyelofibrósou.

b)) u chronických infektů a zánětů (*Lexová, a kol., 2000*).

12 APLASTICKÉ ANÉMIE (DŘEŇOVÉ ÚTLUMY)

Aplastická anémie byla poprvé popsána v r. 1888 Ehrlichem. Aplastickými anémiemi nazýváme heterogenní strukturu nemocí, při kterých dochází k pancytopenii v periferní krvi vyvolanou následkem hypoplazie kostní dřeně se sníženou produkcí všech elementů, bez přítomnosti primární choroby infiltrující či nahrazující kostní dřeň. Jde tedy o selhání krvetvorby vyvolané porušenou činností nebo úbytkem hematopoetických kmenových buněk kostní dřeně zahrnující sníženou produkci buněk vývojových řad- erytrocytů, trombocytů a leukocytů (*Pecka, 2006*).

Jedná se o úbytek hematopoetických kmenových buněk CD34+ a progenitorových buněk myeloidní řady.

12.1 Vrozené

Jsou poměrně vzácné. Vrozenou aplastickou anémií je i Fanconiho syndrom a Blackfan-Diamondova anémie.

Fanconiho syndrom

Je vzácné vrozené onemocnění, které je charakterizováno autozomálně recesivním typem dědičnosti, pancytopenií, poruchou růstu, anomálií skeletu, hnědou pigmentací kůže, hypoplazií genitálu, mentální retardací a dalšími anomáliemi (*Klener et al., 2003*).

V krevním obraze je makrocytová anémie, leukopenie a trombocytopenie, běžný je výskyt cytogenetických změn. Častý je přechod v akutní leukémii neb paroxysmální noční hemoglobinurii. V léčbě je někdy příznivá odezva na přívod androgenů, jinak je indikována transplantace kostní dřeně (*Klener, 2003*).

Blackfan-Diamondova anémie

Patří mezi vzácná vrozená onemocnění, projevující se vrozenou hypoplazií erytropoézy. U obou pohlaví se vyskytuje ve stejném poměru (*Petrýlová, 2003*).

U 30% pacientů jsou zobrazovány malformace, zejména rukou, obličeje, srdce a urogenitálního traktu (*Campagnoli, et al., 2008*).

12.2 Získané

Jsou to anémie idiopatické a sekundární. Mezi získané útlumy červené řady se řadí Akutní erytroblastopenie (Gasserova), Akutní čistá aplazie červené řady (Owrenova) a Přejídná a regenerační anémie (Wranneho a Lovrice). Získané aplastické anémie jsou primární, většinou autoimunní a sekundární – po ozáření, infekcích a cytostaticích (Klener, 2003).

13 MYELOYDYSPLASTICKÝ SYNDROM

MDS zahrnuje skupinu onemocnění kostní dřeně, charakterizovanou hlubokou různorodostí v morfologii, klinickém průběhu a cytogenetice. Zhruba u 50% pacientů jsou zobrazeny klonové chromozomální abnormality (*Haase, 2008*).

13.1 Refrakterní anémie (RA)

Refrakterní anémie je myelodysplastický syndrom charakterizovaný inefektivní dyserythropoezou vedoucí k anemii. Musí být vyloučeny všechny příčiny vedoucí k erytroidním abnormalitám (*Kačírková, Campr, 2007*).

13.2 Refrakterní anémie se sideroblasty (RAS)

Refrakterní anémie s prstenčitými sideroblasty je myelodysplastický syndrom charakterizovaný anemií a přítomností nejméně 15% prstenčitých sideroblastů ze všech erytroblastů v nátěru kostní dřeně. Prstenčitý sideroblast je definován jako sideroblast, jehož jádro je obklopeno alespoň z jedné třetiny nejméně deseti (dle některých autorů nejméně pěti) siderotickými granuly při průkazu železa. Je však nutno vyloučit sekundární příčinu prstenčitých sideroblastů – toxické změny v souvislosti s alkoholem či některými antituberkulotiky nebo otravu olovem (*Kačírková, Campr, 2007*).

DISKUZE

Cílem naší práce bylo definovat anémie, prezentovat rozdělení anémií a shrnout možnosti jejich laboratorní diagnostiky.

Pacient přicházející k ošetřujícímu lékaři, u kterého je později diagnostikován anemický syndrom, uvádí příznaky neúplného zdraví (dyskomfort), jako je slabost, únavnost, malátnost, dušnost při námaze, závratě, ospalost přes den a poruchy spánku v noci, dyspepsie, cvale, subikteris, acinózní bolesti na hrudi, klaudikace a další. Tyto subjektivní příznaky vznikají z nedostatku kyslíku ve tkáních a z kompenzačních mechanismů, kterými se organismus snaží zvládnout patologickou situaci (*Cetkovský et al., 2004*). Teprve však zhodnocení objektivních symptomů a laboratorní vyšetření vede ke stanovení konečné diagnózy. Neboť řada z nespecifických příznaků může naznačovat i jiné onemocnění a nezřídka se stává, že pacient bez důkladného laboratorního vyšetření může být diagnostikován mylně a tudíž i ne zcela správně léčen (*Bureš, a kol., 2003*).

K objektivním symptomům anémií patří kožní a slizniční příznaky, jako je bledost nehtových lůžek, lomivé, podélně rýhované až lžícovitě vyhloubené nehty. Na spojivkách nacházíme kromě bledosti subikterus u hemolytických anémií nebo u perniciózní anémie, hemorhagie u útlumových anémií při současném nedostatku trombocytů. V ústech lze nalézt rovněž petechie nebo ulcerace (při anémiích se současným nedostatkem neutrofilů). Při megaloblastových anémiích je symptomem vyhlazený, malinově červený jazyk (*Indrák, a kol., 2006*).

Kardiovaskulární systém reaguje v případě anémií zvýšeným minutovým výdejem. Zejména u starších jedinců se může manifestovat dosud latentní ischemická choroba srdeční syndromem anginy pectoris, v případě latentní arteriosklerózy na dolních končetinách klaudikacemi. Na všech srdečních ústích lze najít tzv. srdeční šelesty. U starších osob mohou nastat příznaky klasického srdečního selhávání.

V důsledku tkáňové hypoxie reaguje urogenitální systém zvýšenou permeabilitou glomerulární membrány a vzniká lehká albuminurie. Později jsou zjištělné i poruchy koncentrační schopnosti ledvin. U žen vznikají poruchy měsíčeků až amenorea, u obou pohlaví poruchy libida.

Nervové buňky jsou velmi citlivé na nedostatek kyslíku. Zhoršená saturace kyslíkem se projeví hučením v uších, závratěmi a synkopou, poruchy koncentrace, ospalostí, emoční labilitou. Vše se může podobat neurotickému syndromu. (*Bureš, a kol, 2003*)

Pacienti si rovněž stěžují na dyspeptické poruchy, jako je porucha sentence, plynatost, sklon k zácpě, úbytek váhy. Při hemolýze může vzniknout abdominální kolika, u některých anémií pak hepatosplenomegalie (*Klener et al,2003*).

Jak je výše uvedeno klinický obraz anémií je velmi bohatý a skutečně je nutné si ověřit, zda u nemocného jde o anemický syndrom či ne laboratorně.

Je třeba provést takzvané minimální vyšetření, což obnáší: hladinu Hb, lépe však celý červený krevní obraz (HCT, počet erytrocytů), ještě lépe však celý krevní obraz, vždy i s vyšetřením retikulocytů. Poté následuje vyšetření speciální, které slouží k ověření, o kterou skupinu anémií nebo kterou klinickou jednotku jde. V této souvislosti provádíme testy na hemolýzu, enzymopenické anémie, zjištění atrofické gastritidy atd. Především myslíme na nejčastější typ anémií – feriprivní typ.

Při anémii z nedostatku železa je nutné se pokusit o „etiologickou léčbu“, tj. odstranit zdroj krvácení, tumor, léčit základní chorobu atd. Úhrada ztrát Fe se provádí pokud možno perorálně. Preparátů Fe je několik, jde většinou o železnaté soli – sulfáty, fumaráty, sukcinity nebo glukonáty. Dodává se většinou 150-300 mg Fe, preparáty jsou obvykle upraveny tak, aby stačila 3x denně jedna tableta. Depotní preparáty se podávají v dávce 1-2 denně. Vedlejšími příznaky bývá často dyspeptický syndrom, sklon k obstipaci. Parenterální preparáty však mají mnohem více nežádoucích účinků (lokální bolest v místě vpichu, pigmentace, až anafylaktická těžká reakce)

U megaloblastové anémie zjišťujeme při vyšetření krevního obrazu makrocytovou anémii, někdy lehčí leukopenii a trombocytopenii, hypersegmentaci neutrofilu. V kostní dřeni je erytroidní hyperplazie, krvetvorba je megaloblastická. V krvi je snížená koncentrace vitamínu B12 (norma 223-1123 mg/l, tj 180 – 600 μmol/l(a kyseliny listové (norma v séru 6,3 – 35,4 nmol/l). Je snížená aktivita alkalické fosfatázy v leukocytech (sérová koncentrace Fe je zvýšená, stejně jako sycené transferinu – erytropoéza je neefektivní, megalocyty se brzy rozpadají).

U hemolytických anémií je potřeba diagnostikovat známky zvýšeného rozpadu a zpravidla i regenerace erytrocytů. Mezi známky zvýšeného rozpadu patří zkrácené přežívání (zjišťované radioaktivním chrómem), zvýšená bilirubinémie a urobilinogen v moči, zvýšené koncentrace Fe v plazmě, zvýšené koncentrace plazmatického Hb při intravaskulární hemolýze, hemosiderin v moči (v moči může být i hemoglobin – hemoglobinurie), pokles hodnot haptoglobinu a hemopexinu. Dále zjišťujeme známky zvýšené produkce: zmnožení červené řady ve dřeni (erytroidní hyperplazie), retikulocytóza, polychromazie, popřípadě výskyt jaderných erytrocytů v periférii. Speciální znaky hemolýzy se vyskytují jen u některých skupin hemolytických anémií nebo u některých klinických jednotek. Jde např. o Heinzova tělíska u enzymatických anémií, změny tvaru (srpkovitění, sférocytóza atd.) (*Bureš a kol. 2003*).

Nejsnáze dostupnou léčebnou metodou v situacích, kdy má již pacient vážné klinické příznaky anémie je podání transfuzních přípravků.

Nové léčebné postupy u anémií zahrnují mj. lenalidomid při 5q(-)MDS, azacitidin při high-risk MDS a eculizumab pro paroxysmální noční hemoglobinurii (*Ozawa, 2008*).

ZÁVĚR

V této práci jsme shrnuli odborné teoretické poznatky o charakteristice, etiopatogenezi, rozdělení a základní laboratorní diagnostice anémií. Pokusili jsme se zpřehlednit tuto problematiku především nelékařským pracovníkům v laboratořích, kteří spolupracují na laboratorní diagnostice hematologických, ale i jiných onemocnění, kde je anémie průvodním příznakem. Pro tvorbu této práce byla použita literatura od renomovaných českých odborníků v této oblasti medicíny a též byly použity odborné články dalších zahraničních autorů.

SOUHRN

Tato práce je zaměřena na patofyziologii erytrocytů, především na anémie a klade si za cíl shrnout v přehledném a logickém sledu odborné teoretické poznatky o charakteristice a laboratorní diagnostice těchto onemocnění z pohledu laboranta pro hematologii a transfuzní lékařství.

Krev je vysoce specializovaná tekutina, která při proudění v cévním řečišti přichází do bezprostředního styku téměř se všemi tkáněmi lidského organismu, proto odráží i jejich změny.

K určení diagnózy hematologického onemocnění napomáhá v první řadě dobře stanovená anamnéza, podrobné vyšetření nemocného lékařem a vyšetření laboratorní. Analýza příslušných krevních parametrů, cytologické a cytochemické vyšetření kostní dřeně velkou měrou přispívají k diagnostice typu hematologického onemocnění.

SUMMARY

The subject of this thesis is a brief description of morphology, the structure and functions of erythrocytes and of diseases of red cells, particularly of anaemias, from the position of the transfusion medicine and haematology technicians in particular.

Blood is a specialized bodily fluid and as it has the key position in the direct interrelations with the body organs and tissues; it is affected by their changes. Therefore in addition to the primary blood diseases, the blood disorders accompany many of other diseases.

The diagnosis of blood diseases is based on correct records of the patient's history, a proper examination of the patient and laboratory and other complementary examinations. Nevertheless the laboratory examination of blood and erythropoietic systems is essential for diagnosis of any blood diseases.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- BUREŠ J, HORÁČEK J: *Základ vnitřního lékařství*. Galén, Praha 2003, s. 406 – 414.
- CETKOVSKÝ P, et al: *Intenzivní péče v hematologii*. Galén, Praha 2004, 572 s.
- DE SILVA M: New guidelines for pre and perinatal immunohaematology. *Perinatal immunohaematology*. 2003, s. 111.
- GOOCH A, et al. *Guideline for blood grouping and antibody testing in pregnancy*. 2006. Dostupný z WWW: www.bcshguideline.com
- CHROBÁK L. *Hemolytické anémie*. 2004, s. 239-245.
- INDRÁK K, a kol: *Hematologie-vnitřní lékařství*. Triton, Praha/Kroměříž 2006, 278 s.
- KAČÍRKOVÁ P, CAMPR V: *Hematoonkologický atlas krve a kostní dřeně*. Grada publishing, Praha 2007, 285 s.
- KLENER P, et al: *Hematologie I*. Galén, Praha 2003, 115 s.
- LEXOVÁ S, a kol: *Hematologie pro zdravotní laboranty, 1. díl*. Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, Brno 2000, 183 s.
- Novorozenecký ikterus. *Postgraduální medicína*. 2007, č. 25.
- PECKA M: *Laboratorní hematologie v přehledu - fyziologie a patofyziologie krevní buňky*. Finidr, Český Těšín 2006, 304 s.
- PENKA M, BULIKOVÁ A, MATÝŠKOVÁ M, ZAVŘELOVÁ J: *Hematologie I- Neonkologická hematologie*. Grada publishing, Praha 2001, 201 s.
- RACEK J., et al: *Klinická biochemie*. Galén, Praha 1999, 317 s.
- THEML H, HEINZ D, HAFERLACH T: *Color atlas of hematology-practical microscopic and clinical diagnosis*. Stuttgart 2004, 198 s.
- CAO A, CONGIU R, SOLLAINO MC: *Community Genet*. 2008, s. 121-8.
- MALE C, PERSSON LA, FREEMAN V, GUERRA A, van't HOF MA, HACHKE F: *Acta Pediatr*. May 2001, s. 492-8.
- MUNIS P, GONCHITO T, SANTOS T: *Cad Saude Publica*. Jun 2007, s. 1283-93.
- SELHUB J, BAGLEY C, MILLER J: *Am J Clin Nutr*. Februal 2000, s. 614-620.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

PETRTÝLOVÁ, K: *Anémie v dětském věku. Vox pediatre – časopis praktických lékařů.* 2003, č. 9.41 s.

PINTO F, et al: *Cord blood stem cell transplantation for haemoglobinopathies. Br J Haematol.* 2008, s. 149.

CAMPAGNOLI M, et al: *RPS19 mutations in patients with Diamond-Blackfan anemia. Hum Mutat.* 2008, s. 50.

HAASE D: *Cytogenetic features in myelodysplastic syndromes. Ann Hematol.* 2008, s. 40.

OZAWA K: *Pathophysiology, diagnosis and treatment of anemia. Nippon Rinsho.* 2008, s. 428.

PISSARD S, et al: *Pyruvate kinase deficiency in France. Br J Haematol.* 2007, s. 170.

PALKOVIČ M: *Talasémia a potápanie.* 2001. Dostupný z WWW: www.divemed.sk

MC LINTOCK LA, et al: *Transferrin receptors.* 2002. Dostupný z WWW: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed

BĚLOHLÁVKOVÁ, P: *První případ zachytu hemoglobinu Lepore.* 2004. Dostupný z WWW: www.olhemdny.cz/abstrakta

MASOPUST J, et al: *Prenatální a postnatální imunohematologická vyšetření. Transfuze a hematologie dnes.* 2008,44 s.

<http://faculty.ccri.edu/kamontgomery/physiology.htm>

www.drvsrs.com

www.3dchem.com

www.bijj.org

www.abbottdiagnostics.cz

www.mikro.cz

www.hematologica.pl

www.wadsworth.org

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

www.lmp.ualberta.ca

biology.clc.uc.edu

www.trepanobiopsie.cz

www.med.muni.cz

www.academic.marist.edu

www.daviddarling.info

www.sekk.cz

www.science-projects.com

www.bio-pro.de

www.google.com

www.dvojcata.kat.cz

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr.č.1 Erytrocyty (<http://faculty.ccri.edu/kamontgomery/physiology.htm>)

Obr.č.2 Hemoglobin (www.drvsrs.com)

Obr.č.3 Hemoglobin (www.3dchem.com)

Obr.č.4 Transferin-receptor (www.biij.org)

Obr.č.5 Hematologický analyzátor CELL-DYN 3700 (www.abbottdiagnostics.cz)

Obr.č.6 Mikroskop (www.mikro.cz)

Obr.č.7 Leptocyty (www.hematologica.pl)

Obr.č.8 Sférocyty(www.wadsworth.org)

Obr.č.9 Stomatocyty(www.lmp.ualberta.ca)

Obr.č.10 Struktura ATP (biology.clc.uc.edu)

Obr.č.11 Odběr kostní dřeně (www.trepanobiopsie.cz)

Obr.č.12 Retikulocyty(www.med.muni.cz)

Obr.č.13Talasémie (www.academic.marist.edu)

Obr.č.14 Genetika talasémie (www.daviddarling.info)

Obr.č.15 Drepanocyty (www.sekk.cz)

Obr.č.16 Drepanocyt (www.sekk.cz)

Obr.č.17 Molekula IgG (www.science-projects.com)

Obr.č.18 Přímá aglutinace erytrocytů molekulami IgM třídy – schéma (www.bio-pro.de)

Obr.č.19 Imunizace Rh/D antigenem (www.google.com)

Obr.č.20 Krevní skupiny-genetika (www.dvojcata.kat.cz)

SEZNAM ZKRATEK

AIHA	AUTOIMUNNÍ HEMOLYTICKÁ ANÉMIE
ARDS	ACUTE RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME
ATP	ADENOSINTRIFOSFAT
DNA	DEOXYRIBONUKLEOVÁ KYSELINA
EPO	ERYTROPOETIN
Fe	ŽELEZO
HCT	HEMATOKRIT
Hb	HEMOGLOBIN
HE	HEREDITÁLNÍ ELIPSOCYTOZA
HS	HEREDITÁLNÍ SFÉROCYTOZA
HON	HEMOLYTICKÉ ONEMOCNĚNÍ NOVOROZENCE
IGM	IMUNOGLOBULIN M
IGG	IMUNOGLOBULIN G
KO	KREVNÍ OBRAZ
MCH	STŘEDNÍ MNOŽSTVÍ HEMOGLOBINU V ERYTROCYTU
MCHC	STŘEDNÍ KONCENTRACE HEMOGLOBINU V ERYTROCYTU
MCV	STŘEDNÍ OBJEM ERYTROCYTU
MMS	MONOCYTO – MAKROFÁGOVÝ SYSTÉM
NADPH	NIKOTINAMIDADENINDINUKLEOTIDFOSFÁT
NAT	NEPŘÍMÝ ANTIGLOBULINOVÝ TEST
PAT	PŘÍMÝ ANTIGLOBULINOVÝ TEST
RBC	ERYTROCITY
RDW	DISTRIBUČNÍ ŠÍŘE ERYTROCYTU

RNA RIBONUKLEOVÁ KYSELINA

2,3-DPG 2,3- DIFOSFOGLYCERÁT