

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2023

Silvie Kolarczyková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Popis anémii a jejich možnosti léčby
Bakalářská práce

2023

Silvie Kolarczyková

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

Description Of Anemia and Their Treatment Options
Bachelor's Thesis

2023

Silvie Kolarczyková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Silvie Kolarczyková**
Osobní číslo: **C19236**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Popis anémií a jejich možnosti léčby**
Téma práce anglicky: **Description Of Anemia And Their Treatment Options**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Vypracovat teoretickou rešerši týkající se anémií a možnostem jejich léčby.
2. V první části stručně popsat fyziologii erytrocytů, funkci hemoglobinu a laboratorní parametry pro stanovení erytrocytů.
3. Druhou část věnovat změnám morfologie erytrocytů.
4. V poslední části se zaměřit na klasifikaci anémií.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Katarína Svrčková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd
Konzultant bakalářské práce: **Mgr. Šárka Štěpánková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd
Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2021**
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2022**

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc. v.r.
děkan

L.S.

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2022

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne

Silvie Kolarczykova v.r

ANOTACE

Tato bakalářská práce se věnuje popisu anémií a možnostem jejich léčby. Dále se práce zabývá fyziologií erytrocytů a popisem hemoglobinu, který je jejich součástí. Nechybí zde také popis změn morfologie, které mohou u erytrocytů nastat a také laboratorní parametry popisující červené krvinky.

KLÍČOVÁ SLOVA

Anémie, léčba, červené krvinky, hemoglobin, změny morfologie červených krvinek

TITLE

Description Of Anemia And Their Treatment Options

ANNOTATION

This bachelor's thesis deals with description of anemia and their treatment options. The thesis further deals with physiology of erythrocytes and description of hemoglobin, which is a part of them. There is also a description of changes in erythrocytes morphology and laboratory parameters that describe the erythrocytes.

KEYWORDS

Anemia, treatment, red blood cells, hemoglobin, changes of erythrocytes morphology

SEZNAM TABULEK

| | |
|--|----|
| Tabulka 1: Referenční rozmezí feritinu v séru | 25 |
| Tabulka 2: Referenční rozmezí transferinu v séru | 26 |
| Tabulka 3: Referenční rozmezí erytrocytů v krvi u dospělých | 27 |
| Tabulka 4: Referenční rozmezí hemoglobinu v krvi u dospělých..... | 27 |
| Tabulka 5: Referenční rozmezí hematokritu u dospělých..... | 28 |
| Tabulka 6: Referenční rozmezí MCV u dospělých | 28 |
| Tabulka 7: Referenční rozmezí MCH u dospělých | 28 |
| Tabulka 8: Referenční rozmezí MCHC u dospělých | 29 |
| Tabulka 9: Referenční rozmezí RDW | 29 |
| Tabulka 10: Typy vrozených korpuskulárních hemolytických anémií | 61 |

SEZNAM OBRÁZKŮ

| | |
|---|----|
| Obrázek 1: Vývojová řada erytrocytů | 16 |
| Obrázek 2: Schéma erytrocytární membrány | 20 |
| Obrázek 3: Nátěr periferní krve při těžké anémii z nedostatku železa | 39 |
| Obrázek 4: Mrtvé novorozeně s HBFS | 43 |
| Obrázek 5: Znázornění hemoglobinu H v erytrocytech | 44 |
| Obrázek 6: Nátěr periferní krve u Hb Bartova syndromu | 45 |
| Obrázek 7: Vzhled dítěte s beta-talasémií major | 47 |
| Obrázek 8: Hepatosplenomegalie u dítěte s beta-talásémií major | 48 |
| Obrázek 9: Nátěr periferní krve s terčovitými erytrocyty | 50 |
| Obrázek 10: Nátěr periferní krve pacienta se srpkovitou anémií | 56 |
| Obrázek 11: Nátěr periferní krve u hereditární sférocytózy | 63 |
| Obrázek 12: Schéma rozdělení extrakorpulárních hemolytických anémií | 65 |
| Obrázek 13: Periferní nátěr krve s přítomnými mikrosférocyty | 70 |
| Obrázek 14: Aglutinace erytrocytů u AIHA s chladovými protilátkami | 70 |

SEZNAM ZKRATEK

| | |
|---------|--|
| AIHA | autoimunitní hemolytická anémie |
| ALAS | δ -aminolevulonátsyntáza (aminolevulinic acid synthase) |
| ATP | adenosintrifosfát (adenosin triphosphate) |
| BFU | erytroidní buňky tvořící jednotku erytroidů (burst forming unit) |
| CFU | kolonie tvořící jednotka (colony forming unit) |
| DAT | přímý Coombsův (antiglobulinový) test (direct Coombs test) |
| 2,3-DPG | 2,3-difosfoglycerát (2,3-diphosphoglyceric acid) |
| DFC | defasirox |
| DFO | deferoxamin |
| DFP | deferipron |
| DNA | deoxyribonukleová kyselina (deoxyribonucleic acid) |
| EPO | erytropoetin |
| Glu | kyselina glutamová |
| Hb | hemoglobin |
| HbF | fetální hemoglobin |
| HBFS | Hb Bartův fetální hydropsový syndrom (Bart's hydrops fetalis syndrom) |
| HbH | onemocnění hemoglobinem H |
| Hct | hematokrit (hematocrit) |
| HPFH | dědičná perzistence fetálního hemoglobinu (hereditary persistence of fetal hemoglobin) |
| HPLC | vysokoúčinná kapalinová chromatografie (high-performance liquid chromatography) |
| IgG | imunoglobulin G |
| IgM | imunoglobulin M |
| LDH | laktátdehydrogenáza |
| MCH | střední množství hemoglobinu v erytrocytu (mean corpuscular hemoglobin) |
| MCHC | střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu (mean corpuscular hemoglobin concentration) |
| MCV | střední objem erytrocytu (mean corpuscular volume) |

| | |
|---------------------------------------|--|
| NADH | nikotinamidadeninukleotid (nicotinamide adenine dinucleotide reduced form) |
| Na ⁺ /K ⁺ pumpa | sodno-draselná pumpa |
| PCH | paroxysmální chladová hemoglobinurie (paroxysmal nocturnal hemoglobinuria) |
| PCR | polymerázová řetězová reakce (polymerase chain reaction) |
| pO ₂ | parciální tlak kyslíku |
| RBC | červené krvinky (red blood cells) |
| Ret | retikulocyty |
| RDW | distribuční šíře erytrocytu (red cell distribution width) |
| RNA | ribonukleová kyselina (ribonucleic acid) |
| ROS | reaktivní deriváty molekulového kyslíku (reactive oxygen species) |
| SCA | srpkovitá anémie (sickle cell anemia) |
| SCD | srpkovité onemocnění (sickle cell diseases) |
| TBI | celkové železo v těle (total body iron) |
| Tf | transferin |
| TfR1 | transferinový receptor (transferrin receptor protein 1) |
| Val | valin |

OBSAH

| | |
|--|----|
| ÚVOD | 14 |
| 1 FYZIOLOGIE ERYTROCYTŮ | 15 |
| 1.1 Struktura a morfologie erytrocytů | 15 |
| 1.2 Erytropoéza | 15 |
| 1.2.1 Proerytroblasty | 17 |
| 1.2.2 Bazofilní erytroblasty | 17 |
| 1.2.3 Polychromatofilní erytroblasty | 17 |
| 1.2.4 Ortochromní erytroblasty | 17 |
| 1.2.5 Retikulocyty | 18 |
| 1.3 Membrána erytrocytů | 18 |
| 1.3.1 Membránové lipidy | 18 |
| 1.3.2 Membránové proteiny | 19 |
| 1.3.2.1 Integrované membránové proteiny | 19 |
| 1.3.2.2 Periferní cytoskeletové (membránové) proteiny | 19 |
| 1.4 Metabolismus erytrocytů | 20 |
| 1.5 Fyziologický zánik erytrocytů | 21 |
| 2 HEMOGLOBIN | 23 |
| 2.1 Syntéza hemoglobinu | 23 |
| 2.2 Rozpad hemoglobinu | 24 |
| 3 METABOLISMUS ŽELEZA | 25 |
| 3.1 Feritin | 25 |
| 3.2 Transferrin | 26 |
| 4 VYŠETŘOVANÉ PARAMETRY U ERYTROCYTŮ | 27 |
| 4.1 Počet erytrocytů | 27 |
| 4.2 Hemoglobin | 27 |
| 4.3 Hematokrit | 28 |
| 4.4 Střední objem erytrocytů | 28 |
| 4.5 Střední množství hemoglobinu v erytrocytu a střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu | 28 |
| 4.6 Distribuční šíře velikosti erytrocytu | 29 |
| 5 ZMĚNY MORFOLOGIE ERYTROCYTŮ | 30 |
| 5.1 Odchyly ve velikosti | 30 |
| 5.1.1 Mikrocyty | 30 |
| 5.1.2 Makrocyty | 30 |
| 5.1.3 Anizocytóza | 30 |
| 5.2 Odchyly ve tvaru | 31 |
| 5.2.1 Drepanocyty (srpkovité buňky) | 31 |
| 5.2.2 Ovalocyty a eliptocyty | 31 |
| 5.2.3 Stomatocyty | 31 |
| 5.2.4 Echinocyty | 31 |
| 5.2.5 Keratocyty a schistocyty | 31 |
| 5.2.6 Dakryocyty | 32 |

| | | |
|-----------|--|----|
| 5.2.7 | Sférocyty | 32 |
| 5.2.8 | Kodocyty | 32 |
| 5.2.9 | Knizocyty | 32 |
| 5.2.10 | Akantocyty | 32 |
| 5.3 | Změny barvitelnosti | 33 |
| 5.4 | Inkluze v erytrocytech | 33 |
| 6 | CHARAKTERISTIKA ANÉMÍÍ | 35 |
| 7 | KLASIFIKACE ANÉMÍÍ | 36 |
| 7.1 | Etiopatogenetická klasifikace | 36 |
| 7.2 | Anémie z poruchy tvorby erytrocytů | 36 |
| 7.2.1 | Anémie z poruchy syntézy hemu | 36 |
| 7.2.1.1 | Anémie z nedostatku železa – sideropenická anémie | 36 |
| 7.2.2 | Anémie z poruchy syntézy globinu | 41 |
| 7.2.2.1 | Talasémie (kvantitativní hemoglobinopatie) | 41 |
| 7.2.2.1.1 | Alfa-talasémie | 41 |
| 7.2.2.1.2 | Beta-talasémie | 46 |
| 7.2.2.2 | Srpkovitá anémie (kvalitativní hemoglobinopatie) | 53 |
| 7.3 | Anémie ze zvýšené ztráty erytrocytů – hemolytické anémie | 58 |
| 7.3.1 | Korpuskulární hemolytické anémie | 60 |
| 7.3.1.1 | Hemolytické anémie z odchylky v membráně erytrocytů | 61 |
| 7.3.1.1.1 | Hereditární sférocytóza | 61 |
| 7.3.1.2 | Hemolytické anémie z odchylky v molekule hemoglobinu | 65 |
| 7.3.2 | Extrakorpuskulární hemolytické anémie (získané) | 65 |
| 7.3.2.1 | Autoimunitní hemolytické anémie | 66 |
| | ZÁVĚR | 74 |
| | BIBLIOGRAFIE | 76 |

ÚVOD

Anémie jsou chorobné stavy, kdy koncentrace hemoglobinu a/nebo počet červených krvinek je nižší, než bývá za běžného stavu a nedostačuje k uspokojení fyziologických potřeb daného jedince. Jedná se o nejčastější onemocnění krevtvorby postihující téměř třetinu populace.

Bakalářská práce uvádí informace o vybraných typech anémií, které se mohou u jedinců vyskytnout. Pro lepší pochopení daného tématu je v práci definována fyziologie erytrocytů zaměřená na morfológickou a strukturální složku erytrocytů a také na erythropoézu, která je nezbytná pro vývoj krvinek. Hemoglobin tvoří důležitou součást erytrocytů, proto je v této práci věnovaná část i tomuto metaloproteinu. Pro laboratorní diagnostiku jsou nezbytně potřebné laboratorní parametry pro stanovení erytrocytů, proto jsou i tyto parametry v bakalářské práci popsány. Další část je zaměřená na morfológické změny červené řady, které mohou u erytrocytů nastat.

Hlavní cílem této bakalářské práce je shrnutí poznatků o vybraných typech anémií, přičemž je kladen důraz na patogenezi, na klinické projevy a na možnosti diagnostiky. Na závěr byly popsány možnosti léčby těchto anémií.

1 Fyziologie erytrocytů

Erytrocyty (RBC – red blood cells), běžně známé jako červené krvinky, jsou malé bezjaderné buňky s průměrem asi 7–8 μm . Jejich tloušťka je přibližně 2,5 μm a průměrný objem je 90 fl. Povrchová plocha tvoří cca 140 μm^2 . Jedná se o buňky, které představují hlavní buněčnou složku cirkulující krve. Erytrocyty zaujímají 40–45 % objemu celé krve. (Pecka, 2006b; Adewoyin, 2019; Kinnunen, 2011)

Hlavní funkcí erytrocytů je transport kyslíku z plic do tkání a následný přenos oxidu uhličitého z tkání do plic k výdechu. V plicních kapilárách váže červená krvinka hemoglobin, který obsahuje vdechnutý kyslík. V tomto případě se jedná o oxyhemoglobin. Tyto erytrocyty bohaté na kyslík pak putují tepnami až do krevních kapilár, kde se kyslík uvolňuje z hemoglobinu a difunduje do tkání. Současně dochází k vazbě oxidu uhličitého na hemoglobin a vytváří se deoxyhemoglobin. Krvinky bohaté na oxid uhličitý pak putují žilní krví směrem k srdci a odtud do plic a v nich, respektive v plicních kapilárách, dochází k uvolnění CO_2 z hemoglobinu výměnou za novou dávku kyslíku. (Vasković, 2022; Barbalato, 2021; Benedik, 2014)

1.1 Struktura a morfologie erytrocytů

Erytrocyty jsou známé tím, že mají oproti jiným lidským buňkám atypickou strukturu. Erytrocyty mají totiž za fyziologického stavu bikonkávní tvar. Tento tvar napomáhá schopnosti erytrocytů prostupovat drobnými krevními cévami a tím dodávat kyslík do orgánů a tkání. Červené krvinky jsou také bezjaderné, naplněné hemoglobinem. Ten je schopen transportovat kyslík a oxid uhličitý mezi plícemi a tkáněmi. (Viallat, 2014; Klinken, 2002)

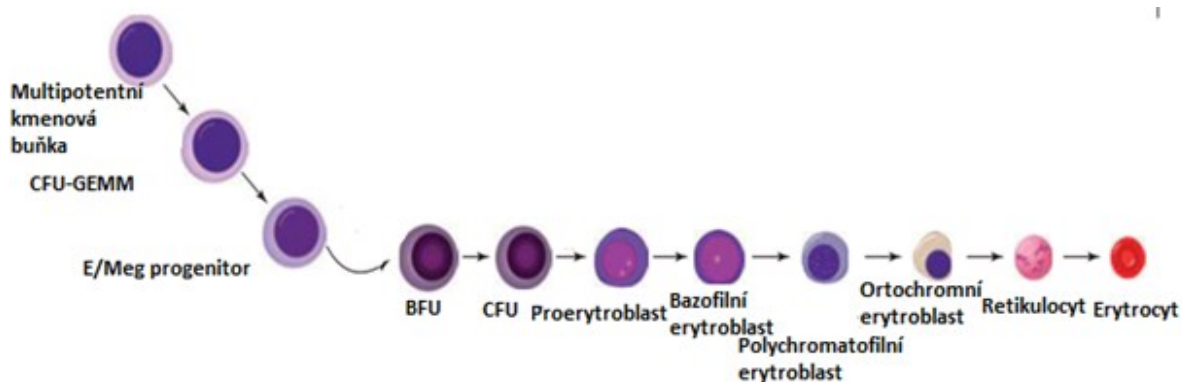
Na rozdíl od jiných buněk erytrocyty neobsahují jádro, mitochondrie, Golgiho organely a endoplazmatické retikulum, jelikož tyto organely ztratily během procesu erythropoézy. Absence těchto nitrobuněčných organel ponechává prostor pro stovky milionů molekul hemoglobinu nalezených v erytrocytech. Jediné zbývající struktury jsou cytoplazma, která je uzavřena okolní buněčnou membránou. (Vasković, 2022; Risinger, 2020; Yoshida, 2019)

1.2 Erythropoéza

Erythropoéza je proces tvorby nových červenýchrvinek. Tento proces je jedním z dílčích procesů hematopoézy probíhající v kostní dřeni. Všechny zralé erytrocyty mají omezenou životnost, proto je nutné, aby existovala obnovitelná zásoba progenitorových buněk, které by nahradily staré buňky. Multipotentní kmenové buňky vytvořené během embryonálního

období mají schopnost se diferencovat na myeloidní a lymfoidní progenitorové buňky. (Crumbie, 2022)

Proces tvorby červených krvinek vychází ze společné linie, respektive z kmenové buňky s megakaryopoézou a dále samostatně postupuje od erytroidního prekurzoru **BFU-E (Burst Forming Unit-Erythropoesis – erytroidní buňky tvořící jednotku erytroidů** přes **CFU-E (Colony Forming Unit-Erythroid – kolonie tvořící jednotka)** k již morfologicky diferencovatelným proerytroblastům. Další diferenciace pak probíhá přes bazofilní, polychromatofilní a ortochromní erytroblasty k retikulocytům. (Penka, 2011, s. 17; Kaushansky, 2016) Pro lepší pochopení je celý proces tvorby erytrocytů znázorněn na obrázku 1.



Obrázek 1: Vývojová řada erytrocytů (Kaushansky, 2016)

Zásadní roli v procesu erythropoézy má několik cytokinů a růstových faktorů. Erythropoetin (EPO) je jedním z nejlépe prostudovaných cytokinů, který umožňuje přežití a proliferaci maturujících erytroidních buněk počínaje progenitorem CFU-E až pozdější fáze zrání. EPO interaguje jako ligand pro specifický receptor erythropoetinu nacházející se převážně na erytroidních prekurzorech. Strukturálně se jedná o glykoprotein se čtyřmi sacharidovými zbytky, který je produkován v peritubulárních buňkách v proximální tubulární oblasti ledvin. Produkce EPO je primárně regulována přívodem kyslíku, vzhledem k jeho požadavkům na kyslík. Tato hladina je detekována specializovanými buňkami v ledvinách. Podmínky, které způsobují snížení dodávky kyslíku, stimulují poté produkci erythropoetinu. Jedná se například o pobyt ve vysokých nadmořských výškách nebo o plicní onemocnění. (Arias, 2017; Nandakumar, 2016; Fried, 2009)

Nejčasnější identifikovanou buňkou erythropoézy je tzv. BFU-E. Jedná o velmi nezralé blasty, s vysokým nukleo/cytoplazmatickým poměrem a výraznými nukleoly. CFU-E jsou

zralejší blasty, jejichž proliferace je plně závislá na EPO. Tyto buňky nesou na svém povrchu četné receptory pro erytropoetin. (Penka, 2011)

1.2.1 Proerytroblasty

Erytroidní prekurzor CFU-E se diferencuje na proerytroblast. Morfologicky se jedná o velké buňky, které jsou nepravidelně zaoblené nebo mírně oválné. Jádro zaujímá přibližně 80 % celkové plochy buňky a obsahuje hrudkovitý chromatin, v tomto stádiu bývají přítomné nukleoly. Vlivem přítomnosti vysoké koncentrace polyribosomů má cytoplazma charakteristické intenzivní bazofilní zbarvení. Proerytroblasty také obsahují jedno až více nukleolů. V buňkách je přítomen feritin jak difuzně, tak i v podobě organel, nazývaných siderozomy. (Penka, 2011; Kaushansky, 2016)

1.2.2 Bazofilní erytroblasty

Bazofilní erytroblasty jsou svou velikostí o něco menší než proerytroblasty. U těchto buněk je stále vysoký nukleo/cytoplazmatický poměr. Jádro zabírá tři čtvrtiny plochy buňky, struktura je v tomto stádiu hrubší, většinou bez nukleolů. V cytoplazmě jsou přítomné velmi četné polyribosomy, díky tomu je cytoplazma stále sytě bazofilní. (Penka, 2011; Kaushansky, 2016; Breton-Gorius, 1976)

1.2.3 Polychromatofilní erytroblasty

S postupnou diferenciací dochází k progresivnímu zmenšování buňky, také dochází k pyknotizaci jádra erytroblastů a postupné změně barvy cytoplazmy od sytě modré přes polychromatofilní, tato změna cytoplazmy je způsobena nárůstem hemoglobinu. U polychromatofilních erytroblastů bývá jádro kulaté, výrazně kondenzované. Jedná se o poslední stádium vývoje červených krvinek, které je ještě schopné mitózy. (Penka, 2011; Villatoro, 2019)

1.2.4 Ortochromní erytroblasty

Ortochromatické erytroblasty jsou nejmenší elementy z erytroblastické řady. Jádro v tomto stádiu zabírá přibližně jednu čtvrtinu plochy buňky a je silně pyknotické, bývá excentricky uloženo. Cytoplazma má u těchto buněk růžové (eosinofilní) zbarvení, ale může se jevit i jako mírně namodralá v důsledku neúplné hemoglobinizace. Aktivním procesem tzv. extruzí jádra za účasti aktinových filament, se ortochromní erytroblast dále vyvíjí v retikulocyt. (Penka, 2011; Villatoro, 2019; Kaushansky, 2016)

1.2.5 Retikulocyty

Retikulocyty jsou nezralé elementy, které mají velikost o něco větší než zralé erytrocyty, mají nepravidelný tvar, jsou produkovány v kostní dřeni a uvolňované přes endoteliální póry dřevných sinusoid do periferní krve, kde dozrávají na zralé červené krvinky během 1 až 2 dnů. Retikulocyty procházejí velkým množstvím strukturálních změn, než se diferencují na zralé RBC. Proces tvorby retikulocytů začíná v kostní dřeni v důsledku enukleace erytroblastů v pozdním stádiu. Pro tvorbu zralých erytrocytů je nezbytné, aby retikulocyt ztratil 20 % své plazmatické membrány, veškeré zbytkové organely a také selektivně odstranil, popřípadě redukoval, své cytoplazmatické membránové proteiny, které erytrocyt nevyžaduje. (Penka, 2011; Rai, 2022; Stevens-Hernandez, 2022)

1.3 Membrána erytrocytů

Erytrocyt prochází v průběhu svého života velkými elastickými deformacemi při průchodu úzkými krevními cévami. Flexibilita červené krvinky je primárně způsobena buněčnou membránou. Do membrány může omezeně pronikat voda a některé anionty, ale zabraňuje úniku kationtů a bílkovin. (Pecka, 2006b)

Membrána je dvourozměrná struktura, která se skládá z lipidové dvojvrstvy, z integrovaných proteinů a z membránového cytoskeletu. Membrána obsahuje vodu (19,5 %), proteiny (39,5 %), lipidy (35,1 %) a sacharidy (5,8 %). (Li, 2014; De Oliveira, 2010)

1.3.1 Membránové lipidy

Hlavními zástupci jsou **fosfolipidy** a **cholesterol**, ty jsou v membráně zastoupeny přibližně ve stejném poměru tak jako i malé množství **glykolipidů**. Z fosfolipidů to jsou fosfatidylethanolaminy, fosfatidylseriny, které jsou umístěny téměř výhradně ve vnitřní straně lipidové dvojvrstvy. Zatímco sfingomyeliny a fosfatidylcholin se nacházejí častěji na vnější straně dvojvrstvy, v této části jsou s nimi přítomny i glykolipidy. (De Oliveira, 2010; Fábryová, 2010)

Přítomnost lipidů v lipidové dvojvrstvě je nezbytná pro udržení tvaru zralých červených krvinek. Cholesterol se v membráně nachází ve volné formě, bývá také hydrofobní a je nezbytný pro tekutost membrány. Cholesterol je distribuován mezi oběma stranami dvojvrstvy ve stejném poměru, naopak přítomné lipidy jsou distribuovány asymetricky. (De Oliveira, 2010; Fábryová, 2010)

Dospělé erythrocyty nejsou schopny tvorby nových lipidů, proto jsou odkázány na lipidy, které byly vytvořené už v kostní dřeni, ale i přes tento fakt dochází v malé míře k výměně mastných kyselin a lipidů s okolním prostředím. (Fábryová, 2010)

1.3.2 Membránové proteiny

Tvar zralých erythrocytů je určen především membránovými proteiny, zejména spektrínovou sítí, ale také i obsahem lipidové dvojvrstvy. Membránové proteiny přítomné v erythrocytech se dělí do dvou skupin podle toho, jak snadno lze proteiny od membrány oddělit. Proteiny, které lze snadno izolovat extrakcí s vysokým nebo nízkým obsahem soli nebo za pomoci vysokého pH, se nazývají **periferní (cytoskeletové) proteiny**. Druhou skupinu tvoří **integrální proteiny transmembránové**, ty lze extrahovat pouze agresivními činidly, jelikož jsou tyto proteiny silně zabudovány do lipidové dvojvrstvy. (De Oliveira, 2010; Fábryová, 2010)

Membránové proteiny erythrocytů lze také rozdělit z hlediska funkce proteinů do tří skupin:

- a) cytoskeletální proteiny (spektrín, ankyrin a protein 4.1),
- b) integrální membránové proteiny (protein 3 a glykoforiny),
- c) kotvící proteiny (ankyrin a protein 4.2). (De Oliveira, 2010)

1.3.2.1 Integrální membránové proteiny

Nejdůležitějším transmembránovým proteinem je protein 3. Hlavní úlohou tohoto proteinu je regulace výměny iontů, hraje také důležitou roli při stárnutí erythrocytů. Protein 3 má N-terminální cytoplazmatickou doménu, která je zodpovědná za hlavní membránové kotvící místo cytoskeletu, proto je velmi důležitý pro flexibilitu červených krvinek. Tato doména je místem pro vazbu ankyrinu, proteinů 4.1 a 4.2 a také vazbu hemoglobinu. (Fábryová, 2010)

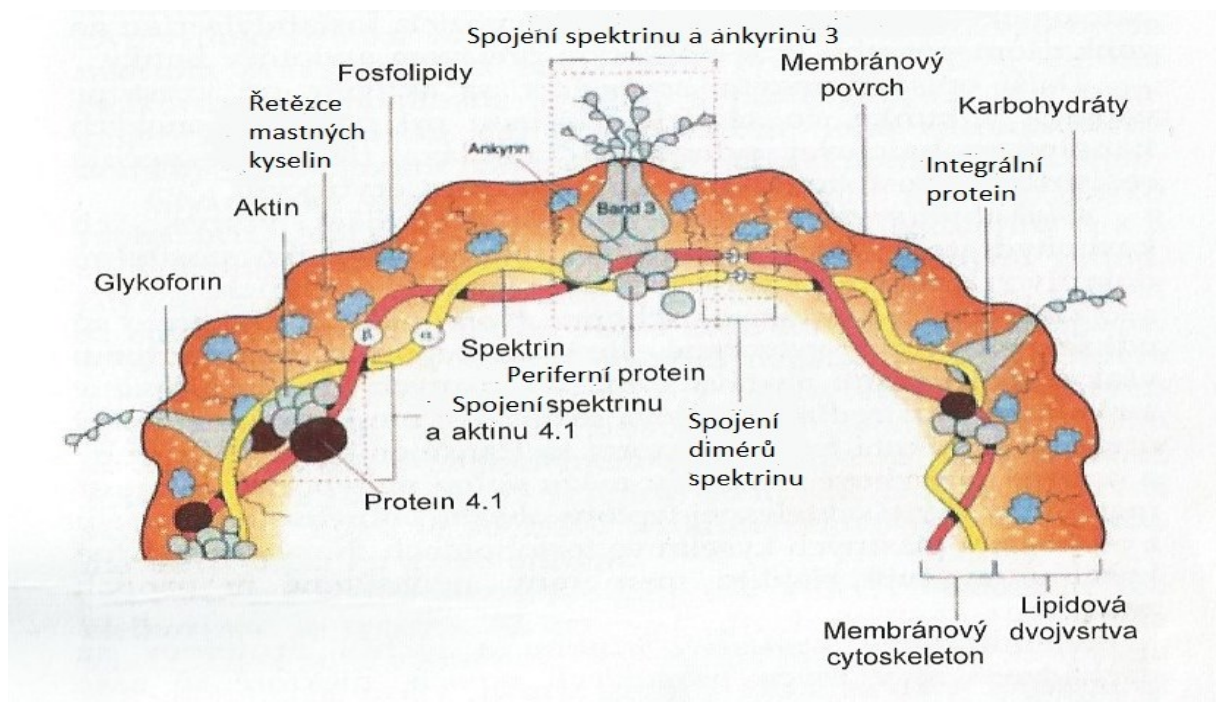
Glykoforiny jsou proteiny, které mají významné zastoupení v integrálních proteinech, dají se rozdělit do dvou skupin: glykoforiny A a B a glykoforiny C a D. Tyto proteiny jsou známé hlavně v imunohematologii, jelikož tvoří strukturální základ pro různé krevní skupiny, jako jsou Kell, Duffy, mají také úzký vztah k Rh skupině. (De Oliveira, 2010; Fábryová, 2010)

1.3.2.2 Periferní cytoskeletové (membránové) proteiny

Cytoskelet červených krvinek se skládá z několika důležitých proteinů, které vytvářejí vláknitou síť umístěnou pod lipidovou dvojvrstvou. Tato síť se skládá ze spektrínu, ankyrinu, aktinu a proteinů 4.1. (Smith, 1987)

Spektrin je nejdůležitější membránový protein, který se skládá ze dvou podjednotek – alfa a beta. Tyto podjednotky se do sebe zaplétají a tvoří dimery, které se dále formují až do tetramerů a oligomerů, ty v konečném stadiu vytvářejí silnou elastickou strukturu. Hlavní funkcí tohoto proteinu je nejen udržení tvaru membrány, ale je také oporou pro lipidovou dvojvrstvu a integrální proteiny. (Fábryová, 2010)

Ankyrin je kotvící protein, který váže vnější doménu proteinu 3 a vnitřní vazbou spektrinu, tím vytváří spojení mezi integrálními a membránovými proteiny. (De Oliveira, 2010; Smith, 1987) Obrázek 2 vyobrazuje membránu erytrocytů.



Obrázek 2: Schéma erytrocytární membrány (Fábryová, 2010)

1.4 Metabolismus erytrocytů

Erytrocyty potřebují během svého života dostatečné množství energie k udržení mnoha životně důležitých buněčných funkcí. Musí udržovat potřebnou glykolýzu, také udržovat gradient elektrolytů mezi plazmou a cytoplazmou červených krvinek za pomoci aktivity membránových pump řízených adenosintrifosfátem (ATP), musí chránit metabolické enzymy, hemoglobin a membránové proteiny před oxidativní denaturací. Hlavním zdrojem energie pro červené krvinky je glukóza. (Sakalová, 1995; Van Wijk, 2005)

V časných stádiích vývoje erytrocytu probíhá i metabolismus bílkovin, který je potřebný pro správné složení hemoglobinu a membrány. V průběhu diferenciacce červené krvinky klesá

zásoba enzymů bílkovinné povahy a v zralém stádiu obsahuje pouze enzymy potřebné na přeměnu cukrů, tvorbu ATP a 2,3-difosfoglycerátu (2,3-DPG). (Sakalová, 1995)

Zralým erytrocytům chybí oxidační enzymy, které jsou přítomné v mitochondriích, proto nemohou využívat proces aerobní glykolýzy k získávání energie z glukózy ve velkém množství, ale jsou odkázány k anaerobnímu zpracování glukózy na ATP tzv. Embden-Meyerhofovou dráhou. Proces aerobní glykolýzy krvinky využívají jen ve velmi malém procentu. (Pecka, 2006b; Brown, 1996)

1. Embden-Meyerhofova dráha

Za fyziologického stavu je 90 % glukózy katabolizováno anaerobní glykolýzou na pyruvát nebo laktát. V kroku, který je katalyzován enzymem glyceraldehyd-3-fosfátdehydrogenázou dochází ke vzniku redukčního potenciálu ve formě nikotinamidadeninukleotidu (NADH). Tohoto kroku lze využít k redukci methemoglobinu na hemoglobin pomocí enzymu NADH-cytochrom b5 reduktázy. V případě, že k této reakci dojde, je konečným produktem anaerobní glykolýzy pyruvát. Pokud však NADH není reoxidován, využívá se v posledním kroku glykolýzy enzym laktátdehydrogenáza, který redukuje pyruvát na laktát. (Van Wijk, 2005)

2. Rapaport-Lueberingova dráha

Tato odnož od Embden-Meyerhofové dráhy poskytuje nízkomolekulární látku 2,3-DPG, ten se získává přeměnou 1,3-DPG. Jedná se o krok, který je katalyzován enzymem difosfoglycerátmutázou. 2,3-DPG je důležitý regulátor kapacity přenosu kyslíku u červených krvinek. Tato cesta na rozdíl od Embden-Meyerhofové, neposkytuje ATP, ale moduluje úroveň 2,3-DPG. (Pecka, 2006b; Brown, 1996)

V případě, že se v periferní tkáni nachází zvýšené množství deoxyhemoglobinu, dochází k stimulaci glykolýzy a hladina 2,3-DPG začíná stoupat. Výsledkem této reakce je vazba 2,3-DPG s přítomným deoxyhemoglobinem, díky tomu hemoglobin odolává vazbě na kyslík. Tato snížená afinita hemoglobinu ke kyslíku zvyšuje uvolňování kyslíku do tkání. (Brown, 1996)

1.5 Fyziologický zánik erytrocytů

V okamžiku, kdy krvinka začne stárnout, dochází k pozvolnému poklesu glykolýzy a tím i k poklesu buněčného dýchání. Za poznávací znak stárnutí buňky lze považovat i klesající aktivitu enzymů anaerobní glykolýzy. V případě nedostatečné produkce 2,3-DPG dochází k nárůstu methemoglobinu, tedy oxidované formy hemoglobinu, který je z funkčního hlediska

bezceňný. S poklesem glykolýzy nastává stagnace tvorby ATP, tím i stárnutí membrány erytrocytů. (Fábryová, 2010; Sakalová, 1995)

Dochází k tomu, že červená krvinka zmenšuje svou velikost a její membrána se ztenčuje. Erytrocyt přestává mít svůj bikonkávní tvar a dostává tvar kulovitý (sférický). Takto změněný erytrocyt se obtížně pohybuje v kapilárním řečišti, proto dochází k jeho záchytu zejména ve slezině, kde je fagocytován pomocí makrofágů. (Pecka, 2006b; Sakalová, 1995)

Není doposud přesně známo, co je konkrétním signálem pro aktivování makrofágů, které poté fagocytují poškozené erytrocyty. Mohlo by to být způsobené zvýšeným množstvím imunoglobulinů přítomných na buněčném povrchu, ale není to jednoznačné. S největší pravděpodobností je důvodem pro aktivaci makrofágů přesun fosfatidylserinu z lipidové dvojvrstvy na buněčný povrch erytrocytu. (Fábryová, 2010)

2 Hemoglobin

Hemoglobin je klíčový protein v erytrocytech, který tvoří až 95 % obsahu proteinů obsažených v krvinkách. Primární funkci Hb je transport kyslíku z plic do tkání, vázání a následné uvolňování kyslíku kooperativním způsobem. Může se vyskytovat v několika formách – fetální, embryonální, dospělý. Všechny tyto formy mají identickou prostetickou skupinu, liší se pouze ve globinové části. (Fábryová, 2010; Ahmed, 2020; Dybas, 2020)

Molekula hemoglobinu obsahuje čtyři globinové řetězce, ty sestávají ze dvou identických párů odlišných polypeptidových řetězců. Každý řetězec může mít 141–146 aminokyselin, variace v těchto aminokyselinách dává vzniknout různým typům polypeptidových řetězců. Každý globinový řetězec je rozdělen do osmi šroubovic, které jsou odděleny sedmi nehelikálními segmenty. Na každý polypeptidový řetězec je připojena jedna prostetická skupina (hem) a s ní atom železa. Základem každé hemové molekuly je protoporfyrin IX, ten se skládá ze čtyř pyrolových kruhů, které jsou cyklicky spojené pomocí methinového můstku. Atom železa se inkorporuje do středu tetrapyrolového kruhu ve formě Fe^{2+} pomocí enzymu hemsyntetázy. Molekula železa v centru hemu může vázat a uvolňovat kyslík, čímž umožňuje transport kyslíku v organismu. (Penka, 2011; Otto, 2020; Whitehouse, 2004)

HbA₁ typ hemoglobinu je nejběžnější formou vyskytující se u zdravých dospělých jedinců, obsahuje dvě α a dvě β globinové jednotky. HbA₂ je tvořen dvěma α a dvěma δ podjednotkami, jedná se o méně běžnou formou hemoglobinu u dospělých. Poslední typem hemoglobinu je HbF – fetální hemoglobin, který je produkován plodem během gravidity, obsahuje dvě α a dvě γ podjednotky. Vyznačuje se tím, že má oproti HbA₁ silnější afinitu ke kyslíku, což umožňuje kyslíku přechod z mateřského oběhu do oběhu plodu přes placentu. (Sakalová, 1995; Farid, 2021)

2.1 Syntéza hemoglobinu

Produkce globinového řetězce probíhá v cytosolu červených krvinek, a to pomocí genetické transkripce a translace. Přítomnost hemu indikuje transkripci globinového genu. Geny pro tvorbu alfa řetězců se nacházejí na chromozomu 16 a geny potřebné pro beta řetězec jsou přítomné na chromozomu 11. (Farid, 2021)

Syntéza hemu probíhá jak v cytosolu, tak v mitochondriích erytrocytů. Začíná aktivací genu pro δ -aminolevulonátsyntázu (ALAS). Z kyseliny δ -aminolevulonové a porfobilinogenu je produkován uroporfyrinogen – jde již o tetrapyrolový kruh. Výsledný protoporfyrin IX je

syntetizován přes koproporfyrinogen III a protoporfyrinogen III a výsledný hem vzniká inkorporací atomu dvojmocného železa do protoporfyrinu IX. (Penka, 2011; Farid, 2021)

2.2 Rozpad hemoglobinu

Dosáhne-li červená krvinka konce svého životního cyklu, dochází k jejímu zániku a uvolněný hemoglobin se rozpadá na základní komponenty – na hem, globin a železo. Tyto složky jsou dále zpracovávány. Přítomný globin neboli proteinová část hemoglobinu, je degradován lysozomovou aktivitou na aminokyseliny, ty se mohou využít na výstavbu nových bílkovin nebo zanikají. (Sakalová, 1995)

Rozpad hemu probíhá tak, že na hem působí enzym hemoxygenáza, výsledkem této reakce je vznik biliverdinu, oxidu uhelnatého a železa. Uvolněné železo z hemu je v plazmě vychytáváno transferinem (Tf), který ho transportuje ke krvetvorným buňkám nebo do zásobních orgánů. V kostní dřeni se opět využije na tvorbu nových červených krvinek, nebo se přesouvá do zásobáren železa v těle jako feritin. Vzniklý biliverdin je následně metabolizován pomocí NADPH-dependentní biliverdinreduktázy na bilirubin. Většina železa uvolněná z degradovaných erytrocytů zůstává přítomná v organismu. (Sakalová, 1995; McDonnell, 2022)

Bilirubin, který vznikl v cytoplazmě makrofágů, je následně uvolněn do plazmy, zde se váže na protein, konkrétně albumin. Vazba bilirubinu na albumin zabraňuje bilirubinu opustit vaskulární prostor. Albumin transportuje bilirubin do jaterních buněk, které jej aktivně vychytávají. Na endoplazmatickém retikulu jaterních buněk je bilirubin konjugován s dvěma molekulami kyseliny glukuronové za vzniku bilirubindiglukuronidu. Tato reakce je katalyzována UDP-glukuronyltransferázou. Jedná se o zásadní krok pro detoxikaci bilirubinu a jeho následné vylučování z těla. Většina vzniklého bilirubindiglukuronidu je následně aktivním transportem vyloučena do žluči. Konjugovaný bilirubin v dalším kroku putuje do žlučových kanálků za pomoci ABC transportérů a odtud je transportován do střeva. Ve střevním traktu se bilirubin uvolňuje z vazby na kyselinu glukuronovou a účinkem střevních bakterií je redukován na sterkobilinogen. Převážná část sterkobilinogenu se pak vylučuje z těla stolicí a za přístupu vzduchu se oxiduje na sterkobilin, ale malé množství sterkobilinogenu se zpětně resorbuje do portální cirkulace. Hepatocyty jsou schopny zachytit většinu resorbovaného sterkobilinogenu, ty jej eliminují znovu do žluče. Jen velmi nepatrné množství unikne a krví je dopraveno do ledvin a ty jej vyloučí do moči. U zdravého jedince je tedy v moči jen stopové množství urobilinogenu. (Billing, 1969; Tripathi, 2022)

3 Metabolismus železa

Železo je jedna z nejdůležitějších látek, které jsou potřebné pro život. Hraje hlavní roli v transportu kyslíku, jelikož hemoglobin obsahuje 67 % železa z celkového množství v těle (TBI), dalších 3,5 % je obsaženo v myoglobinu a okolo 3 % je přítomno v cytochromech. Hraje také zásadní roli v různých proteinech, které neobsahují hem (transferin, feritin). (Winter, 2014)

Volné železo je velmi toxické, proto byly vyvinuty složité regulační mechanismy, které zajišťují střevní absorpci, transport a další důležité úkony. Celkové množství železa v těle se u dospělých jedinců běžně pohybuje mezi 3,5–5 g. Pouze 25 % TBI je uloženo v buňkách, ve formě feritinu nebo hemosiderinu. Buňky, které jsou zodpovědné za přenos železa zahrnují enterocyty, které jej absorbují z natrávené potravy, poté se jedná o makrofágy a hepatocyty. (Winter, 2014; Waldvogel-Abramowski, 2014)

3.1 Feritin

Feritin je protein, který tvoří krystalky, na kterých je apoferitin složen z 24 strukturálně stejných podjednotek, které vytvářejí dutinu s vnitřním rozměrem cca 8 nm. Zde je železo uloženo ve formě malých krystalků ferihydroxidu s fosfátem. Feritin je tedy jednou z hlavních zásobáren železa v organismu, má také enzymatické vlastnosti, jelikož je schopen přeměny železité formy železa na železnatou. Sérový feritin je reaktant akutní fáze s hladinami, které odrážejí stupeň akutního a chronického zánětu i hematologických, infekčních a maligních onemocnění. (Fábryová, 2010; Waldvogel-Abramowski, 2014; Wang, 2010) Referenční rozmezí feritinu by se mělo pohybovat viz tabulka 1.

Tabulka 1: Referenční rozmezí feritinu v séru (Kazda, 2012; Thomas, 1998)

| Pohlaví | Dolní referenční mez | Horní referenční mez | Jednotky |
|---------|----------------------|----------------------|----------|
| Muži | 30 | 400 | μg/l |
| Ženy | 13 | 150 | μg/l |

Nízká hladina sérového feritinu slouží jako ukazatel nedostatku železa v organismu. Nízká koncentrace feritinu v séru koreluje s nízkými celkovými zásobami železa v těle a díky tomu je využíván jako marker nedostatku železa. (Bahr, 2019)

Zvýšená hladina sérového feritinu je spojována s chronickými onemocněními, jako je například ischemická choroba srdeční a také diabetes mellitus 2. typu, nebo bývá zvýšen u mnoha malignit. Při probíhající infekci představuje zvýšená hladina feritinu důležitý obranný mechanismus hostitele, který chrání funkci imunitních buněk. Hyperferitinémie je klíčovým

reaktantem akutní fáze, který slouží jako indikace pro terapeutickou intervenci zaměřenou na kontrolu zánětu. U jedinců trpících hereditární hyperferitinémií dochází ke zvýšení hladiny sérového a intracelulárního feritinu v monocytech, což znamená, že tyto buňky jsou klíčovým zdrojem sérového feritinu. (Wang, 2010; Kernan, 2017; Ellidag, 2016)

3.2 Transferin

Transferin je glykoprotein, který zabezpečuje důležitý transport železa v plazmě, konkrétně jeho bílkovinná složka. Jedná se o transportní protein, který je syntetizovaný převážně v játrech a v menší míře ve varlatech a mozkomíšním moku. Železo se může transportovat v plazmě pouze v případě, že je navázáno na transferinu. Tf je schopen vázat jeden železitý iont na lalok s výjimečně vysokou afinitou a také slouží k solubilizaci železitého iontu pro transport v krvi. Cirkulující transferin s navázaným železem se váže na buněčný povrchový transferinový receptor-1 (TfR1) a prostřednictvím endocytárního procesu se Fe uvolňuje z Tf a je absorbováno do cílové buňky. (Fábryová, 2010; Schmaier, 2020)

Hladina transferinů se zvyšuje při nedostatku železa v organismus. V momentě, kdy je v těle detekováno nedostačující množství potřebného železa, začne se produkovat větší množství transferinu, aby se v těle zvýšila dostupnost železa. Jelikož je tento protein produkován v játrech, jeho hladinu ovlivňuje i stav jater, při zánětu jater dochází ke zvýšení jeho množství v krvi. Naopak snížená hladina Tf se nachází u stavů způsobených přetížením železem. (Novkovic, 2021) Správné referenční rozmezí transferinu v séru by se mělo pohybovat dle tabulky 2.

Tabulka 2: Referenční rozmezí transferinu v séru (Thomas, 1998; Kazda, 2012; Marks, 2002)

| Pohlaví | Dolní referenční mez | Horní referenční mez | Jednotky |
|---------|----------------------|----------------------|----------|
| Muži | 1,74 | 3,64 | g/l |
| Ženy | 1,80 | 3,82 | g/l |

4 Vyšetřované parametry u erytrocytů

Vyšetření parametrů u erytrocytů se provádí v rámci vyšetření krevního obrazu. Komplexní krevní obraz je jedním z nejběžnějších a rutinně prováděných laboratorních testů, jelikož poskytuje snadné, cenné a spolehlivé informace při diagnostice, sledování a prognostice klinického stavu pacienta. (Penka, 2011; Gunawardena, 2017)

V případě, že jsou vyšetřovány pouze parametry týkající se erytrocytů, jedná se o červený krevní obraz. Mezi parametry červeného krevního obrazu jsou řazeny počty erytrocytů, hladina hemoglobinu (Hb), hematokrit (Hct), střední objem erytrocytů (MCV) a související počítané parametry (MCH, MCHC, RDW), může se také zjišťovat počet retikulocytů (Ret). (Krč, 2007)

4.1 Počet erytrocytů

Referenční počet krvinek závisí na věku, pohlaví, rase a dalších mnoha faktorech, jako je způsob stravování a nadmořská výška. Přítomnost některých onemocnění (malárie, hemoglobinopatie...), má také vliv na počet erytrocytů. Snížený i zvýšený počet krvinek může být známkou mnoha zdravotních problémů. (Sakalová, 1995) Za fyziologického stavu by se měl počet erytrocytů v periferní krvi pohybovat dle referenčního rozmezí (viz tabulka 3).

Tabulka 3: Referenční rozmezí erytrocytů v krvi u dospělých (Fábryová, 2010)

| Pohlaví | Dolní referenční mez | Horní referenční mez | Jednotky |
|---------|----------------------|----------------------|-------------|
| Muži | 4,3 | 5,7 | $10^{12}/l$ |
| Ženy | 3,8 | 4,9 | $10^{12}/l$ |

4.2 Hemoglobin

Vzhledem k tomu, že je hemoglobin součástí erytrocytů, je jeho snížené nebo zvýšené množství v periferní krvi způsobeno stejnými příčinami jakými jsou způsobeny i poruchy počtu erytrocytů. Referenční hodnoty hemoglobinu by se měly pohybovat viz tabulka 4.

Tabulka 4: Referenční rozmezí hemoglobinu v krvi u dospělých (Krč, 2007)

| Pohlaví | Dolní referenční mez | Horní referenční mez | Jednotky |
|---------|----------------------|----------------------|----------|
| Muži | 135 | 170 | g/l |
| Ženy | 120 | 165 | g/l |

4.3 Hematokrit

Hematokrit je definován jako objemový podíl erytrocytů na celkovém objemu krve. Zvýšené nebo snížené hodnoty hematokritu jsou nacházeny u podobných stavu, u kterých se vyskytuje i abnormální počet erytrocytů. (Penka, 2011; Krč, 2007) Referenční rozmezí hematokritu by se mělo pohybovat viz tabulka 5.

Tabulka 5: Referenční rozmezí hematokritu u dospělých (Krč, 2007)

| Pohlaví | Dolní referenční mez | Horní referenční mez | Jednotky |
|---------|----------------------|----------------------|----------|
| Muži | 0,37 | 0,49 | l |
| Ženy | 0,35 | 0,46 | l |

4.4 Střední objem erytrocytů

Střední objem erytrocytů neboli MCV, je hodnota, která vyjadřuje průměrnou velikost erytrocytů v periferní krvi. Zvýšená hodnota svědčí o výskytu větších erytrocytů v periferní krvi, než je běžné, jedná se o přítomnost makrocytů = makrocytóza. U snížené hodnoty hematokritu se vyskytují velmi malé erytrocyty neboli mikrocyty = mikrocytóza. (Maner, 2022; Krč, 2007) Správná hodnota MCV by se měla pohybovat dle tabulky 6.

Tabulka 6: Referenční rozmezí MCV u dospělých (Krč, 2007)

| Pohlaví | Dolní referenční mez | Horní referenční mez | Jednotky |
|---------------|----------------------|----------------------|----------|
| (Muži + ženy) | 80 | 96 | fl |

4.5 Střední množství hemoglobinu v erytrocytu a střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu

Hodnota MCH kvantifikuje množství hemoglobinu přítomného na červenou krvinku. Referenční rozmezí MCH by se u dospělých mělo pohybovat viz tabulka číslo 7. Hodnota MCHC udává průměrnou koncentraci hemoglobinu na jednotku objemu. (Walker, 1990) Správné referenční rozmezí MCHC by se mělo pohybovat viz tabulka 8.

Tabulka 7: Referenční rozmezí MCH u dospělých (Krč, 2007)

| Pohlaví | Dolní referenční mez | Horní referenční mez | Jednotky |
|---------------|----------------------|----------------------|----------|
| (Muži + ženy) | 27 | 32 | pg |

Tabulka 8: Referenční rozmezí MCHC u dospělých (Krč, 2007)

| Pohlaví | Dolní referenční mez | Horní referenční mez | Jednotky |
|---------------|----------------------|----------------------|----------|
| (Muži + ženy) | 320 | 350 | g/l |

4.6 Distribuční šíře velikosti erytrocytu

Distribuční šíře erytrocytů (RDW) je vypočítaný parametr, který měří individuální variabilitu velikosti (heterogenitu) krvinek. RDW je procentuální variační koeficient jednotlivých objemů krvinek. Hodnota RDW společně s hodnotou MCV je využívána k identifikaci mnoha onemocnění hematologického systému. (Adewoyin, 2019; Li, 2017) Správná hodnota RDW by se měla pohybovat v mezích, které znázorňuje tabulka 9.

Tabulka 9: Referenční rozmezí RDW (Krč, 2007)

| Pohlaví | Dolní referenční mez | Horní referenční mez | Jednotky |
|---------------|----------------------|----------------------|----------|
| (Muži + ženy) | 11,5 | 14,5 | % |

5 Změny morfologie erytrocytů

Morfologie erytrocytů se přezkoumává v zhotoveném krevním nátěru pod mikroskopem a zaznamenává se přítomnost jakékoliv významné abnormality. Změny morfologie se posuzují ze dvou hledisek, buď se hodnotí velikost erytrocytů, tvar, barva cytoplazmy, přítomnost inkluzí u jednotlivých krvinek nebo se přihlíží k jejich poměrnému zastoupení v celkovém počtu všech hodnocených buněk. Hodnotí se stav buněčného typu v systému. O stavu se hovoří tehdy, pokud daný morfologický typ přesáhne hodnotu 0,1. Například přesáhne-li počet mikrocytů tuto hodnotu, lze hovořit o přítomnosti mikrocytózy u daného jedince. (Pecka, 2006b, s. 26; Adewoyin, 2019)

5.1 Odchylky ve velikosti

Anémii je možné z hlediska velikosti erytrocytů popsat jako normocytární, makrocytární a mikrocytární. U normocytární anémie mívají erytrocyty, oproti zbylým typům anémie, fyziologickou velikost, tvar i barvitelnost. Tento typ anémie vzniká především při akutní ztrátě krve, při aplazii kostní dřeně a při anémiích z chronického onemocnění. (Adewoyin, 2019)

5.1.1 Mikrocyty

O přítomnosti mikrocytu v periferní krvi lze hovořit v případě výskytu erytrocytů s průměrem menším než 6,5 μm , jedná se o tzv. mikrocytózu. U takto malých krvinek bývá také snižená hodnota MCV a to pod 82 fl. Mikrocyty bývají přítomné u anémií z nedostatku železa, u talasémií a u sideroblastických anémií. (Penka, 2011; Adewoyin, 2019)

5.1.2 Makrocyty

Jedná se o abnormální erytrocyty, jejichž velikost průměru přesahuje 7,8 μm , hodnota MCV je u takto změněných krvinek vyšší než 98 fl. Výskyt makrocytu v periferní krvi u daného jedince se označuje jako makrocytóza, ta může být buď oválná nebo kulatá. Oválné makrocyty jsou pozorovány u pacientů s myelodysplastickým syndromem a také u lidí trpících na nedostatek vitamínů B₁₂ a B₉. Zatímco kulaté makrocyty se vyskytují při onemocnění jater a u lidí, kteří konzumují nadměrné množství alkoholu. (Penka, 2011; Adewoyin, 2019)

5.1.3 Anizocytóza

Tento stav je charakterizován přítomností různě velkých erytrocytů v periferní krvi. U anizocytózy je zvýšená hodnota distribuční šíře velikosti erytrocytů a to nad 15,2 %.

Anizocytóza může být pozorována u několika typů anémií, například u jedinců trpících nedostatkem železa. (Penka, 2011; Lippi, 2019)

5.2 Odchylky ve tvaru

Poikilocytóza je termín, který obecně označuje přítomnost abnormálně tvarovaných červených krvinek v periferní krvi. Poikilocyty se mohou vyskytovat v několika formách, mohou být buď ploché, protáhlé, kapkovité, ve tvaru půlměsíce nebo v jakékoliv jiné abnormální formě. (Bandaru, 2022)

5.2.1 Drepanocyty (srpkovité buňky)

Tyto patologické krvinky postrádají oblast centrální bledosti, jsou tenké a svým vzhledem připomínají srp nebo půlměsíc. Příčina tvorby těchto buněk tkví v genetické mutaci β -globinového řetězce. Drepanocyty vznikají v případě hypoxických podmínek, kdy dojde k polymerizaci hemoglobinu S a krvinky zaujmou charakteristický srpkovitý tvar. (Villatoro, 2019)

5.2.2 Ovalocyty a eliptocyty

Ovalocyty jsou krvinky oválného nebo vejčitého tvaru, zatímco eliptocyty jsou erytrocyty jejichž tvar připomíná doutník. K tvorbě takto patologických erytrocytů dochází v důsledku defektu proteinu nacházejícího se v membráně krvinek, tento defekt vede ke zvýšené mechanické slabosti a křehkosti dané membrány. (Villatoro, 2019; Wahed, 2015)

5.2.3 Stomatocyty

Tyto tvarově odlišné červené krvinky mají štěrbinovitou centrální bledost, díky čemuž jejich vzhled připomíná kávová zrna nebo pootevřená ústa. Stomatocyty se vykytují především u dědičné stomatocytózy a v malém počtu mohou být pozorovány při obstrukci jater nebo u jaterní cirhózy. (Pecka, 2006b; Villatoro, 2019; Wahed, 2015)

5.2.4 Echinocyty

Jedná se o červené krvinky, které jsou zvláštní tím, že mají na celém svém povrchu rovnoměrně rozložené stejně dlouhé, tupé výběžky. Echinocyty se vytvářejí například po transfuzi, u jedinců, kteří trpí onemocněním jater nebo ledvin, ale mohou se také vytvořit *in vitro* jako artefakt starší krve. (Pecka, 2006b; Villatoro, 2019; Wahed, 2015)

5.2.5 Keratocyty a schistocyty

Keratocyty jsou erytrocyty, které mají vpáčenou membránu nebo se v jejich membráně nachází ruptura, díky tomu dostali název „rohaté“ krvinky. Zatímco schistocyty jsou

fragmentované červené krvinky, jejich tvar připomíná prasklou skořápku od vejce nebo helmici. Tyto buňky však postrádají centrální bledost, vznikají přetržením krvinek na fibrinových vláknech. (Penka, 2011; Wahed, 2015)

5.2.6 Dakryocyty

Jedná se o krvinky, které mají svůj charakteristický vzhled ve tvaru slzy, proto se jim také říká slzičkovité erytrocyty. Dakryocyty jsou pozorovány v nátěrech periferní krve pacientů, u kterých byla diagnostikována primární nebo sekundární myelofibróza. Vzácně byly tyto buňky pozorovány u autoimunitní a mikroangiopatické hemolytické anémie. (Robier, 2014)

5.2.7 Sférocyty

Sférocyty jsou erytrocyty s kulatým vzhledem, hustě zbarvené, které postrádají oblast centrální bledosti. Buňky jsou často o něco menší než běžné červené krvinky. Takto změněné krvinky se tvoří v důsledku defektu fosfolipidů v buněčné membráně. (Penka, 2011; Lynch, 1990)

5.2.8 Kodocyty

Kodocyty jsou tenčí než běžné dospělé krvinky. Veškerý hemoglobin je uložen pouze na okrajích a ve středu buňky, proto se těmto buňkám také říká **terčovité erytrocyty**. Kodocyty se vyskytují při anémiích z nedostatku železa, u těžké dehydratace. Také mohou být přítomné po splenektomii. (Crosby, 1952)

5.2.9 Knizocyty

Knizocyty jsou trikonkávní červené krvinky s „můstkem“ oddělujícím tři konkávní oblasti krvinky nebo s pruhem hemoglobinu, který prochází přes světlé centrální pole erytrocytu. Příčinou vzhledu je akumulace fosfolipidů a cholesterolu obsažených v erytrocytární membráně. (Penka, 2011; Lesesve, 2011)

5.2.10 Akantocyty

Akantocyty přítomné v nátěru periferní krve jsou malé, husté krvinky s mnoha trnitými výběžky, které se liší svou šířkou, délkou i distribucí po povrchu. Vzhled takto změněných erytrocytů je pravděpodobně způsoben nedostatkem β -lipoproteinů v membráně krvinek. (Wahed, 2015)

5.3 Změny barvitelnosti

Anizochromie je stav, při kterém erythrocyty mají nestejnou koncentraci hemoglobinu, hladina hemoglobinu je buď zvýšena nebo snížena. Anizochromie se vyskytuje u stavů spojených s nedostatkem železa a u megaloblastových anémií. (Penka, 2011)

U polychromazie nesou červené krvinky jiný odstín než klasický eosinofilní. Mají většinou namodralý nebo našedlý nádech. Příčinou tohoto zbarvení je přítomnost zbytkového množství rRNA. Polychromatické krvinky mohou být přítomné u megaloblastické anémie. Běžně se tyto krvinky vyskytují u novorozenců. (Penka, 2011; Adewoyin, 2019)

Hypochromní erythrocyty jsou specifické tím, že obsahují sníženou hladinu hemoglobinu. U těchto krvinek přesahuje centrální bledost víc jak jednu třetinu průměru buňky. Naopak u hyperchromie erythrocytů je koncentrace hemoglobinu zvýšena. Zvýšená hladina hemoglobinu je spojena s tvarovými abnormalitami jako jsou například sférocyty. (Penka, 2011)

5.4 Inkluze v erythrocytech

U zdravého jedince zralé erythrocyty postrádají jakákoliv inkluzní tělíska. Inkluzní tělíska jsou výsledkem oxidačního stresu. Svědčí o probíhající závažné infekci v organismu. Tato tělíska zahrnují jaderné produkty RNA/DNA, hemoglobin nebo železité pigmenty. (Adewoyin, 2019)

Bazofilní tečkování je častým ukazatelem hematologického onemocnění v periferní krvi. Jedná se o denaturované fragmenty RNA rozptýlené v cytoplazmě erythrocytů. Hrubé bazofilní tečkování je spojeno s toxicitou těžkých kovů s převládajícím důrazem na otravu olovem. Pacienti s talasémií nebo srpkovitou anémií mohou mít také v krevním nátěru přítomné četné bazofilní tečkování. (Sanchez, 2022)

Howell-Jollyho tělíska jsou inkluze obsahující DNA pozorované u pacientů s nedostatečnou funkcí sleziny nebo po jejím odstranění. Dalšími méně častými příčinami mohou být gastrointestinální onemocnění a trombóza. (Scafidi, 2022)

Papenheimerova tělíska jsou malé bazofilní (červenofialové) inkluze s nepravidelnými okraji umístěné periferně v erythrocytu. Tato tělíska se skládají z hemosiderinu a jejich přítomnost souvisí se sideroblastickou anémií nebo s hyposplenismem. (Bain, 2017)

Cabotovy prstence jsou červenofialové inkluze, které se jeví jako prstence nebo smyčka uvnitř červené krvinky. Jedná se o zbytkové mikrotubuly mitotického vřeténka. Výskyt těchto prstenců svědčí o přítomnosti megaloblastové anémie. (Villatoro, 2019)

Heinzova tělíska jsou shluky nevratně denaturovaného hemoglobinu připojeného k buněčné membráně erytrocytů, svědčí o oxidativním poškození erytrocytu. Tato tělíska pravděpodobně způsobují hemolytickou anémii. (Herman, 2022)

Dalším nálezem v nátěru periferní krve může být **aglutinace erytrocytů**. Aglutinace je děj, při kterém se tvoří menší nebo větší shluky erytrocytů, příčinou je přítomnost protilátek. Nejčastěji je tento děj pozorovatelný u paroxysmální noční hemoglobinurie. (Penka, 2011)

6 Charakteristika anémií

Anémie (chudokrevnost), je chorobný stav charakterizovaný poklesem hemoglobinu pod fyziologickou mez, která je definována pro dané pohlaví. (Penka, 2011, s. 163) Pokles hemoglobinu může být doprovázen sníženým počtem červených krvinek v krvi, ale nemá pro definování anémie velký význam, neboť u některých typů anémií bývá dokonce zmnožený počet erytrocytů. (Steinerová, 2018; Penka, 2011)

Z funkčního hlediska jsou anémie takové stavy, které vedou ke snížení vazebné schopnosti pro kyslík a tím k následné poruše tkáňového dýchání. (Penka, 2011, s. 163) Anémie je nejčastější poruchou krve tvorby a postihuje téměř třetinu světové populace. (Steinerová, 2018; Pecka, 2006b)

Klinické příznaky anémií souvisí s poruchou prokrvení tkání a jejich nedostatečným zásobováním kyslíku. (Penka, 2011, s. 163) Intenzita příznaků závisí nejen na hodnotě hemoglobinu, ale i na rychlosti vzniku anémie, na stavu kardiovaskulárního systému, ale také i na věku. V případě, že chudokrevnost vzniká pozvolně, mohou se v těle uplatnit tzv. kompenzační mechanismy, které mu umožní adaptovat se na nižší hodnoty hemoglobinu. (Penka, 2011, s. 163)

Mezi příznaky, které se mohou objevit jako první, patří:

- pocit slabosti nebo únavy častěji než obvykle,
- bolesti hlavy,
- tachykardie,
- problémy se soustředěním
- podrážděnost,
- necitlivost a brnění rukou a nohou,
- bledost kůže.

Pokud dojde k zhoršení stavu, dochází k prohloubení symptomů, začnou se projevovat objektivní příznaky, jako je bledost sliznic či kůže. U pacientů s těžkou anémií může dojít k vzniku otoků. U hemolytických anémií se může objevit žloutenka nebo splenomegalie. Avšak řada klinických příznaků jak subjektivních, tak objektivních, je specifická pro konkrétní typ anémie. (Penka, 2009; Penka, 2011; Braunstein M., 2022)

7 Klasifikace anémií

Anémie lze rozdělit ze dvou pohledů, buď se jedná o morfologickou nebo o etiopatogenetickou klasifikaci. Morfologická klasifikace vychází z hodnoty středního objemu erytrocytu, proto je možné anémie rozdělit na *mikrocytární*, *normocytární* nebo *makrocytární*. Bylo však zjištěno, že toto dělení je pro klinické využití nedostatečné. (Steinerová, 2018)

7.1 Etiopatogenetická klasifikace

Etiopatogenetické dělení, tudíž podle mechanismu vzniku anémie, je pro praxi daleko důležitější. Z tohoto pohledu se anémie dají rozdělit do tří skupin, a to **na anémie z poruchy tvorby erytrocytů, anémie ze zvýšené ztráty erytrocytů a anémie ze ztráty krve (akutní posthemoragická anémie)**. (Steinerová, 2018; Fábryová, 2010)

7.2 Anémie z poruchy tvorby erytrocytů

7.2.1 Anémie z poruchy syntézy hemu

Jedná se skupinu anémií, do kterých je možné zařadit *sideropenickou anémii* spolu s ojedinelou *sideroblastickou anémií*. První jmenovaná anémie je nejčastější chorobou na světě, zatímco sideroblastická anémie je velmi různorodou skupinou, která je v mnohých ohledech ještě nejasná. (Fábryová, 2010)

7.2.1.1 Anémie z nedostatku železa – sideropenická anémie

Sideropenie neboli nedostatek železa spolu se **sideropenickou anémií**, jinak také anémií z nedostatku železa, jsou globálním zdravotním problémem. Oba tyto stavy vznikají na základě nedostatku železa jako jednoho ze základních stavebních kamenů molekuly hemu. Ačkoliv prevalence sideropenické anémie v posledních letech poklesla, tak i nadále platí, že nedostatek železa je hlavní příčinou anémie na celém světě. (Longo, 2015; Penka, 2009)

Nedostatkem železa se rozumí snížení zásob železa v organismu. Tento stav může přecházet na sideropenickou anémii nebo přetrvává bez progresu. Anémie z nedostatku železa je však závažnější stav, který je charakterizován nízkou hladinou železa a přítomností mikrocytárních, hypochromních erytrocytů v krvi. (Longo, 2015)

Lze rozlišit tři stupně nedostatku železa:

- prelatentní sideropenie, v tomto stádiu dochází k postupnému snižování zásob železa v těle, ale není ovlivněna dodávka do erytroblastů kostní dřeně,
- latentní sideropenie, v tomto případě jsou zásoby železa v organismu vyčerpány a je snížena dodávka železa pro erytropoézu, avšak stále není přítomná chudokrevnost,

- sideropenická anémie, tady už dochází k rozvoji anémie z nedostatku železa. (Penka, 2009)

1. Klasifikace sideropenie (sideropenické anémie)

Sideropenie se sideropenickou anémií lze rozlišit na základě patofyziologie. V tomto případě se jedná buď o *absolutní* nebo *relativní* formu. Další možností je dělení na základě klinických údajů a v poslední řadě na podkladu dědičnosti, v tomto případě lze hovořit o *vrozené* nebo *získané* formě. (Camaschella, 2017)

a) Absolutní sideropenie a sideropenická anémie

Pojem sideropenie definuje stav, při kterém jsou v organismus snižené celkové zásoby železa (většinou v makrofázích a hepatocytech). V některých stavech mohou být úplně vyčerpány, avšak bez přítomnosti zjevné anémie. V tomto případě je však stále zachována potřebná dodávka železa do erytropoézy. *Relativní nedostatek železa* se týká stavů, kdy ve specifických tkáních nebo orgánech chybí potřebné železo. Jelikož se železo jen stěží mobilizuje ze zásob do oběhu a erytropoetických tkání, ale celkové množství železa v těle zůstává zachováno. (Camaschella, 2017; Cappellini, 2019)

Nedostatek železa v organismus může být způsoben *zvýšeným požadavkem na železo* nebo jeho *nedostatečným příjmem v potravě, sníženým vstřebáváním železa*. Další příčinou může být *akutní* nebo *chronická ztráta krve*, konkrétně se jedná například o gastrointestinální krvácení. (Camaschella, 2017)

Zvýšený požadavek na železo se většinou objevuje u dětí během růstu, u mladých žen ve fertilním věku v důsledku menstruace a také u těhotných žen v druhém a třetím trimestru. Zvýšeným výskytem nedostatku železa trpí také pacienti užívající aspirin, popřípadě jiné nesteroidní protizánětlivé léky. (Camaschella, 2017; DeLoughery, 2017)

Další častou příčinou sideropenické anémie je gastrointestinální krvácení. Hlavní příčinou tohoto stavu jsou gastrointestinální léze, které vedou k nedostatku železa postupnou ztrátou krve po delší dobu. Právě nádory gastrointestinálního traktu jsou nejobávanějším zdrojem těchto krevních ztrát. Výskyt těchto nádorů byl zjištěn u 10 % pacientů trpících anémií z nedostatku železa. Další častou příčinou ztráty krve bývají vředy přítomné v gastrointestinálním traktu. (DeLoughery, 2017)

Za zmínku stojí také infekce způsobená patogenem *Helicobacter pylori*, která vede k nedostatku železa několika mechanismy. V prvním případě je tato infekce rizikovým

faktorem pro vznik žaludečních vředů. Další možností je vznik achlorhydrie, která má za následek zhoršenou absorpci železa. (DeLoughery, 2017)

Snížená absorpce bývá také způsobená celiakií, zánětlivým onemocněním střev a vzácnou příčinou může být také autoimunitní gastritida, ta bývá způsobena bakterií *Helicobacter pylori*. (Camaschella, 2017)

b) Vrozená sideropenie

Anémie z nedostatku železa nereagující na léčbu železem (IRIDA)

Tento typ anémie je autozomálně recesivní onemocnění způsobené mutacemi specifického genu Tmprss6. Vysoké hladiny hepcidinu v důsledku inaktivačních mutací Tmprss6 blokuje absorpci železa ze střeva a také uvolňování železa z makrofágů, což vede k velmi nízkým hladinám cirkulujícího železa, které je nedostačující pro potřeby erythropoézy. Toto vrozené onemocnění je z dostupných zpráv rozšířené po celém světě. (Camaschella, 2017)

1. Klinické příznaky sideropenie

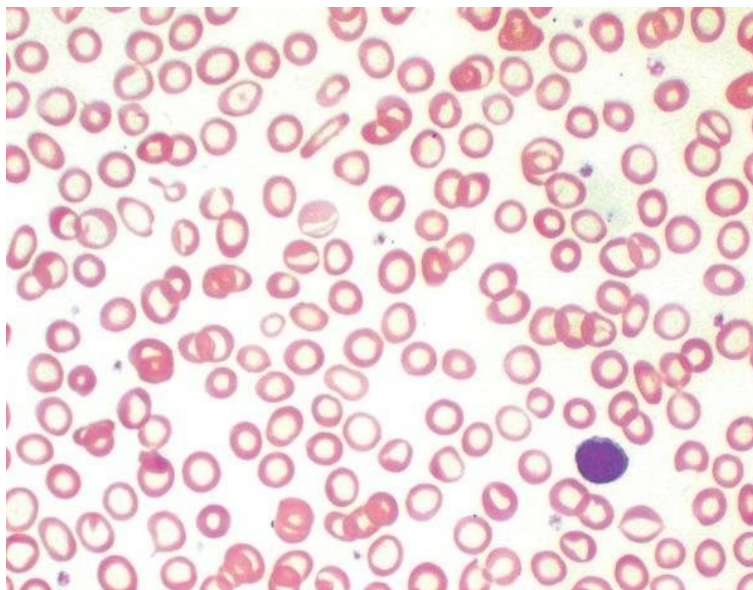
Klinické příznaky sideropenie mohou být způsobeny jak nedostatkem samotného železa, tak výslednou anémií. Vzhledem ke klíčové roli železa v mnoha buněčných proteinech, enzimech a zejména cytochromech a myoglobinu, není překvapivý fakt, že symptomy lze pozorovat dříve, než dojde ke vzniku anémie. (DeLoughery, 2017)

Příznaky mohou zahrnovat únavu, objevující se i při mírném snížení zásob železa v těle, poté bledost kůže, dušnost, bolest hlavy, tachykardie a také nedostatek vytrvalosti a nadměrné vypadávání vlasů. Dalším častým příznakem nedostatku železa bývá nesnášenlivost chladu. Tento fakt může být způsoben sníženou účinností hormonu štítné žlázy, jelikož je tato účinnost závislá na zásobách železa. (DeLoughery, 2017; Lopez, 2016)

2. Diagnostika

Diagnostika anémie je založena na stanovení koncentrace hemoglobinu v krvi v rámci vyšetření celkového krevního obrazu. Hranice hemoglobinu po potvrzení přítomnosti anémie závisí na věku, pohlaví, nadmořské výšce. Dospělý muž je považován za anemického v případě, že je koncentrace Hb nižší než 130 g/l, zatímco dospělá žena je považována za anemickou, když se hladina jejího hemoglobinu pohybuje pod 120 g/l. V krevním nátěru bývají patrné anizocyty popřípadě ovalocyty. Avšak v případě, že se anémie stále prohlubuje, dochází k poklesu hladiny hemoglobinu, snižuje se počet erytrocytů, snižují se také hodnoty MCH a MCV a v nátěru je možné vidět typické hypochromní mikrocyty až anulocyty. (Fábryová, 2010; Lopez, 2016) Obrázek 3 znázorňuje nátěr periferní krve při těžké formě anémie z nedostatku železa.

Buňky jsou v tomto případě mikrotické a hypochromní s občasnými terčovitými formami erytrocytů.



Obrázek 3: *Nátěr periferní krve při těžké anémii z nedostatku železa (Ali Mohamed, 2016)*

Diagnostika nedostatku železa je poněkud složitější a zdá se, že nejlepší hodnocení dostatku železa v těle poskytuje kombinace několika indikátorů železa. Vyšetření hodnoty MCH je sice levné a široce dostupné stanovení, ale abnormální hodnoty nastávají až při dlouhodobém nedostatku železa nebo se vyskytují u jiných chronických chorobných stavů, včetně hemoglobinopatií nebo sideroblastických anémií. (Lopez, 2016)

Nejspecifičtějším testem, který koreluje s celkovými zásobami železa v těle je měření sérového feritinu. Deficit železa je diagnostikován v případě, že se hodnota feritinu nachází pod hodnotu 15 $\mu\text{g/l}$ u pacientů starších 5 let, je však důležité, aby pacient netrpěl zánětlivým onemocněním, jelikož u akutních, chronických zánětlivých poruch a maligních onemocněních dochází ke zvyšování koncentrace feritinu nezávisle na stavu železa. V těchto případech je vhodnější vyšetření koncentrace železa v séru, sérového transferinu nebo celkové vazebné kapacity železa, které je potřebné k výpočtu saturace transferinu. V případě nedostatku železa dochází k snížení koncentrace sérového železa a celková vazebná kapacita železa se zvyšuje, což vede k podstatnému snížení saturace transferinu. (Lopez, 2016)

Příznaky nemusí být pro pacienta nutně obtěžující, ale ve většině případů se jedná o pacienty, kteří v důsledku svého primárního onemocnění trpí nějakým závažným onemocněním a vznik mírné anémie může pacientovi způsobit další onemocnění a komplikace. (Hardang, 2017)

3. Léčba

Léčba nedostatku železa by měla být okamžitě zahájena, a to i při absenci anémie. Základem je odhalení a léčba příčiny, která anémií vyvolala. Pacient by měl konzumovat vyváženou stravu, a to ve všech nutričních složkách. Volba způsobu podání a také volba sloučeniny železa do značné míry závisí na přítomnosti a stupni anémie, na reverzibilitě základní příčiny, na klinickém stavu a v některých případech na preferencích pacienta. (Fábryová, 2010; Camaschella, 2019)

V případě orální suplementace železa je základem terapie absolutního nedostatku železa podávání soli železa, jako je *síran železnatý*, *fumarát* a *glukonát*. V dnešní době existuje velké množství preparátů, jako je například *maltofer*, *tayrдыferon*, *aktiferin* a další) a ještě větší množství přípravků železa kombinovaných s jinými stopovými prvky nebo vitamíny. Rostoucí důkazy ukazují, že nižší dávky léčiva jsou účinnější a lépe tolerované než tradiční doporučované dávky 100 až 200 mg elementárního železa denně. Avšak obvyklé dávkování elementárního železa je 120 mg železa denně po dobu tři měsíců. Dětem jsou ve většině případů podávány 3 mg/kg železa denně, avšak může se jednat i o dávku 6 mg/den. Jako adekvátní odpověď na léčbu je považováno zvýšení Hb o 10 g/l po jednom měsíci. Léčba by měla být cílená a dostatečně dlouhá, a to až do úpravy laboratorních parametrů. (Camaschella, 2019; Short, 2013)

Vysoké dávky mohou vést k toxicitě neabsorbovaného železa na střevní sliznici zprostředkované ROS. V případě nedodržování léčby dochází u 30–70 % případů k běžným nežádoucím účinkům jako je nevolnost, zvracení, zácpa nebo průjem. Mezi další nežádoucí účinky nevstřebaného železa je možné zařadit změny ve složení střevního mikrobiomu se snížením prospěšných bakterií rodu *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*. (Camaschella, 2019)

U pacientů, kteří podstoupili gastrektomii, gastrojejunostomii nebo jiné operace tenkého střeva, lze indikovat parenterální terapii železem. Nejčastější indikací intravenózní terapie jsou různé gastrointestinální poruchy, zhoršení příznaků zánětlivého onemocnění střev, těžké anémie, anémie vyvolané selháním ledvin při současném užívání s erythropoetinem nebo také nedostatečná absorpce železa u pacientů s celiakií. Tento typ léčby někdy doprovázejí vážnější vedlejší účinky, proto je nutné léčbu pořádně zvážit. (Fábryová, 2010; Camaschella, 2019; Short, 2013)

Intravenózní preparáty železa jsou dostupné v několika formách. Může se jednat o *glukonát železa*, který vyžaduje opakované infuze. Zatímco *ferumoxytol*, nízkomolekulární

dextran železa a *izomaltosid železa* mohou být podávány ve vysokých dávkách, obvykle v 1 nebo dvou transfuzích, tak aby došlo k rychlé náhradě celkového deficitu železa. Indikace vysokých dávek těchto léků je vhodná v případě potřeby rychlého zotavení, například u gravidních žen v pokročilém těhotenství. Vysoké dávky intravenózního železa mohou být transfundovány u pacientů před plánovanou operací, jelikož mohou způsobit zvýšení Hb nebo zásob železa. Jedná se o prevenci akutních pooperačních anémií a také o alternativu krevní transfuze. (Camaschella, 2019)

U pacientů trpících anémií z nedostatku železa neexistuje žádná všeobecně přijímaná prahová hodnota pro transfúzi erytrocytů. Klinicky stav a symptomy pacienta spolu s hladinou hemoglobinu jsou rozhodující faktory o rozhodnutí podání transfuze. Indikace transfuze je doporučována u těhotných žen s hodnotou Hb nižší než 60 g/l. Měly by se podávat dvě jednotky erytrocytů a následně by měla být znovu zhodnocena klinická situace. (Short, 2013)

7.2.2 Anémie z poruchy syntézy globinu

Hemoglobinopatie jsou nejčastější monogenní onemocnění u člověka. Jsou výsledkem bodové mutace, delece anebo inserce v globinových genech, které vedou ke změně syntézy, k poruše rozpustnosti anebo k poruše stability hemoglobinové molekuly. Za hemoglobinopatie lze považovat pouze takové změny v genech, které mají klinické projevy. Poruchy globinového genu jsou charakterizovány buď syntézou abnormálních variant globinového řetězce, nebo sníženou syntézou globinového řetězce v erytroidních buňkách (talasémie) během erythropoézy. (Fábryová, 2010; Farashi, 2018; Longo, 2014)

7.2.2.1 Talasémie (kvantitativní hemoglobinopatie)

Jedná se o chorobu, která je charakterizovaná genetickým poklesem syntézy globinového řetězce. Teoreticky existuje tolik typů talasémií, kolik je typů globinových řetězců. Avšak klinicky nejrelevantnější jsou alfa- a beta-talasémie, které ovlivňují produkci α -globinových a β -globinových řetězců. Hlavním společným znakem všech forem talasémií je deficitní kvantitativní syntéza jednoho nebo více polypeptidových řetězců lidského hemoglobinu. Toto je hlavním rozdílem oproti pravým hemoglobinopatiím, jelikož u těchto poruch vzniká v důsledku bodové mutace genu kvalitativní defekt hemoglobinové molekuly. (Fábryová, 2010; Sarnaik, 2005)

7.2.2.1.1 Alfa-talasémie

Alfa-talasémie je dědičná porucha, která je charakterizovaná deficitem v produkci α -globinových řetězců hemoglobinu. Snížená produkce nebo absence α -globinových řetězců má

za následek přebytek nepárových β -globinových řetězců. Ty poté tvoří nerozpustné homotetramery. Tento fakt poté způsobuje intracelulární precipitaci, neúčinnost erythropoézy a akutní hemolytickou anémii, která je typická pro těžké formy alfa-talasémií. (Farashi, 2018)

Na každém krátkém raménku 16. chromozomu se nacházejí dvě kopie α -globulinových genů (α_2 a α_1), což komplikuje patologii alfa talasémií. Řetězce α -globinu v kombinaci s řetězcí γ , ϵ , a β -globinu produkující Hb Gower-2 ($\alpha_2\epsilon_2$), HbF ($\alpha_2\gamma_2$), HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$) a HbA₁ ($\alpha_2\beta_2$). Obecně jsou varianty alfa talasémie výsledkem delečních a nedelečních mutací v genech α_1 nebo α_2 -globinu, což vede k abnormálním řetězcům α -globinu. (Valaei, 2018)

1. Klasifikace alfa-talasémií

V případě, že je postižený jedinec nositelem mutace, která ovlivňuje geny α -globinového řetězce pouze na jednom chromozomu, tak lze hovořit o **tzv. tichém nosičství**. Tato mutace se projevuje pouze mírnou anémií. Další možností je, že jsou u daného jedince postiženy dva α -globinové geny. Jedná se o tzv. **alfa-thalassemia trait (alfa talasémický znak)**. Onemocnění **hemoglobinem H (HbH)** nebo také alfa-talasémie intermedia vzniká v případě, že u postiženého jedince došlo k deleční mutaci tří ze čtyř α -globinů. Nejzávažnějším typem alfa-talasémie je stav bez jakékoliv exprese alfa genů, jedná se o tzv. **Hb Bartův fetální hydropsový syndrom (HBFS)**. (Farashi, 2018; Bhagavan, 2015)

Kojenci trpící HBFS mají nejzávažnější nedostatek v expresi α -globinu. Většina hemoglobinu v erythrocytech postiženého plodu tvoří homotetramery fetálních γ -globulinových řetězců. Jedinci, kteří jsou postiženi touto nemocí, mají výraznou hepatosplenomegalií, retardaci růstu mozku a širokou škálu dalších vývojových abnormalit a dochází také k výraznému zvětšení placenty. Plody s tímto onemocněním umírají buď *in utero* v 23–38 týdnu těhotenství nebo těsně po narození. (King, 2018) Na obrázku 4 je možné vidět mrtvý plod trpící právě hydropsovým syndromem.



Obrázek 4: Mrtvé novorozeně s HBFS (Harteveld, 2010)

2. Klinické projevy

Jedinci, kteří jsou jen nositelé alfa-talasémie jsou klinicky asymptomaticí a jsou identifikováni pouze náhodně při rutinních hematologických rozbořech nebo během prenatalního screeningu. Obvykle nedochází k žádné těžké anémii, únavě nebo jiným potížím souvisejícím s anémií, jelikož má většina nositelů normální hladinu hemoglobinu. (Farashi, 2018)

Onemocnění hemoglobinu H má široké fenotypové spektrum. Klinické projevy se obvykle vyvíjejí v prvních letech života, avšak v některých případech se tato anémie nemusí projevit až do dospělosti. Forma HbH způsobená delečními mutacemi často vykazuje mírný průběh onemocnění. Naopak HbH způsobená nedelečními mutacemi je charakterizovaná těžkou anémií a klinickými komplikacemi. Pacienti trpí hemolytickou anémií, splenomegalií v některých případech s hyperplenismem, a žloutenkou. Mladší jedinci mohou mít růstovou retardaci. Zatímco u starších pacientů se může objevit vnitřní ukládání železa v důsledku chronické hemolýzy. (Farashi, 2018; Valaei, 2018)

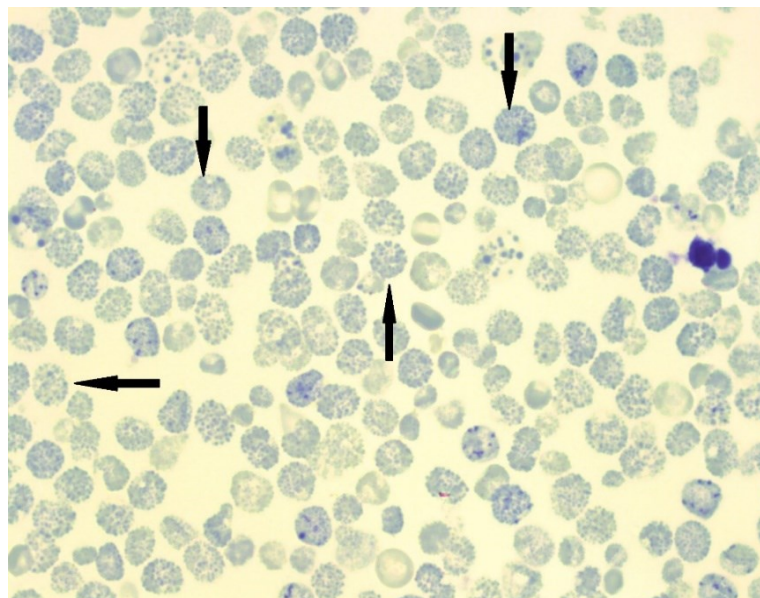
3. Diagnostika

Klinické projevy alfa-talasémie zahrnují čtyři široce odlišné stavy, od tichého nosičství až po letální hydrops fetalis syndrom. Jedinci trpící alfa-talasémií mohou mít proměnlivou

koncentraci hemoglobinu, a to od normální až po těžkou anémii. Bývá také snížena hodnota MCV spolu s hodnotou MCH. Počet erytrocytů bývá normální nebo zvýšený a procento HbA₂ bývá normální až mírně snížené v závislosti na počtu nefunkčních genů α -globinu. (Farashi, 2018)

Měla by se také provést kvalitativní a kvantitativní analýza hemoglobinu pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie se slabými kationty. Tato metoda dokáže identifikovat množství a typ přítomného hemoglobinu. Pro definitivní diagnózu alfa talasemií a úplné pochopení klinického fenotypu je nutné provedení molekulární analýzy klastru genů α -globinu. (Farashi, 2018; Tamary, 2005)

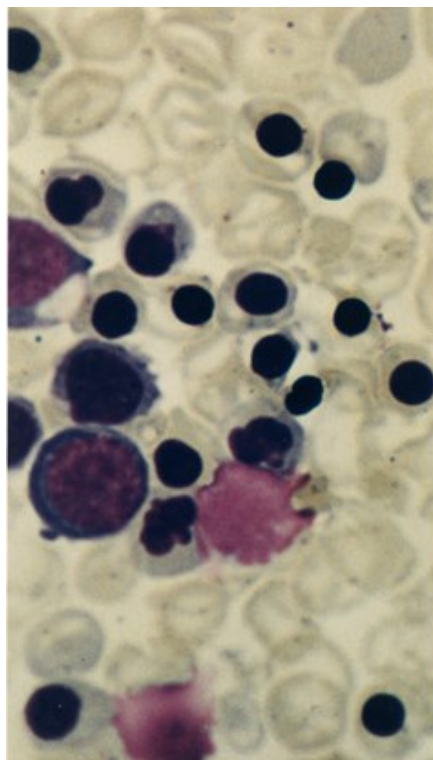
Průkaz onemocnění HbH je stanoven u jedinců s hematologickým nálezem a molekulárně genetickým vyšetřením, které identifikuje bíalelické patogenní varianty v *HBA1* a *HBA2* genech, které vedou k delecii nebo inaktivaci tří alel α -globinu. Hematologický nález tvoří mírná až středně těžká mikrocytární, hypochromní hemolytická anémie. V nátěru periferní krve je možné nalézt anizopoikilocytózu a ve vzácných případech také jaderné erytrocyty. (Tamary, 2005) Obrázek 5 ukazuje supravitálně obarvený nátěr periferní krve s četnými inkluzemi hemoglobinu H.



Obrázek 5: Znárodnění hemoglobinu H v erytrocytech (Villatoro, 2019)

Diagnostika Hb Bartova fetálního hydropsového syndromu se provádí u plodu s charakteristickými hematologickými nálezy a molekulárně genetickým testováním, které identifikuje bíalelické patogenní varianty v *HBA1* i *HBA2*, které způsobují delecii nebo inaktivaci všech čtyř alel α -globinu. Při provedení hematologického vyšetření bývá nalézána

těžká makrocytární, hypochromní anémie. V nátěru periferní krve je možné vidět velké, hypochromní erythrocyty, těžkou anizopoikilocytózu s četnými jadernými erythrocyty. (Tamary, 2005) Na obrázku 6 je možné pozorovat nátěr periferní krve ze vzorku krve dítěte narozeného s Hb Bartovým syndromem.



Obrázek 6: Nátěr periferní krve u Hb Bartova syndromu

4. Léčba

Pacienti trpící pouze tzv. tichým nosičstvím nebo mírnou formou této anémie bývají zpravidla asymptomatictí, proto těmto jedincům není doporučována žádná specifická léčba. V případě nedostatku folátu ve stravě nebo v případě probíhající infekce může být pacientům podávána kyselina listová v dávkách 1–5 mg/den. (Rachmilewitz, 2011)

Jedinci s deleční formou HbH mohou příležitostně vyžadovat krevní transfuze, v případě náhlého poklesu hladiny hemoglobinu vlivem hematologické nebo aplastické krize. U pacientů se zátěží železa způsobené pravidelným podáváním krevních transfuzí, nevhodnou terapií železem může být zapotřebí chelatační terapie železa. (Tamary, 2005)

Nemocní s nedeleční formou onemocnění HbH, kteří mají bíalelické patogenní varianty *HBA2* mohou být vážněji postižení a mohou vyžadovat podávání transfuzí. Tito jedinci by měli být léčeni stejným způsobem jako pacienti s beta talasémií major. (Tamary, 2005)

Rozhodnutí o provedení splenektomie by mělo nastat pouze u jedinců s masivní splenomegalií nebo hypersplenismem. Je nutné zvážit související rizika život ohrožující sepse a žilní trombózy. (Tamary, 2005)

7.2.2.1.2 Beta-talasémie

Beta-talasémie jsou skupinou dědičných krevních poruch charakterizovaných sníženou (β^+) nebo chybějící syntézou beta-globinových řetězců (β^0), což má za následek snížení syntézy Hb v erythrocytech a také nerovnováhu mezi alfa a non-alfa řetězci. Toto onemocnění je způsobené bodovými mutacemi nebo vzácněji delecemi v genu beta globinu na 11. chromozomu, což poté vede k výše zmíněným poruchám. (Fábryová, 2010; Galanello, 2010)

Syntéza α -řetězců probíhá v pořádku, avšak vzniklé řetězce se nemají s čím spojit, a díky tomu dochází k tvorbě nevyvážených a nerozpustných agregátů, které následně precipitují v cytoplazmě erythrocytů. Nejtěžší změny nastávají právě v buněčné membráně červených krvinek, jelikož se na tuto membránu váží vzniklé agregáty. Nejvíce postižený bývá protein 4.1, který je důležitý pro membránovou stabilitu erythrocytu. (Fábryová, 2010)

V kostní dřeni tyto inkluze poškozují membránu nově vznikajících erytroidních prekurzorů, což znemožňuje jejich další vývoj a dochází k neefektivní erythropoéze. Vzniklá anémie stimuluje produkci erythropoetinu s následnou intenzivní, ale neúčinnou expanzí kostní dřene, což následně způsobuje typické kostní deformity u tohoto typu onemocnění. (Fábryová, 2010; Ali, 2021)

1. Klasifikace beta-talasémie

Beta-talasémie je možné rozdělit na tři hlavní formy, a to konkrétně na:

- talasémie major,
- talasémie intermedia,
- talasémie minor. (Galanello, 2010)

Může se však u jedince vyskytnout i *dědičná perzistence fetálního hemoglobinu (HPFH)*. Jedná se o stav s významnou produkcí fetálního hemoglobinu, který pokračuje i v dospělosti. Normální hladiny HbF postnatálně tvoří přibližně 1 % celkového hemoglobinu. Dědičná perzistence fetálního hemoglobinu je charakterizována zvýšenou syntézou γ -globulinu, ta je způsobena delecí β -globulinového lokusu nebo bodovými mutacemi promotoru genu γ -globulinu. Pokračující exprese γ -globulinových řetězců vede ke zvýšení hladiny HbF, čímž dochází k nahrazení normálního dospělého hemoglobinu. (Braghini, 2016)

2. Klinické projevy

a. Beta-talasémie major

Jedná se o nejméně závažný typ beta-talasémie, který je charakteristický pro homozygoty β^0 , kde se nenachází hemoglobin A, různé množství hemoglobinu A_2 a převážně se zde vyskytuje hemoglobin F. Stejný klinický obraz mohou vytvářet i některé kombinace homozygotů β^+ anebo dvojité heterozygoti. (Fábryová, 2010)

Ke klinickým projevům dochází mezi 6. a 24. měsícem života. V prvních měsících života jedince s tímto onemocněním nedochází k žádným výrazným projevům. Avšak postupem času se u dětí objevuje nápadná bledost a pacient přestává prosperovat. Mohou se objevit problémy s krmením, průjem, podrážděnost a také progresivní zvětšení břicha způsobené zvětšením sleziny a jater. Děti trpící beta-talasémií major bývají nízkého vzrůstu, s velkou hlavou, s vystouplými parietálními, frontálními a lícními kostmi. Dochází také k deformacím dlouhých kostí. (Fábryová, 2010; Galanello, 2010) Obrázek 7 znázorňuje výše zmíněně deformace obličeje. Na obrázku 8 je možné vidět dítě trpící hepatosplenomegalií vlivem sekundární extramedulární hematopoézy, způsobené beta-talasémií major.



Obrázek 7: Vzhled dítěte s beta-talasémií major (Bouguila, 2015)



Obrázek 8: Hepatosplenomegalie u dítěte s beta-talásemií major (Bhosale, 2015)

Jedinci s tímto onemocněním jsou zcela závislí na krevní transfuzi. Díky tomu se u nich mohou vyvinout komplikace související s přetížením železem. U dětí může dojít k zpomalení růstu, k selhání nebo zpoždění pohlavního zrání a k dalším jiným komplikacím. Avšak u nemocných bez pravidelného podávání transfuze dochází obvykle k úmrtí před druhou až třetí dekádou. (Galanello, 2010)

b. Beta-talásémie intermedia

U tohoto typu talasémie jsou klinické projevy mírnější než u předchozího typu beta-talasémie, ale naopak těžší než u beta-talasémie minor. Beta-talásémie intermedia se vyskytuje ve dvou formách. V prvním případě pacienti trpí pouze lehkým postižením. Tito jedinci bývají až do dospělosti asymptomatictí pouze s mírnou anémií, díky tomu také nebývají závislí na transfuzi, popřípadě vyžadují její podání pouze zřídka. (Galanello, 2010; Karimi, 2014)

V druhém případě se však mohou vyskytnout pacienti se závažnější anémií. Ta se ve většině případů objeví ve 2–6 letech života. U těchto jedinců se bez občasných krevních transfuzí často rozvinou klinické příznaky, jako jsou bledost, žloutenka, splenomegalie a také deformity skeletu buď v dětství nebo v pozdějším věku. U nemocných se často vyvinou bérčové vředy a také mají zvýšenou predispozici k trombóze. (Galanello, 2010; Karimi, 2014)

c. Beta-talásémie minor

U tohoto typu talasémie bývají jedinci obvykle asymptomatictí, popřípadě trpí mírnou anémií. Proto záchyt beta-talásémie minor bývá zcela nahodilý. Anémií však může zhoršovat

přítomnost nutričního deficitu jako je nedostatek železa, kyseliny listové nebo vitamínu B₁₂. V ojedinělých případech se může vyskytnout lehký ikterus a splenomegalie. (Choudhry, 2017)

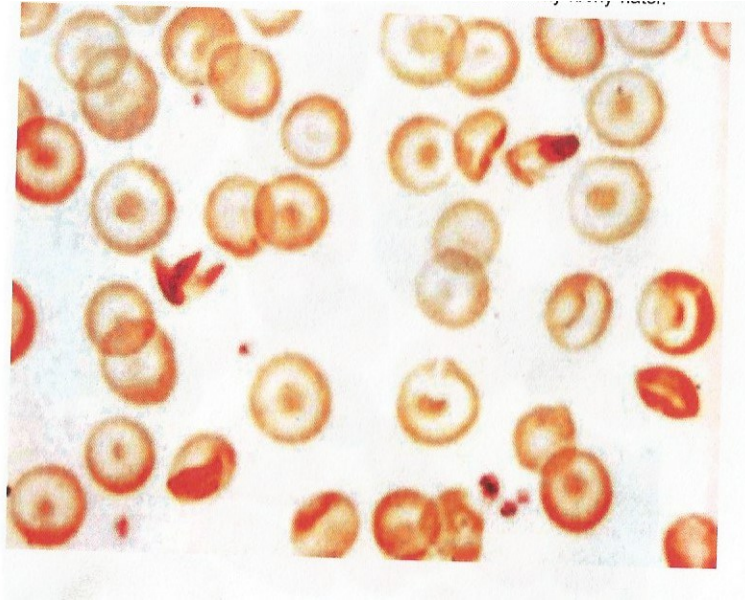
3. Diagnostika

Základem vyšetření beta-talasémií je důkladná anamnéza, a to především rodinná anamnéza. Poté je také důležité objektivní vyšetření hematologicky důležitých orgánů. V prvním případě je potřeba důkladně vyšetřit krevní obraz. Dále je také nezbytné vyšetření morfolgie erytrocytů v nátěru periferní krve. Základní biochemické vyšetření z krve a moči (metabolismus železa, bilirubin, haptoglobin) může také sloužit jako významný ukazatel. (Fábryová, 2010)

Talasémie major je charakterizována sníženou hladinou hemoglobinu pod 70 g/l. Střední korpuskulární objem bývá mezi hodnotami 50–70 fl a střední množství hemoglobinu v erytrocytu mívá hodnoty mezi 12–20 pg. V krevním nátěru lze nalézt anizocytózu, poikilocytózu. Typickým nálezem jsou také terčovité erytrocyty a inkluze v cytoplazmě. Za zmínku stojí také nález makrofágů s pěnovitou cytoplazmou, která obsahuje metabolity z katabolického zpracování erytrocytů. Osmotická rezistence erytrocytů je zvýšená. Hodnoty sérového železa, feritinu jsou u této formy vysoké spolu s vazebnou kapacitou železa. (Fábryová, 2010; Galanello, 2010)

U talasémie intermedia mívají pacienti hodnoty hemoglobinu mezi 70 a 100 g/l. MCV bývá mezi 50 a 80 fl, zatímco MCH mívá hodnoty mezi 16 a 24 pg. Nátěr periferní krve vykazuje obvykle mírnou až závažnou mikrocytózu, hypochromií a anizocytózu. Bývají přítomné také terčovité erytrocyty spolu s bazofilním tečkováním. Sérové železo, feritin i saturace transferinu mohou mít zvýšené hodnoty. (Fábryová, 2010; Galanello, 2010; Karimi, 2014)

Talasémie minor je charakterizována sníženou hodnotou MCV spolu s hodnotou MCH pod fyziologickou mez. Hladina hemoglobinu bývá oproti zbylým typům tohoto onemocnění fyziologická nebo jen lehce snížena. Zatímco počet červených krvinek v periferní krvi je u tohoto typu vysoký. Nátěr periferní krve vykazuje mikrotický hypochromní obraz s občasnými terčovitými erytrocyty. (Galanello, 2010; Choudhry, 2017) Na obrázku 9 je možné vidět terčovité erytrocyty při beta-talasémií.



Obrázek 9: *Nátěr periferní krve s terčovítymi erytrocyty (Fábryová, 2010)*

Dalším nezbytným vyšetřením je kvalitativní a kvantitativní analýza hemoglobinu, která slouží k identifikaci množství a typu daného Hb. Buď se jedná o vyšetření elektroforézy hemoglobinu, která se provádí na citrátovém agaru nebo na agarózovém gelu při pH 6,0–6,2 anebo také na acetátcelulóze při alkalickém pH. Popřípadě se provádí analýza hemoglobinu pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). (Fábryová, 2010; Galanello, 2010)

Složení hemoglobinu se liší podle typu beta-talasémie. U beta⁰ talasémie není přítomný hemoglobin A a převážnou část tvoří hemoglobin F, konkrétně 92–95 % celkového Hb. U homozygotů beta⁺ a genetických sloučenin beta⁺/beta⁰ se hladiny HbA pohybují mezi 10–30 %, zatímco HbF mezi 70–90 %. U beta-talasémie minor bývá zvýšena hladina hemoglobinu A₂. (Galanello, 2010)

Molekulárně genetická analýza se také využívá k diagnostice beta-talasémií. Toto testování značně usnadnilo prevalenci omezeného počtu mutací v každé populaci. Mutace genu beta-globulinu běžně se vyskytující v populaci lze detekovat pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR). (Galanello, 2010)

4. Léčba

Do éry podávání transfuze byla beta-talasémie major jednoznačně smrtelnou chorobou. Indikace substituční hemoterapie podstatně změnila vyhlídky pacientů s touto anémií. Vývoj terapie však dále pokračoval a dnes jsou k dispozici další léčebné postupy. (Fábryová, 2010)

Léčba pomocí transfuzí je nejstarší a nepoužívanější formou terapie beta-talasémie. Cílem transfuzní terapie je korekce anémie, suprese erythropoézy a inhibice gastrointestinální absorpce železa, ke které dochází v důsledku zvýšené, i když neúčinné erythropoézy u jedinců bez podávání transfuze. Rozhodnutí o indikaci transfuze by mělo být založeno na přítomnosti těžké formy anémie s hemoglobinem nižším než 70 g/l. Avšak je potřebné vzít v úvahu také pacienty s hemoglobinem vyšším než 70 g/l, jelikož u nich může dojít k retardaci růstu, k obličejovým změnám a také k zvyšující se splenomegalii. Nejrozšířenějším cílem transfuzní terapie je dosažení potransfuzní hladiny hemoglobinu 130–140 g/l. Tato hladina zabraňuje poškození růstu, poškození orgánů a deformaci kostí. Frekvence indikace transfuze je obvykle každé dva až čtyři týdny. Množství krve k transfuzi závisí na hmotnosti pacienta, na množství cílené hladiny Hb a také na hodnotě hematokritu. Obecně by množství podávaných erytrocytů nemělo překročit hodnotu 15–20 ml/kg/den při maximální rychlosti 5 ml/kg/hodinu. U pacientů, kteří podstupují pravidelné transfuze, je nutné sledovat množství přijatého železa a také jaká je potřeba červených krvinek u daného pacienta. (Fábryová, 2010; Origa, 2017; Galanello, 2010)

Nejvýznamnější komplikací, která nastává při substituční hemoterapii, je přetížení organismu železem. U pacientů, kteří jsou udržováni v pravidelném transfuzním režimu se postupně vyvíjejí klinické projevy přetížení železem. Tyto klinické projevy zahrnují hypogonadismus, hypotyreózu, diabetes a jaterní a srdeční dysfunkce. Jelikož lidský organismus postrádá jakékoliv účinné mechanismy, které by odstraňovaly přebytečné železo z těla pryč, zůstává jedinou variantou použití chelátorů. Tyto látky umožňují vylučování nadprůměrného železa močí nebo stolicí. Obecným pravidlem je zahájení chelatační léčby železa v okamžiku, kdy je pacientovi podána 10–20 transfuze nebo když hladina feritinu stoupne nad 1000 ng/ml nebo také v případě, kdy je pomocí magnetické rezonance odhalena přítomnost 1,5 mg železa na g suché váhy jater. U pacientů trpících talasémií intermedia je chelatační terapie zahájena v případě koncentrace feritinu v séru vyšší než 300 ng/ml. (Fábryová, 2010; Origa, 2017; Galanello, 2010)

Prvním lékem, který je schopen odstraňovat železo z organismu, byl *deferoxamin (DFO)*. Jako nejvhodnější se ukázalo kontinuální podávání DFO infuzí nebo infuzní pumpou v průměrných dávkách 20–40 mg/kg/den pro děti a 30–50 mg/kg/den pro dospělé. Obvykle je tento chelátor podáván 5–7 nocí v týdnu, 8–12hodinovou noční infuzí. Kvůli vedlejším účinkům, které deferoxamin způsobuje a nepohodlnému parenterálnímu podávání stále většině pacientů tento lék nevyhovuje. (Galanello, 2010)

Deferipron (DFP) je perorálně aktivní chelátor železa, který se obvykle podává v dávkách 3×500 mg denně. Častější, avšak méně závažné vedlejší účinky tohoto léku, jsou gastrointestinální symptomy, artralgie, nedostatek zinku a kolísání jaterních enzymů. (Galanello, 2010)

Kombinována léčba DFP a DFO by měla být zvážena jako alternativa ke kontinuální intravenózní monoterapii DFO, v případě potřeby intenzivní chelace. **Defasirox (DFX)** je chelátor železa, který je podáván perorálně jednou denně. Tento lék je užíván v dávkách 20–40 mg/kg/den. Mezi nejčastější vedlejší účinky hlášené během léčby zprostředkované DFX patří mírné až středně těžké gastrointestinální poruchy a kožní vyrážky. (Galanello, 2010; Fábryová, 2010)

Hlavní indikací na provedení splenektomie je zvyšující se počet transfuzí, popřípadě velké problémy s přítomnou splenomegalií. **Splenektomie** je obvykle indikována v okamžiku, kdy roční potřeba transfuzí přesáhne 180–200 ml erytrocytární masy na kg hmotnosti. Další indikací k tomuto zákroku je přítomnost leukopenie a trombocytopenie. Nevýhodou splenektomie je zvýšená náchylnost k infekcím, zejména těch způsobených bakteriemi *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* a *Neisseria meningitidis*. Dalším rizikem spojeným s tímto zákrokem je nárůst tromboembolických příhod, proto je doporučováno podávání antitrombotické léčby. Prevence sepsí zahrnuje imunizaci proti výše uvedeným bakteriím a také podávání antibiotické profylaxe. (Fábryová, 2010; Origa, 2017; Galanello, 2010)

Transplantace kostní dřeně od HLA identického sourozence je široce používána alternativa k tradiční transfuzní a chelatační terapii. Alogenní transplantace kostní dřeně zůstává doteď jedinou možností, která vede k úplnému uzdravení pacienta. Provedení je však stále omezeno dostupností odpovídajících dárců a také rizikem reakce štěpu proti hostiteli. U omezeného počtu pacientů byla také provedena transplantace kostní dřeně od nepříbuzných dárců. Výběr dárců je však založen na přísných kritériích kompatibility HLA systému a tuto variantu je stále zapotřebí dále zkoumat. Dospělí jedinci mají vyšší riziko toxicity související s transplantací kvůli pokročilé fázi onemocnění a míra vyléčení je přibližně 65 %, proto se transplantace doporučuje mladým jedincům v dobrém klinickém stavu. (Fábryová, 2010; Origa, 2017; Cappellini, 2017)

Pokroky v genetice umožnily zkoumat další možnosti terapie beta talasémií. Indukcí syntézy HbF může dojít k snižování závažnosti této anémie zlepšením nerovnováhy mezi α - a

non α - globulinovými řetězci. Podáváním hydroxymočoviny v nízkých dávkách pacientům s talasémií intermedia dochází k zvyšování hladiny Hb, avšak ke stanovení úlohy tohoto léku v léčbě talasemie major jsou zapotřebí další studie. (Galanello, 2010)

7.2.2.2 Srpkovitá anémie (kvalitativní hemoglobinopatie)

Tento typ anémie spadá do skupiny strukturálních hemoglobinopatií, jelikož je toto onemocnění způsobené poruchou struktury molekuly hemoglobinu. Choroby ze srpkovatění erytrocytů (sickle cell diseases – SCD) jsou stavy, při kterých dochází k deformaci buněk vlivem patologického hemoglobinu S. Patří sem srpkovitá anémie (sickle cell anemia – SCA), ale i beta-talasémie v kombinaci s HbS. Toto onemocnění je charakterizováno chronickou hemolytickou anémií, těžkou akutní a chronickou bolestí a také poškozením koncových orgánů, ke kterému dochází v průběhu života. (Fábryová, 2010; Brandow, 2022)

Mutace hemoglobin S vzniká v důsledku substituce trojice bází GTC za trojici bází GAG v šestém kodonu genu pro β -globin, což vede k nahrazení hydrofilního zbytku kyseliny glutamové (Glu) hydrofobním valinovým zbytkem (Val) na šesté pozici v β -globinovém řetězci. (Sundd, 2019)

V deoxygenovém stavu vytváří hemoglobin S mikrotubulární řetězce, které se na sebe vzájemně vážou. Dochází k tzv. polymerizaci mutovaného hemoglobinu. Výsledkem je vznik helické struktury, která je zodpovědná za kolaps struktury hemoglobinové molekuly a z hemoglobinu se stává tuhý gel. Srpkovatění je v počátečních stavech reverzibilní, ale s rostoucí frekvencí dochází k trvalé deformaci membrány erytrocytu, což poté vede ke tvorbě rigidních červených krvinek. Tento fakt následně způsobuje extra- a intravaskulární hemolýzu a obstrukci průtoku krve v mikrocirkulaci s následnou tkáňovou ischemií a nekrózou. Následkem je bolest a poranění orgánů postiženého jedince. Srpkovité erytrocyty jsou význačné svou vysokou křehkostí, jejich životnost bývá oproti normálním erytrocytům velmi krátká a to pouze 16 dní. (Fábryová, 2010; Sundd, 2019; Buchanan, 2010; Williams, 2018)

Nejvýznamnější patofyziologickou událostí u srpkovité anémie je vaskulární okluze neboli vazo-okluze, která je zodpovědná za akutní bolestivou vazo-okluzivní krizi. Vazo-okluzi je možné chápat jako souhrny mezi narušenou reologií krve, zvýšenou přilnavostí krvinek k zánětlivým buňkám a vaskulárnímu endotelu a hemostatickou aktivací. Primárním procesem, který spěje k cévní okluzi je polymerace Hb po deoxygenaci, která způsobuje sníženou deformovatelnost srpkovitých krvinek a také chronickou hemolýzu, díky čemuž poté

dochází k zvýšené viskozitě plazmy. Zvýšená viskozita plazmy přispívá k zhoršenému průtoku krve kapilárami a postkapilárními venuly tkání. (Sundd, 2019; Ballas, 2002)

Stejně jako při beta-talasemii dochází také u tohoto onemocnění k hyperplazii erytropoézy, která způsobuje rozšíření medulárních prostor a ztenčení kortexu. Na jiných místech mohou být nekrózy kostí provázeny periostální reakcí a oblastmi osteosklerózy. (Indrák, 2018)

Průběh tohoto onemocnění závisí na genetických předpokladech, na koncentraci hemoglobinu S, množství 2,3-DPG a také pH krve. Bývá také důležitý vztah mezi srpkovitými krvinkami, ostatními erytrocyty a endoteliemi. (Fábryová, 2010)

1. Klinické projevy

Klinicky se srpkovitá anémie projevuje pouze u homozygotů (HbSS), heterozygoti (HbA/HbS) jsou v tomto případě hematologicky normální. Dalším rozhodujícím faktorem je poměr mezi jednotlivými frakcemi hemoglobinu obsaženého v erytrocytu. U tohoto typu onemocnění se v krvi vyskytuje kromě mutovaného hemoglobinu S i normální hemoglobin A. V případě, že hemoglobin S tvoří méně jak 50 %, má toto onemocnění pouze lehký průběh. (Fábryová, 2010; Indrák, 2018)

Po narození jsou jedinci chráněni fetálním hemoglobinem, který je přítomný ještě pár týdnů po porodu. V dalším vývoji při tvorbě mutovaného hemoglobinu se u nemocných vyskytují různé patologické komplikace, jejichž výskyt je zcela nepředvídatelný a individuální. Kojenci mohou trpět spontánními bolestivými otoky rukou a nohou, bývá přítomná hepatitida, patrná bledost. (Fábryová, 2010)

U dětí po prvním roku života je nejčastější akutní komplikací bolestivá krize. Tyto krize se převážně vyskytují na končetinách, hrudníku, břiše a zádech. Vznikají jako výsledek vazookluzivní krize s ischemicko-reperfuzním poškozením. U kojenců dochází k spontánním bolestivým otokům nohou a rukou. V některých případech mohou být bolestivé krize komplikovány nekrózou kostí se sekundárními infekcemi, včetně osteomyelitidy a septické artritidy. Splenomegalie je v dětství velmi častá, ale v důsledku opakovaných infarktů lze v dospělosti nalézt malou, fibroticky změněnou slezinu (autosplenektomie). (Williams, 2018; Indrák, 2018)

U dospělých homozygotů bývají klinické projevy chronického rázu s postižením různých orgánů, avšak řada jedinců trpících tímto onemocněním bývá po většinu svého života

bez jakýkoliv zdravotních problémů. Mezi nejčastější orgánové komplikace, které charakterizují srpkovitou anémií jako závažné onemocnění, patří vazo-okluzivní nebo bolestivá krize, cévní mozková příhoda. Avšak jejich incidence se u jednotlivých nemocných značně liší. Stejně jako u dětí tak i u dospělých může nastat akutní srpkovitá krize, která je charakterizována nesnesitelnými bolestmi v kostech a kloubech. (Indrák, 2018)

Cévní mozková příhoda je pravděpodobně nejzávažnější a nejničivější akutní komplikaci srpkovité anémie. Jedná se buď o hemoragickou nebo o infarktovou mrtvici, přičemž druhá z nich je častější. Akutní poškození ledvin spolu s priapismem je další běžnou akutní komplikací této anémie. (Williams, 2018)

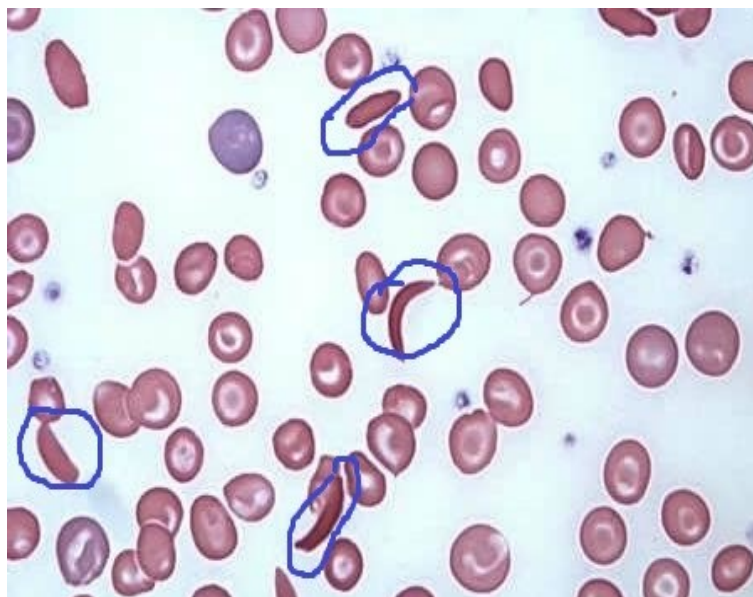
Chronické srdeční a plicní komplikace jsou běžné komplikace u starších dětí a dospělých, které se projevují zhoršenou funkcí plic, tolerancí zátěže a progresivním srdečním selháním. Plicní hypertenze je nejčastější chronickou plicní komplikací u srpkovité anémie a hlavní příčinnou morbidit a mortality u starších dospělých. Přibližně polovina případů plicní hypertenze je prekapilární a je výsledkem vaskulopatie způsobené rekurentní srpkovitostí, zánětem a chronickým tromboembolismem. (Williams, 2018)

Hypoxie, acidóza a hyperosmolarita v kůře ledvin vytváří dokonalé prostředí pro polymeraci hemoglobinu S. S postupem času vedou opakované cykly akutního poškození ledvin k chronickému mikrovaskulárnímu onemocnění prokázané srpkovitou nefropatií. Tyto renální komplikace se projevují už od raného věku a zahrnují hyperfiltraci, hypostenurii a albuminurii. V dětství se srpkovitá nefropatie může projevit jako polyurie, nykturie a noční enurézou. (Williams, 2018)

2. Diagnostika

V laboratorním nálezu je možno nalézt hodnoty hemoglobinu většinou v rozmezí 50–110 g/l. Anémie bývá normocytární a normochromní se zvýšenou hodnotou RDW. V některých případech dochází k zvyšování počtu leukocytů a trombocytů v periferní krvi, a to především u nemocných s akutními problémy. Hladina železa je často mírně zvýšená, ale onemocnění z přetížení železa je u této anémie velmi vzácné. (Fábryová, 2010; Indrák, 2018)

V krevním nátěru bývají patrné srpkovité krvinky spolu s terčovitými buňkami a bývá také přítomná retikulocytóza. Zvýšený počet retikulocytů je jedním z ukazatelů probíhající hemolýzy. Kostní dřev je u srpkovité anémie hyperplastická. (Fábryová, 2010; Indrák, 2018) Na obrázku 10 je možné v nátěru periferní krve vidět přítomné srpkovité erythrocyty.



Obrázek 10: *Nátěr periferní krve pacienta se srpkovitou anémií (El Ariss, 2015)*

Srpkovitou anémií lze diagnostikovat pomocí elektroforézy hemoglobinu S, také pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie nebo izoelektrické fokusace. V dnešní době se klade důraz na prenatální diagnostiku, která se v České republice provádí genetickými metodami, při kterých se vyšetřuje DNA z vilů choria, které se získává pomocí aminocentézy. V některých případech je možné provést vyšetření cirkulujících fetálních erytrocytů v oběhu matky. (Williams, 2018; Indrák, 2018)

3. Léčba

Pacienti s tímto onemocněním vyžadují trvalou preventivní péči a spolupráci s hematologem. Podstatou je předcházení vzniku některých z krizí. Nemocní by se měli vyhýbat chladu a velkým výkyvům teplot v okolí, infekcím. Současně možnost léčby se z velké části zaměřují na nejlepší podpůrnou léčbu, na poskytování analgetik během bolestivých krizí a také na poskytování krevních transfuzí při těžké akutní formě tohoto onemocnění. V případě, že pacient trpí akutní vazookluzivní krizí, je potřeba pacienta uložit do tepla, rehydratovat a je také nutná indikace silných analgetik po případě opiátů. (Fábryová, 2010; Tisdale, 2020)

Doporučuje se, aby všem kojencům s talasemií HbSS a HbSβ⁰ byla podána penicilinová profylaxe a také vakcína PPV23 k prevenci invazivního pneumokokového onemocnění. Podáváním pravidelné transfuze vysoce rizikovým dětem bylo prokázáno 90% relativní snížení rizika mrtvice. Dětem od 2 do 16 let je také doporučováno absolvování každoročních transkraniálních dopplerovských screeningů. (Pace, 2021)

Používání hydroxymočoviny bylo do nedávna jediným lékem modifikující onemocnění. **Hydroxymočovina** inhibuje polymeraci hemoglobinu S, který způsobuje právě výše zmíněnou srpkovitou anémií. Klinická účinnost tohoto léku je způsobena indukcí tvorby fetálního hemoglobinu doposud neznámým mechanismem. U jedinců trpících HbS s hereditární perzistencí HbF dochází v erythrocytech k rovnoměrné distribuci HbF, čímž nedochází k žádným komplikacím srpkovité anémie. Zatímco zvýšení hladiny HbF způsobené hydroxymočovinou není rovnoměrně distribuováno mezi erythrocyty, jinak by byl účinek tohoto léku efektivnější. (Tisdale, 2020; Pace, 2021)

Hydroxyureu je možné indikovat dospělým pacientům a dětem od 9 měsíců věku se závažným klinickým průběhem onemocnění. V průběhu času může u některých pacientů odezva HbF na tento lék klesat, což vytváří potřebu objevit další farmakologická činidla, která budou schopná indukovat HbF novými mechanismy. (Pace, 2021)

Nedávno byly schváleny tři další léky, jednalo se o **L-glutamin**, **crizanlizumab** a **voxelotor**. L-glutamin zvyšuje podíl redukovaných nikotinamidadeninukleotidů v postižených erythrocytech, což vede ke snižování oxidačního stresu. Další přínosy tohoto léku zahrnovaly snížení počtu epizod akutního hrudníkového syndromu. L-glutamin je možné podávat dospělým a dětem od 5 let věku. (Pace, 2021)

Voxelotor je inhibitor polymerace HbS s novým mechanismem účinku. Tento lék stabilizuje uvolněné, nepolymerizující R konformace HbS s vysokou afinitou ke kyslíku. Výsledkem léčby je snížení koncentrace deoxy-HbS. V nedávné studii bylo také zjištěno významné zvýšení hladiny hemoglobinu a snížení zhoršující se anémie a hemolýzy u pacientů se srpkovitou anémií vlivem voxelotoru. (Pace, 2021; Tisdale, 2020)

Crizanlizumab je monoklonální protilátka proti P-selektinu, která významně snížila frekvenci epizod vazookluzivní krize bez ohledu na současné užívání hydroxymočoviny. (Pace, 2021)

Vývoj dalších léků, které budou dále zlepšovat klinickou závažnost v kombinaci s hydroxymočovinou, zahájil éru vývoje personalizovaných kombinovaných léčebných režimů pro pacienty se srpkovitou anémií nebo pro pacienty, kteří nereagují na léčbu hydroxymočoviny. (Pace, 2021)

Právě četné pokroky v porozumění srpkovité anémie umožnilo vývoj léčebných terapií založených na **alogenní transplantaci kmenových buněk** s příslibem léčby založené na

genové terapii v budoucnu. Úplným nahrazením pacientovy kostní dřeně kostní dření, která obsahuje kmenové buňky produkující erytrocyty se správným genem pro β -globulin (HBB) z nepostiženého organismu, lze dosáhnout korekce srpkovité anémie. Ve většině případů se jedná o transplantaci hematopoetických kmenových buněk mezi jedinci s HLA identickými sourozeneckými dárci. Tento postup se ukázal jako kurativní u 95 % příjemců, a to především u dětí. Pouze částečnou (20 %) náhradou pacientovy kostní dřeně vhodnou tkání bylo také dosaženo reverze onemocnění s minimální toxicitou 90 %. Pacientova kostní dřeň v tomto případě není zcela vymýcena. (Pace, 2021; Tisdale, 2020)

Výsledky těchto alogenních transplantací poskytly důkazy, že genetická manipulace s defektními kmenovými buňkami kostní dřeně může být stejně terapeutická. Pro pacienty, kteří nemají vhodného alogenního dárce, zůstávají alternativou genetické strategie zaměřené na autologní transplantaci, jelikož geneticky modifikované terapeutické buňky jsou původem od pacienta. Využití genové terapie *ex vivo* (autologní transplantace kmenových buněk) odstraňuje omezení dostupnosti příbuzných dárců, snižuje potřebu imunosupresivních léků a v neposlední řadě snižuje reakci štěpu proti hostiteli. Tato *ex vivo* genová terapie je v současné době testována v klinických studiích, které začaly hlásit pozitivní výsledky. (Pace, 2021; Tisdale, 2020; Demirci, 2018)

7.3 Anémie ze zvýšené ztráty erytrocytů – hemolytické anémie

Hemolytické anémie jsou skupinou různorodých poruch s širokou klinickou a molekulární heterogenitou. Hlavním znakem hemolytických anémií je snížená hladina cirkulujících erytrocytů v důsledku předčasného zániku červených krvinek, jelikož u tohoto typu anémie dochází ke změně tvaru, funkcí krvinek. Zkrácená životnost erytrocytů může ve výsledku způsobit jejich zvýšené odbourávání neboli hemolýzu. (Jamwal, 2020)

Hemolýza se může vyskytovat jako latentní proces bez jakýkoliv klinických příznaků anémie. V případě, že je odbourávání erytrocytů kompenzováno zvýšenou erythropoézou v kostní dření, nelze hovořit o přítomnosti hemolytické anémie, ale pouze o hemolytickém stavu. Avšak v momentě, kdy je kompenzace rozpadu krvinek krvetvorbou nedostatečná, dochází ke vzniku hemolytické anémie. Hemolýza se projeví anémií, až když nastane 10násobné zkrácení doby přežití červených krvinek a 6násobné zvýšení rozpadu hemoglobinu. (Fábryová, 2010)

Za fyziologického stavu jsou staré krvinky odbourávány ve slezině pomocí extravaskulární hemolýzy. Zatímco za patologického stavu podléhají předčasné destrukci

poškozené a pozměněné erythrocyty intravaskulární i extravaskulární hemolýze v retikuloendoteliálním systému. (Fábryová, 2010; Phillips, 2018)

Primárně dochází k extravaskulární hemolýze, kdy špatně deformovatelné krvinky nejsou schopny změnit svůj tvar, tak aby prošly slezinou, což poté způsobí jejich sekvestraci a fagocytózu. Při intravaskulární hemolýze dochází k buněčné destrukci přímo v krevním oběhu a obsah buněk je uvolněn do plazmy. Při intravaskulární hemolýze je hemoglobin uvolněn do krevního řečiště, kde se specificky váže na haptoglobin. Vzniklý komplex haptoglobin/hemoglobin je poté odstraněn v játrech. V případě překročení vazebné kapacity haptoglobinu dochází k růžovému zabarvení plazmy, která je takto filtrována ledvinami. Může docházet k akutnímu nebo přechodnému selhání ledvin s akutní tubulární nekrózou v důsledku akumulace hemoglobinových dimerů nenavázaných na haptoglobin v renálních tubulech ledvin. (Phillips, 2018; Ucar, 2002)

Příčiny hemolýzy mohou být buď *korpuskulární (vrozené)* anebo *extrakorpuskulární (získané)*. U korpuskulárních hemolytických anémií dochází k poruchám přímo uvnitř erythrocytů. U extrakorpuskulárních hemolytických anémií je příčina předčasného zániku krvinky v prostředí, ve kterém se pohybuje. (Pecka, 2006b; Fábryová, 2010)

1. Diagnostika

Při podezření na hemolytickou anémii je nezbytné provedení kompletního krevního obrazu s počtem retikulocytů, nátěr periferní krve a také měření laktátdehydrogenázy (LDH), hladiny haptoglobinu a hladiny nekonjugovaného bilirubinu, která se vypočítává odečtením konjugovaného bilirubinu od celkového. Běžnou biologickou prezentací této skupiny anémií je makrocytární anémie s retikulocytózou. Přítomná retikulocytóza je charakterizována absolutním počtem retikulocytů rovným nebo vyšším než $120 \times 10^9/l$ a jedná se o důležitý nález u většiny jedinců s tímto onemocněním. V některých typech HA je však nalézána nepřítomnost makrocytózy nebo retikulocytózy. (Guillaud, 2014)

K potvrzení přítomnosti hemolýzy jsou běžně vyšetřovány tři krevní parametry: koncentrace LDH, koncentrace nekonjugovaného bilirubinu a hladina haptoglobinu. Z hemolyzovaných erythrocytů se uvolňuje LDH, čímž dochází k zvýšení jeho hladiny přibližně u 80–90 % všech typů HA. Zvýšená koncentrace nekonjugovaného bilirubinu v plazmě je výsledkem zvýšeného katabolismu hemu a snížené hladiny biliverdinu. Zatímco koncentrace haptoglobinu bývá snížena, jelikož se váže na volný hemoglobin uvolněný v plazmě během intravaskulární hemolýzy a v menší míře během extravaskulární hemolýzy. (Guillaud, 2014)

Analýza krevního nátěru zůstává zdaleka nejdůležitějším krokem diagnostického postupu. Některé přítomné morfologické abnormality erytrocytů lze posoudit pouze pomocí analýzy krevního nátěru a v řadě případů mohou postačit k identifikaci příčiny hemolýzy. Spolu s nálezem morfologicky změněných krvinek je také důležitá analýza leukocytů, analýza počtu a tvarů trombocytů k vyloučení jakékoliv koexistující hematologické nebo maligní poruchy. (Guillaud, 2014)

V případě nenalezení žádných specifických abnormalit v krevním nátěru je žádoucí provedení přímého (DAT) a nepřímého Coombsova testu. Nepřímý Coombsův test detekuje protilátky proti erytrocytům v séru. Přímý Coombsův test je semikvantitativní metoda, která se využívá k detekci přítomnosti allo nebo autoprotilátek anebo k detekci komplementových proteinů vázaných na povrchu cirkulujících erytrocytů. Při provedení DAT pozitivní reakce nastává, když dojde k aglutinaci vyšetřovaných krvinek, na jejichž povrchu byly navázány protilátky (anti-humánní globuliny proti IgG) nebo proteiny komplementu (anti-humánní globuliny proti C3). Ve většině případů bývá pozitivní Coombsův test u autoimunitních hemolytických anémií (AIHA), avšak může nastat výjimka. Za některých vzácných okolností může být DAT u AIHA negativní, proto je nutné vyšetření Coombsova testu za použití anti-IgA anebo anti-IgM globulinů. (Guillaud, 2014; Tuchscherer, 2015)

7.3.1 Korpuskulární hemolytické anémie

Jak bylo zmíněno výše, hemolytické anémie se vyznačují předčasným zánikem erytrocytů, a to buď v důsledku získaných nebo vrozených abnormalit hemoglobinové molekuly nebo vlivem poškození membránových proteinů krvinek a v neposlední řadě může být problém v poruše enzymů potřebných pro metabolismus erytrocytů. Na základě těchto událostí se vrozené hemolytické anémie dále dělí do tří kategorií:

- poruchy membrány červených krvinek,
- poruchy enzymů přítomných v erytrocytech,
- abnormální struktury hemoglobinu (hemoglobinopatie). (Haley, 2017)

Korpuskulární hemolytické anémie jsou skupinou onemocnění, které jsou ve většině případů dědičné, avšak paroxyzmální noční hemoglobinurie je jedinou získanou anémií z této skupiny. (Guillaud, 2014) V tabulce 10 jsou vyjmenovány nejčastější typy anémií u jednotlivých skupin.

Tabulka 10: Typy vrozených korpuskulárních hemolytických anémií (Guillaud, 2014)

| Defekt v membráně erytrocytů | Defekt v enzymech erytrocytů | Abnormální struktura hemoglobinu (hemoglobinopatie) |
|--|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Hereditární sférocytóza • Hereditární eliptocytóza • Hereditární pyropoikilocytozá | <ul style="list-style-type: none"> • Deficit glukóza-6-fosfát dehydrogenázy • Deficit pyruvátkinázy | <ul style="list-style-type: none"> • Srpkovitá anémie • Alfa-talasémie • Beta-talasémie |

7.3.1.1 Hemolytické anémie z odchylky v membráně erytrocytů

7.3.1.1.1 Hereditární sférocytóza

Hereditární sférocytóza je nejčastější dědičnou skupinou hemolytických anémií, které vznikají v důsledku přítomnosti abnormální membrány erytrocytů. Přítomné erytrocyty nejsou schopny udržet svůj bikonkávní tvar vlivem mutací v genech kódujících membránové proteiny erytrocytů, které hrají roli ve strukturální morfologické stabilitě. Hlavním patogenním znakem je zvýšená permeabilita membrány krvinek pro sodík a také úbytek lipidů. (Wu, 2021)

Tuto anémii může vyvolat více molekulárních defektů ve struktuře membrány, avšak jedním společným rysem u této poruchy jsou oslabené vertikální vazby mezi membránovým skeletem a lipidovou dvojvrstvou s jejími integrálními proteiny. Vertikální vazby zahrnují interakce mezi *spektrinem*, *ankyrinem*, *proteinem 3* a *proteinem 4.2*, následně interakce mezi *spektrinem*, *proteinem 4.1* a *glykoforinem C* a v neposlední řadě interakce *Rh-komplexu* s *ankyrinem* a také další doposud nedefinované interakce lipidové dvojvrstvy s membránovým skeletem. V případě ohrožení těchto interakcí, dochází ke ztrátě soudržnosti mezi lipidovou dvojvrstvou a membránovým skeletem, což ve výsledku vede k destabilizaci dvojvrstvy a uvolnění lipidových vezikul. (Perrotta, 2008)

Defekty ve vazbě *spektrinu*, *ankyrinu* nebo *proteinu 4.2* snižují hustotu membránového skeletu, destabilizují lipidovou dvojvrstvu a uvolňují mikrovezikuly obsahující *protein 3*. V druhém případě dochází k defektu *proteinu 3*, který způsobuje jeho nedostatek a také dochází k narušení stabilizace lipidů, což ve výsledku způsobuje opětovnou ztrátu mikrovezikul z membrány. (Perrotta, 2008)

Obě tyto cesty vedou ke zmenšení plochy povrchu membrány, ke snížení poměru povrchu k objemu a také k tvorbě sférocytů. Vzniklé sférocyty jsou charakterizovány sníženou deformovatelností. V případě, že se takto změněné erythrocyty dostanou do sleziny, dochází k jejich selektivnímu zadržení a destrukci. Ve slezině abnormální erythrocyty podstupují další destrukci, která se projeví ztrátou povrchové plochy za vzniku mikrosférocytů, dochází také ke zvýšení hustoty buněk. Destrukce sférocytů je hlavní příčinou hemolýzy u pacientů s tímto onemocněním. (Perrotta, 2008)

Sférocyty jsou význačné svou abnormální iontovou permeabilitou, která způsobuje zvýšení přítoku sodíku do intracelulárního prostoru, což poté zvyšuje požadavky na ATP v důsledku zvyšující se aktivity natrium-kaliové pumpy. Zvyšující se aktivita Na^+/K^+ pumpy slouží ke kompenzaci vzestupu intracelulárního sodíku v krvi. (Zamora, 2022)

1. Klinické projevy

Klinické projevy hereditární sférocytózy se liší podle závažnosti onemocnění a typu genetické mutace, což znamená, že jednotlivé projevy hemolytické anémie mohou být zcela různorodé. Může se vyskytnout asymptomatický průběh až plně rozvinutý klinický obraz. Celkový stav jedince závisí na schopnosti kostní dřeně kompenzovat hemolýzu a také na erytropoéze. (Fábryová, 2010)

Klinickými příznaky bývají bledost v důsledku anémií, ikterus způsobený hyperbilirubinemií. Bývají také přítomné žlučové kameny a také splenomegalie. Hereditární sférocytóza může být odhalena v raném dětství nebo až v dospělosti například při současně probíhajícím infektu. Pouze desetina případů hereditární sférocytózy je charakterizována těžkým průběhem. U recesivní formy této anémie je možné nalézt nenápadné klinické projevy a jejich záchyt je zcela nahodilý. (Da Costa, 2013)

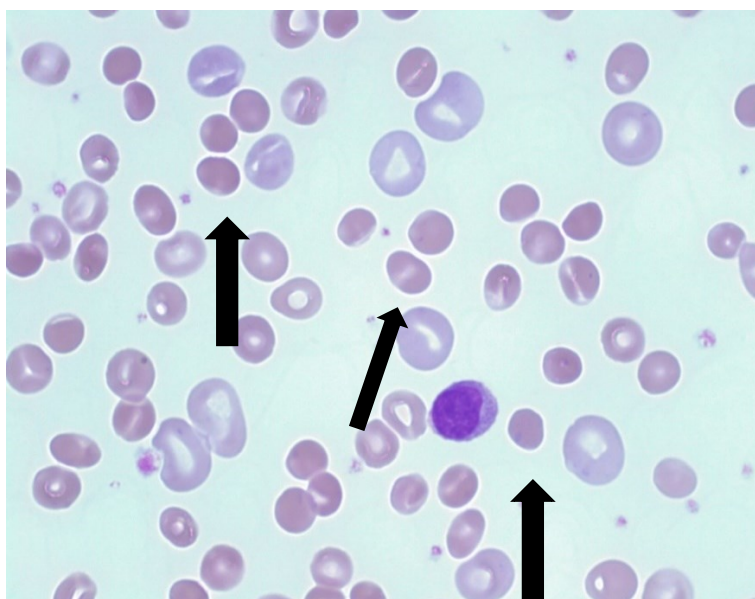
U novorozenců je nejdůležitějším příznakem ikterus, jelikož splenomegalie často chybí. Některé případy mohou vyžadovat exsanguinanci, aby se zabránilo jadernému ikteru, ovšem ve většině případů postačí fototerapie k odstranění nadbytečného bilirubinu. U novorozenců je však důležité vyloučit ikterus způsobený AB0 inkompatibilitou. (Da Costa, 2013)

2. Diagnostika

Při diagnostice hereditární sférocytózy vzniká problém, jelikož se obdobné klinické projevy mohou vyskytovat i u dalších typů anémií, jako jsou talasémie a autoimunitní hemolytické anémie. (Wu, 2021)

Diagnostika této anémie by měla zahrnovat vyšetření kompletního krevního obrazu, vyšetření počtu retikulocytů, vyšetření hladiny bilirubinu v krvi a také provedení testu osmotické fragility erytrocytů. Rodinná anamnéza bývá také velmi užitečná k potvrzení diagnózy. V rámci laboratorního vyšetření je důležité provedení krevního nátěru. (Zamora, 2022; Da Costa, 2013)

Těžká anémie je diagnostikována u pacientů s hemoglobinem nižším než 80 g/l. O středně těžkém stavu lze hovořit při hladině hemoglobinu od 80 g/l do 100 g/l. Mírný stupeň je definován u žen při hladině hemoglobinu od 100 g/l do 115 g/l a u mužů od 100 g/l do 135 g/l. V laboratorním vyšetření je nalézána zvýšená hodnota MCHC, mírná nebo snížená hodnota MCV a zvýšená osmotická fragilita krvinek. V krevním nátěru je nalezena charakteristická sférocytóza. Je však důležité, aby byl nátěr kvalitní. Bývají přítomné i akantocyty spolu s poikilocytózou a anizocytózou krvinek. (Fábryová, 2010; Zamora, 2022) Obrázek číslo 11 znázorňuje nátěr periferní krve s přítomnou hereditární sférocytózou. Tento nátěr prokazuje výraznou sférocytózou s polychromázií.



Obrázek 11: Nátěr periferní krve u hereditární sférocytózy (Villatoro, 2019)

K diagnostice hereditární sférocytózy je možné využít metodu průtokové cytometrie. Ta je v dnešní době doporučována, a nebo se provádí erytrokinetika s radioaktivním chromem ^{51}Cr . (Fábryová, 2010; Farias, 2017)

3. Léčba

Léčba mírné až středně těžké anémie začíná už po narození. Hladina hemoglobinu je po narození často fyziologická, ale rychle po narození klesá. V novorozeneckém období je nutná léčba středně těžkých až těžkých forem této choroby suplementací folátů v dávce 2,5 mg/D ke zvládnutí nutričních požadavků stresové erythropoézy. Léčba rekombinantním erythropoetinem se po předchozí studii ukázala jako prospěšná pro většinu kojenců s hereditární sférocytózou, jelikož vedla ke zvýšení hladiny hemoglobinu a také k možnému snížení potřeby transfuzí erytrocytů. Použití rekombinantního EPO je však stále diskutabilní a k ověření jeho účinnosti je zapotřebí velkého množství klinických studií. (Perrotta, 2008; Da Costa, 2013)

U pediatrické populace je hladina hemoglobinu udržována nad 70–80 g/l. V případě jeho poklesu pod netolerovatelnou úroveň je nutná transfuze červených krvinek odpovídající antigenům v systémech Rh a Kell. U novorozenců neexistuje jasná hranice hemoglobinu, která by značila nutnost transfuze erytrocytů. Rozhodující je pouze schopnost tolerance anémie. Děti s těžkou formou hereditární sférocytózy musí být pečlivě sledovány během propuknutí jakékoliv virové infekce. (Zamora, 2022; Da Costa, 2013)

Splenektomie do značné míry zlepšuje klinické projevy u většiny pacientů, jelikož slezina je místem, kde dochází k destrukci erytrocytů. Avšak neměla by být prováděna pouze na základě diagnózy hereditární sférocytózy, ale na základě závažnosti anémie. (Zamora, 2022; Da Costa, 2013)

Splenektomie eliminuje anémii, hyperbilirubinémii a redukuje počet retikulocytů skoro k normálu. Odstranění sleziny je indikováno u těžké HS s významnou anémií a komplikacemi žlučových kamenů. U střední formy by měla být splenektomie indikována až v případě významného vlivu anémie na kvalitu života. (Perrotta, 2008; Da Costa, 2013)

U pacientů s těžkým průběhem odstranění sleziny onemocnění zcela nevyлéčí, ale dochází k markantnímu zlepšení klinických projevů. V každém případě by se o splenektomii mělo uvažovat až od 6–9 let věku dítěte, jelikož vznik postsplenektomické infekce je v kojeneckém věku a raném dětství velmi vysoké. Také by před provedením měla být pečlivě zhodnocena rizika a přínosy zákroku. (Perrotta, 2008)

Mezi časté komplikace splenektomie je možno zařadit lokální infekce, krvácení a pankreatitidu. Závažnou dlouhodobou komplikací jsou poté postsplenektomické infekce způsobené opouzdřenými bakteriemi, většinou *Streptococcus pneumoniae*. (Perrotta, 2008)

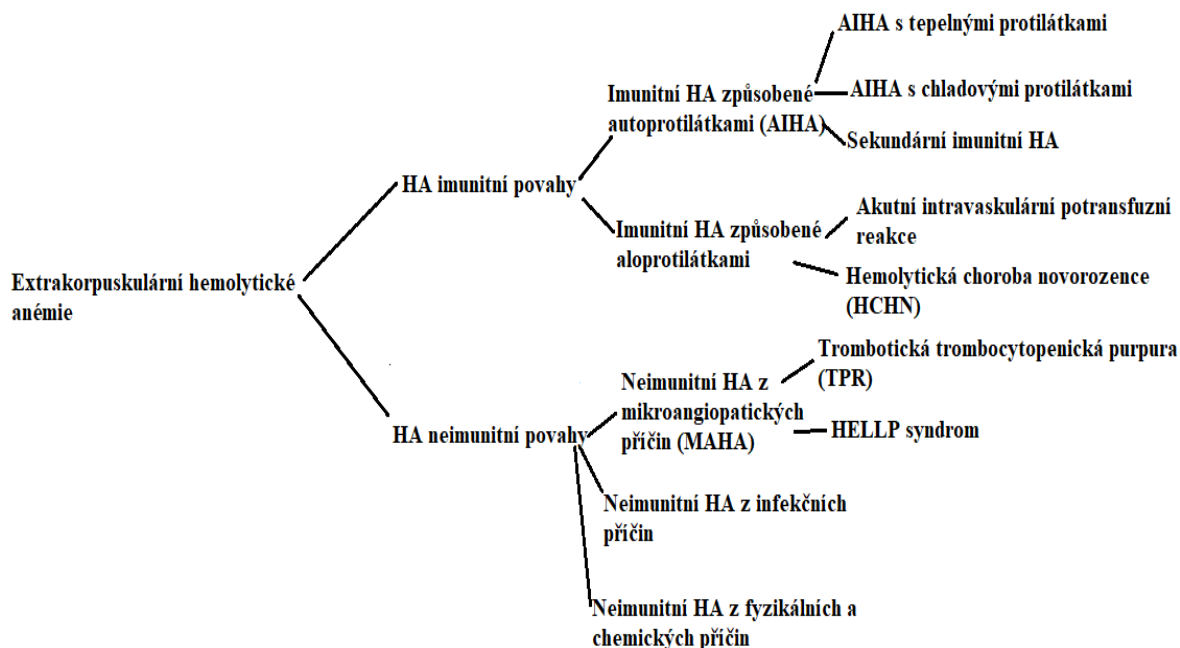
V některých případech je možné pouze částečné odstranění sleziny místo totální splenektomie, tak aby se snížilo riziko infekce, snížila se anémie, retikulocytóza a hyperbilirubinémie. (Da Costa, 2013)

7.3.1.2 Hemolytické anémie z odchylky v molekule hemoglobinu

Do této skupiny hemolytických anémií se řadí kvalitativní a kvantitativní hemoglobinopatie. Srpkovitá anémie je skupinou kvalitativních hemoglobinopatií, zatímco alfa a beta talasémie se řadí do skupiny kvantitativních hemoglobinopatií. Obě tyto skupiny jsou již popsány výše, jelikož se jedná také o anémie z poruchy syntézy hemu. (Indrák, 2018)

7.3.2 Extrakorpulární hemolytické anémie (získané)

Hlavní charakteristikou těchto hemolytických anémií je zkrácené přežívání a hemolýza erytrocytů vlivem vnějších faktorů. Vyvolávajícími faktory jsou ve většině případů složky, které mají povahu imunitní nebo neimunitní. (Fábryová, 2010) Na obrázku 12 lze vidět rozdělení extrakorpulárních hemolytických anémií.



Obrázek 12: Schéma rozdělení extrakorpulárních hemolytických anémií

IHA je možno klasifikovat jako autoimunitní (AIHA), aloimunitní a sekundární. AIHA je význačná produkcí protilátek namířených proti vlastním krvinkám. Autoprotilátky také často vykazují reaktivitu proti alogenním erytrocytům. Aloimunitní hemolytická anémie vyžaduje expozici alogenních erytrocytů a výsledné aloprotilátky nevykazují jakoukoliv reaktivitu namířenou na autologní krvinky. (Gehrs, 2002)

7.3.2.1 Autoimunitní hemolytické anémie

Tato imunitní hemolytická anémie je získaná heterogenní autoimunitní porucha, která je charakterizovaná tvorbou autoprotilátek namířených proti některým membránovým antigenům erytrocytů. Jedná se převážně o protilátky třídy IgG a IgM. Tyto autoprotilátky poté způsobují zvýšenou destrukci autologních erytrocytů s nebo bez zapojení komplementu. Mezi další patogenní mechanismy je možné zařadit hyperaktivaci efektorů buněčné imunity, dysregulaci cytokinů a neúčinnou kompenzaci kostní dřeně. V závislosti na typu a koncentraci autoprotilátek může dojít k extravaskulární hemolýze ve slezině a játrech anebo také k intravaskulární hemolýze. (Haley, 2017; Barcellini, 2020)

Principy hemolýzy

Při **vazbě protilátky třídy IgG na antigen** přítomný na povrchu erytrocytu může dojít k přímé vazbě protilátky s receptorem pro Fc γ na povrchu makrofágů a ty poté způsobují fagocytózu erytrocytů ve slezině. (Čermák, 2018)

Naopak při **vazbě antigenu s protilátkou třídy IgG** dochází k fixaci C1q složky komplementu a k aktivaci C1-C3b složek komplementu. Při vysoké koncentraci protilátek nebo vysoké afinitě může aktivace komplementu probíhat až k vytvoření komplexu atakujícího membránu (C5b9), což poté vede k intravaskulární hemolýze. Pokud je však koncentrace protilátek nízká a vazba není pevná, dojde k převaze inhibičních mechanismů komplementu a konverzi C3b složky komplementu na C3d. C3b opsonizované erytrocyty jsou poté fagocytovány jaterními makrofágy nesoucí na svém povrchu C3 receptory. Dochází k extravaskulární hemolýze. IgG zprostředkovaná hemolýza je ve většině případů extravaskulárního typu. (Čermák, 2018; Voulgaridou, 2021)

Autoprotilátky třídy IgM jsou pentamery s vysokou aviditou, proto je aktivace komplementu snazší než u IgG. Tento typ protilátek dokáže vázat a aktivovat všechny složky komplementového systému. Mají také schopnost aktivovat kaskádu komplementu až do konečného lytického komplexu (C5-C9). Tento komplex určuje intravaskulární hemolýzu prostřednictvím aktivace perforinů a dalších cytotoxických faktorů. Slezina je hlavním místem extravaskulární hemolýzy, co se týče protilátek třídy IgG. Zatímco Kupfferovy buňky v játrech jsou hlavním činitelem extravaskulární hemolýzy spojené s IgM. (Gehrs, 2002; Barcellini, 2020; Voulgaridou, 2021)

V závislosti na přítomnosti rozpoznané základní příčiny je možné tento typ anémie klasifikovat jako primární (idiopatickou) nebo jako sekundární. Sekundární typ této anémie je

spojen s lymfoproliferativním, autoimunitním a infekčním onemocněním, s imunodeficiencí, se solidními nádory, s transplantací a léky. (Barcellini, 2020)

Tento typ hemolytické anémie lze klasifikovat podle vlastností protilátek do čtyř skupin:

- autoimunitní hemolytická anémie s tepelnými protilátkami, které se řadí do třídy IgG (optimální účinnost při 37 °C),
- autoimunitní hemolytická anémie s chladovými protilátkami, které jsou třídy IgM (optimální aktivita při ledničkové teplotě),
- autoimunitní hemolytická anémie se smíšeným typem protilátek, které se při ochlazení navážou na červené krvinky a po oteplení u jedince vyvolají náhlou hemolýzu až hemoglobinurii,
- paroxysmální chladová hemoglobinurie. (Fábryová, 2010)

Nejběžnější skupinou autoimunitních hemolytických anémií jsou **AIHA s tepelnými protilátkami**. Ty jsou zprostředkovány autoprotiilátkami třídy IgG, které se vážou na membránové antigeny autologních krvinek při 37 °C a způsobují jejich destrukci. IgA a monomerní IgM jsou detekovány pouze ve vzácných případech. U této formy anémie dochází k tvorbě autoprotiilátek proti antigenům Rh systému, zřídka proti antigenům systému Kell, Kidd, Lutheran, Duffy a další. (Fábryová, 2010; Voulgaridou, 2021; Liebman, 2017)

AIHA s chladovými protilátkami je spojena s vývojem autoprotiilátek třídy IgM, které způsobují aglutinaci krvinek při nízkých teplotách (0–4 °C). IgM senzibilizované erytrocyty jsou obecně spojovány s oběma typy hemolýz, avšak častěji podléhají extravaskulární hemolýze. Autoprotiilátky bývají specifikace anti-Pr, anti-Gd, anti-M. (Fábryová, 2010; Gehrs, 2002; Berentsen, 2020)

Protilátky třídy IgM jsou účinným aktivátorem komplementu. Po chladem indukované vazbě protilátek na povrch erytrocytu, během průchodu akraálními částmi oběhu, dochází k fixaci komplementové složky C1q a tím k aktivaci klasické cesty komplementu. Generalizace C3 konvertázy způsobuje tvorbu C3a, tedy rozpustného anafylatoxinu a také tvorbu C3b složky komplementu. Po zahřátí na teplotu 37 °C dochází v centrální cirkulaci k fagocytóze C3b opsonizovaných erytrocytů mononukleárním fagocytárním systémem, a to převážně v játrech, jedná se o extravaskulární hemolýzu. (Berentsen, 2020)

Aktivace komplementu však může dále pokračovat k tvorbě C5 konvertázy. Tento enzym iniciuje kaskádu terminálního komplementu štěpením C5 na C5a a C5b složky

komplementu. C5b je schopen vázat složky C6, C7, C8 a C9, což poté způsobuje tvorbu komplexu membránového útoku (MAC) a také intravaskulární hemolýzu. (Berentsen, 2020)

Paroxysmální chladová hemoglobinurie (PCH) je vzácná autoimunitní hemolytická anémie, která se projevuje intravaskulární hemolýzou a hemoglobinurií. PCH je způsobeno Donath-Landsteinerovými IgG protilátkami. Tyto protilátky jsou namířeny proti P antigenům erytrocytů. Při nízkých teplotách dochází k vazbě protilátky s antigenem na povrchu erytrocytu, přičemž je zahájena fixace časných složek komplementu C1, C4 a C2. Zatímco při teplotách 37 °C probíhá aktivace klasické dráhy komplementu se štěpením C3 složky komplementu na C3a a C3b složky. Tento krok následně spouští aktivaci terminální komplementové dráhy. Aktivace této dráhy má za následek tvorbu komplexu atakujícího membránu a fulminantní intravaskulární hemolýzu. (Lau-Braunhut, 2019)

Tento typ anémie se nyní nejčastěji vyskytuje u dětí po virové infekci. Ve většině případů se jedná o přechodnou imunitně zprostředkovanou hemolýzu, která je pozorována 1 až 3 týdny po prodělaném virovém onemocnění. V 70 % případů se PCH objevuje po infekci horních cest dýchacích. Dalšími vyvolávajícími faktory jsou gastrointestinální onemocnění, očkování, hematopoetické malignity a autoimunitní poruchy. (Lau-Braunhut, 2019)

1. Klinické příznaky

Pacienti s AIHA mohou mít velmi různorodý klinický obraz. Běžným nálezem bývá únava, slabost, dušnost při námaze, palpitace a závratě. Jedinci mohou trpět splenomegalií, hepatomegalií a adenopatií. Splenomegalie bývá přítomná asi v polovině případů a hepatomegalie u 1/3. Bývá přítomná také fulminantní hemolýza projevující se bledostí, hepatitidou a vylučováním tmavě zbarvené moči. V případě výskytu sekundární formy tohoto onemocnění je třeba vždy uvažovat o specifických známkách a symptomech primárního onemocnění. (Barcellini, 2020; Liebman, 2017)

Klinický obraz může být komplikován závažnými infekcemi, a to zejména po splenektomii. Zhruba 10–15 % případů má závažný klinický obraz, zejména je-li přítomná současná trombocytopenie se souvisejícím krvácením (Evansův syndrom). (Barcellini, 2020)

Pacienti s primárním, ale převážně sekundárním typem AIHA mohou trpět úbytkem hmotnosti, bolestmi kloubů, bolestmi břicha, bolestmi na hrudi s kašlem nebo bez kašle. U těžkých forem tohoto onemocnění, v nichž dominuje intravaskulární hemolýza, jsou pozorovány trombotické komplikace. Převážně se jedná o žilní tromboembolické komplikace

(plicní embolie, diseminovaná intravaskulární koagulace), ale mohou se objevit také arteriální (infarkt myokardu, cévní mozková příhoda). (Liebman, 2017)

Vedoucím klinickým příznakem u AIHA s chladovými protilátkami je akrocyanóza při ochlazení (cyanotické zbarvení nosu, uší, prstů). U paroxysmální chladové hemoglobinurie je charakteristická přítomnost zimnice, horečky, křečí, bolesti dolní části zad a břicha. (Barcellini, 2020)

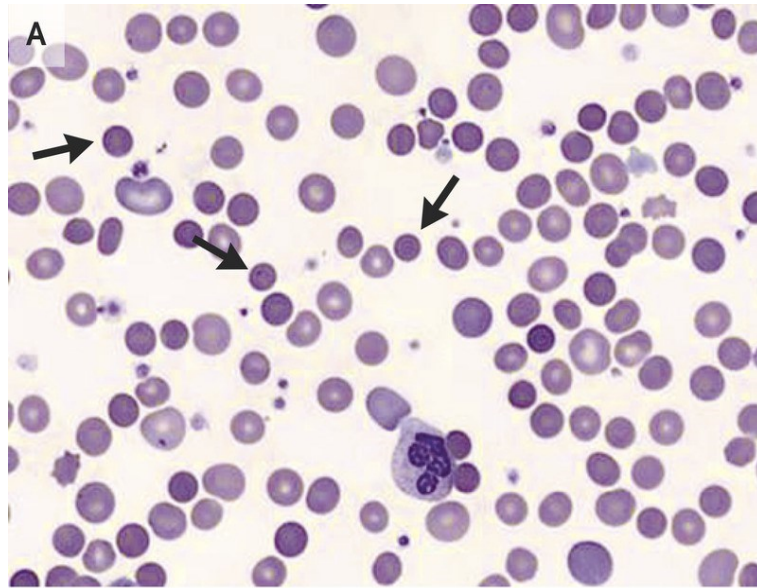
2. Diagnostika

Počáteční testy mají za cíl vyhodnotit přítomnost hemolýzy a také stupeň anémie. V prvním kroku je nutné vyšetření celkového krevního obrazu s DIFFem, počet retikulocytů, provedení krevního nátěru. Nezbytné je také vyšetření celkového a nekonjugovaného bilirubinu, hladiny LDH a haptoglobinu. (Voulgaridou, 2021)

Laboratorní vyšetření obvykle odhalí proměnnou hladinu hemoglobinu a hematokritu v závislosti na stupni přítomné hemolýzy a kompenzaci kostní dřeně. V důsledku zvýšeného počtu retikulocytů může být hodnota MCV zvýšená. Přítomnost retikulocytózy během těžké formy anémie je ve skutečnosti dobrým prognostickým indexem. Zatímco retikulocytopenie může představovat nutnost lékařské péče, jelikož je vyžadováno velké množství transfuze. Lze pozorovat mírnou leukocytózu a ve vzácných případech neutropenii. V některých případech může být také přítomna závažná trombocytopenie jako aspekt Evanova syndromu. (Barcellini, 2020; Liebman, 2017)

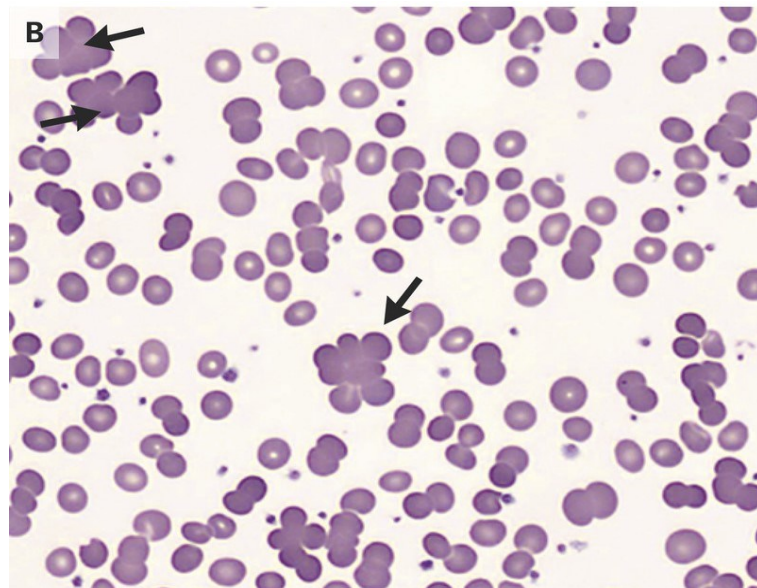
Zvýšené hodnoty celkového a nekonjugovaného bilirubinu spolu se zvýšením sérové LDH jsou dalším důkazem probíhající hemolýzy. Haptoglobin bývá významně snížen až na hodnoty menší než 0,25 g/l u 85 % pacientů s touto anémií. Avšak zvýšené hodnoty bilirubinu spolu se sérovou LDH a nízké koncentrace haptoglobinu nepotvrzují definitivně diagnózu autoimunitní hemolytické anémie. Provedení vyšetření krevního nátěru, stanovení počtu retikulocytů je zásadní pro stanovení správné diagnózy. (Liebman, 2017)

V krevním nátěru periferní krve je obvykle nalézána středně závažná poikilocytóza a anizocytóza, polychromázie. V případě přítomnosti tepelných protilátek bývá v nátěru přítomen různý počet sférocytů. V některých momentech je možné v nátěru vidět erythrocyty s jádrem a vzácně erytrofagocytózu způsobenou makrofágy a neutrofily. (Liebman, 2017) Obrázek 13 znázorňuje přítomnost mikrosférocytů. Tyto buňky bývají viděny právě při AIHA s tepelnými protilátkami.



Obrázek 13: Periferní nátěr krve s přítomnými mikrosférocyty (Solomon, 2019)

Obrázek 14 ukazuje aglutinaci erytrocytů ve vzorku pacienta, který trpí autoimunitní hemolytickou anémií s chladovými protilátkami.



Obrázek 14: Aglutinace erytrocytů u AIHA s chladovými protilátkami (Solomon, 2019)

Pro potvrzení diagnózy AIHA je zásadní provedení sérologického průkazu erytrocytárních autoprotilátek. Stanovení přítomnosti autoprotilátek navázaných na membráně erytrocytů pacienta se provádí pomocí přímého antiglobulinového testu – přímý Coombsův test (DAT). V případě pozitivní reakce došlo k navázání IgG, komplementu C3b nebo obou na erytrocyty daného pacienta. Dále je možná identifikace antigeny, na které autoprotilátky cílí, provedením eluce protilátky z erytrocytů a testování těchto protilátek proti panelům kontrolních

erytrocytů. Sérum pacienta je také možné testovat na nenávané autoprotilátky proti kontrolním erytrocytům. Jedná se o nepřímý Coombsův test (nepřímý antiglobulinový test). Přítomnost samostatné C3b složky komplementu po provedení DAT může naznačovat hemolýzu způsobenou chladovými aglutininy nebo Donath-Landsteinerovým IgG. Výsledky DAT musí být hodnoceny v kombinaci s klinickým nálezem a výsledky dalších laboratorních studií, aby se definitivně potvrdila diagnóza u daného pacienta. (Liebman, 2017)

3. Léčba AIHA

a) Autoimunitní hemolytická anémie s tepelnými protilátkami

V první linii terapie se využívá léčba pomocí *kortikosteroidů*. Dávka a způsob podání závisí na počáteční hladině hemoglobinu. U pacientů s lehčí formou této anémie je léčba zahájena podáváním perorálního *prednisonu* v dávkách 1–1,5 mg/kg/den. Užíváním této dávky po dobu 3–4 týdnů je možné zvýšit hladinu hemoglobinu a kontrolovat hemolýzu v 70–85 % případů. U pacientů s velmi těžkou anémií a rychlou hemolýzou by měl být indikován intravenózní *methylprednisol* v dávce 100–200 mg/den po dobu 10–14 dnů nebo v dávce 250–1000 mg/den po dobu 3–5 dnů, a to buď samostatně nebo v kombinaci s intravenózními imunoglobuliny (I.v.) nebo plazmaferézou při vysokém titru volných cirkulujících protilátek. I.v. imunoglobuliny se podávají po dobu 3–5 dnů v dávce 0,5 g/kg. Při dosažení hodnoty hemoglobinu >100 g/l lze hodnotit léčbu jako efektivní. Dávky kortikosteroidů by měly být postupně snižovány a vysazeny po dobu přibližně 4–6 měsíců. Pacienti by však měli být pravidelně pozorováni, jelikož pouze 1/3 pacientů zůstává v dlouhodobé klinické remisi. U poloviny pacientů je nutné podávání kortikosteroidů v dlouhodobě udržovací dávce. U 20–30 % nemocných je potřeba indikace léků v kombinaci s jinými imunosupresivy. (Barcellini, 2020; Čermák, 2018)

Pacienti, kteří nereagují na léčbu první linie, nebo u pacientů s časnou recidivou je nutná léčba druhé linie, stejně jako i pacientů, kteří vyžadují nepřijatelně vysoké dávky prednisonu. (Čermák, 2018)

Rituximab patří k nejnovějším a slibným terapeutickým možnostem druhé linie léčby. Tento lék je indikován při selhání první linie léčby zejména u nemocných, u nichž není indikována splenektomie. Pacientům je podáván rituximab v dávkách 375 mg/m², ve 4 dávkách v týdenních intervalech. Prediktorem správné odpovědi na léčbu je nižší věk, kratší interval mezi diagnózou a terapií a také včasné podání léků. V poslední době je indikováno podávání nízkých dávek rituximabu (100 mg/m² 4× týdně), jako první linie léčby v kombinaci

s kortikosteroidy. Efekt této varianty byl pozorován u 90 % nemocných jedinců. (Barcellini, 2020; Čermák, 2018)

Splenektomie je považována za nejúčinnější terapii druhé linie léčby, která je indikována u pacientů mladších 65 let s dobrým klinickým stavem a také u žen ve fertlím věku. Odpověď na tento zákrok je pozorována asi u 65 % nemocných a u 20 % pacientů dochází zcela k vyléčení. Nyní je preferováno provádění laparoskopické splenektomie z důvodu menšího počtu komplikací, kratší doby hospitalizace a menšího traumatu. Nevýhodou splenektomie jsou chirurgické komplikace, a především infekční a trombotické komplikace. Před provedením zákroku je doporučeno provedení imunizace nejlépe 6 týdnů předem. Po splenektomii je doporučována antibiotická léčba po dobu tří let, každoroční očkování proti chřipce a přeočkování proti pneumokokům a meningokokům každých pět let, a také podávání tromboprolaxe nízkomolekulárním heparinem alespoň na pooperační období. V případě selhání splenektomie je poté možnost léčby nižšími dávkami kortikosteroidů (15 mg/den), než je potřebné v první linii léčby. (Barcellini, 2020; Čermák, 2018)

Azathioprin, cyklosporin a cyklofosfamid jsou konvenční imunosupresiva používaná jako léčba třetí linie kvůli nedostatečným údajům o účinnosti a vysokému riziku nežádoucích účinků. Cyklofosfamid je podává v dávce 100 mg/den, azathioprin je užíván v dávce 2–3 mg/kg/den a cyklosporin A je podáván v počáteční dávce 3 mg/kg/den a poté je dávka upravena podle plazmatické hladiny pacienta. Vysoké dávky cyklofosfamidu a alemtumabu prokázaly účinnost 60–80 %. V několika málo případech se využívají v tzv. záchranné léčbě u rezistentních forem. Podávání mykofenolát mofetilu a danazolu je další možností terapie. (Barcellini, 2020; Čermák, 2018)

b) Léčba AIHA s chladovými protilátkami

Nefarmakologická léčba je primárně založena na ochraně exponovaných částí těla před chladem, vyhýbání se studeným pokrmům, nápojům. U méně závažných forem této anémie jsou tato opatření dostačující pro kontrolu anémie. Pokud je indikována transfuze, je nutné udržování pacienta v teple a je také doporučováno používání in-line ohřívače krevní konzervy. (Barcellini, 2020; Berentsen, 2020)

Farmakologická léčba je indikována zhruba u poloviny pacientů, kteří vykazují příznaky choroby. Na rozdíl od AIHA s tepelnými protilátkami je léčba kortikosteroidy a dalšími nescifickými imunosupresivy obecně neúčinná. Dnes je tato anémie léčena časným podáváním *rituximabu* v monoterapii. Kombinovaná léčba *rituximabem* a *fludarabinem*

perorálně v dávkách 40 mg/m² v 1–5 dnech vedla k setrvalé remisi a k vyššímu počtu pozitivních odpovědí, avšak hematologická toxicita a infekční komplikace bývají běžné. Kombinovaná léčba *rituximabem* a *bendamustinem* je nyní doporučována jako první volba u pacientů, kteří jsou závažně postiženi touto anémií. Tato kombinace přinesla pozitivní odpověď u 71 % nemocných a také dlouhotrvající remisi. (Barcellini, 2020; Berentsen, 2020)

Splenektomie je v tomto případě neefektivní, protože erytrocyty s navázaným komplexem C3-IgM jsou přednostně vychytávány jaterními makrofágy. (Čermák, 2018)

c) Léčba paroxysmální chladové hemoglobinurie

PCH se často projevuje těžkou a rychle progredující anémií, která může být život ohrožující. Léčba je primárně podpůrná s udržováním teplých okolních teplot tak, aby se zabránilo dalšímu vázání autoprotilátek na erytrocyty. Pacienti s těžkou formou anémie mohou vyžadovat transfuzi, kterou je při podávání nutné zahřívát. Refrakterní a recidivující forma PCH byla v některých případech úspěšně léčena *rituximabem* nebo *IV IgG*. Používání *eculizumabu* představuje potenciální terapeutickou účinnost, vzhledem k jeho účinku, jelikož je schopen blokovat terminální dráhu komplementu. Ve snaze zaměřit se na intravaskulární a extravaskulární hemolýzu, které jsou zprostředkované komplementem, byly vyvinuty nové inhibitory komplementu jako jsou *sutimlimab* a *pegcetacoplan*. Tyto léky vykazují časný důkaz úspěšné blokády komplementu, zrušení hemolýzy a příznivé profily vedlejších účinků. (Lau-Braunhut, 2019)

ZÁVĚR

V rámci studie bylo zjištěno, že sideropenická anémie bývá léčena buď orální suplementací soli železa, nebo lze indikovat parenterální terapii. V případě perorální léčby je pacientům podáván například síran železnatý, fumarát a glukonát, avšak existují i další léky jako je maltofer, taylorferon, aktiferin. Obvyklé dávkování elementárního železa je 120 mg železa denně po dobu tří měsíců. V případě indikace intravenózní formy terapie je těmto pacientům podáván glukonát železa, ferumoxytol, dextran železa anebo izomaltosid železa. V některých stavech je vyžadováno podávání krevních transfuzí.

Pacienti trpící nedeleční formou onemocněním HbH bývají léčeni stejnými terapeutickými postupy jako pacienti s beta talasémií major. Ke splenektomii bývá přistoupeno v případě masivní splenomegalie.

U průzkumu léčby beta talasémií bylo zjištěno, že léčba je založena na podávání krevních transfuzí, přičemž se jedná se o substituční léčbu. Avšak v rámci transfuzní terapie může u jedinců docházet k přetížení organismu železem, proto je nezbytná indikace chelatační terapie. V rámci chelatační terapie se pacientům podávají léčiva, jako je deferoxamin, deferipeon, defasirox. Splenektomie je prováděna v případě potřeby velkého počtu transfuzí nebo také při splenomegalii. Transplantace kostní dřeně je jedinou variantou, která vede k úplnému uzdravení jedince, avšak je doporučována jen u mladých pacientů. Hledání dalších možností terapie beta talasémií však stále pokračuje.

Bylo zjištěno, že pacienti se srpkovitou anémií jsou léčeni hydroxymočovinou nebo L-glutaminem, crizanlizumabem anebo také voxelotorem. Všechny tyto léky slouží k léčbě komplikací, které jsou se srpkovitou anémií spojeny. V dnešní době je jedinou možností, která vede ke korekci srpkovité anémie, provedení alogenní transplantace kostní dřeně. Výsledky těchto autologních transplantací poskytly důkaz, že v budoucnu bude možná genetická manipulace s poškozenými kmenovými buňkami kostní dřeně pacienta, čímž bude umožněna autologní transplantace kostní dřeně.

U hereditární sférocytózy bylo zjištěno, že terapie této anémie v pediatrické populaci je založena především na udržování hladiny hemoglobinu podáváním transfuzí. U těžké formy tohoto onemocnění bývá indikováno provedení splenektomie, avšak provedení tohoto zákroku nevede k úplnému uzdravení pacienta. U středně těžkých stavů se splenektomie provádí jen v případě významného vlivu anémie na kvalitu života.

Dále bylo zjištěno, že AIHA s tepelnými protilátkami je v první linii terapie léčena podáváním kortikosteroidů, buď se jedná o perorální prednison nebo o intravenózní methylprednison. V druhé linii terapie se využívá léčba pomocí rituximabu. Splenektomie je v tomto případě neúčinnější volbou terapie. Léky jako azathioprin, cyklosporin a cyklofosfamid jsou léky třetí linie. Ty však mají vysoké riziko nežádoucích účinků. Nefarmakologická terapie AIHA s chladovými protilátkami je založena především na ochraně exponovaných částí těla před chladem. V případě indikace farmakologické terapie, je pacientům podáván rituximab s fludarabinem nebo kombinace rituximabu s bendamustinem. Na závěr bylo zjištěno, že terapie pacientů s PCH je primárně podpůrná. Nemocní s těžkou formou PCH mohou vyžadovat indikaci krevní transfuze, tu je nutné při podávání zahřívat. V některých případech byla tato anémie léčena rituximabem. V rámci studie bylo zjištěno, že používání léku eculizumabu představuje potencionální terapeutickou účinnost.

Bakalářská práce se věnuje fyziologii erytrocytů, konkrétně popisu struktury a morfologie erytrocytů, poté popisu vývoje červených krvinek, popisu metabolismu, který v erytrocytech probíhá a v neposlední řadě popisu rozpadu krvinek. Vzhledem k náležitosti hemoglobinu v krvinkách, je v práci popsána jeho struktura, syntéza a také rozpad. Metabolismu železa je věnována také část práce. Změny morfologie erytrocytů jsou zde také uvedeny a náležitě popsány, avšak převážná část bakalářské práce je věnována anémiím a jejich léčbě.

BIBLIOGRAFIE

ADEWOYIN, A., O. ADEYEMI, N. DAVIES a A. OGBENNA, 2019. Erythrocyte Morphology and Its Disorders. *Erythrocyte* [online]. IntechOpen, 1 [cit. 2023-02-21]. ISBN 978-1-78984-209-8. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.86112

AHMED, M. H., M. S. GHATGE a M. K. SAFO, 2020. Hemoglobin: Structure, Function and Allostery. *Vertebrate and Invertebrate Respiratory Proteins, Lipoproteins and other Body Fluid Proteins* [online]. Cham: Springer International Publishing, **94**, 345-382 [cit. 2022-12-08]. Subcellular Biochemistry. ISBN 978-3-030-41768-0. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-030-41769-7_14

ALI M., R. A. E., R. A. ELAAL BACKEET a W. A. ELHAMEED ELSAAYED, 2016. Risk factors of differentiated thyroid cancer in Sohag, Egypt. *International Journal of Current Research in Medical Sciences* [online]. **3**(11), 27-34 [cit. 2023-02-25]. ISSN 24545716. Dostupné z: doi:10.22192/ijcrms.2016.02.10.003

ALI, S., S. MUMTAZ, H. SHAKIR, M. KHAN, H. M. TAHIR, S. MUMTAZ, T. A. MUGHAL, A. HASSAN, S. A. R. KAZMI, SADIA, M. IRFAN a M. A. KHAN, 2021. Current status of beta-thalassemia and its treatment strategies. *Molecular Genetics & Genomic Medicine*[online]. **9**(12), 124-2424 [cit. 2022-10-20]. ISSN 2324-9269. Dostupné z: doi:10.1002/mgg3.1788

ARIAS, C. a C. ARIAS, 2017. How do red blood cells know when to die?. *Royal Society Open Science* [online]. **4**(4), 1-3 [cit. 2022-04-29]. ISSN 2054-5703. Dostupné z: doi:10.1098/rsos.160850

BAHR, T. M., R. D. CHRISTENSEN, D. M. WARD, F. MENG, L. K. JACKSON, K. DOYLE, D. R. CHRISTENSEN, A. G. HARVEY a H. M. YAISH, 2019. Ferritin in serum and urine: A pilot study. *Blood Cells, Molecules, and Diseases* [online]. **76**, 59-62 [cit. 2022-12-08]. ISSN 10799796. Dostupné z: doi:10.1016/j.bcmed.2019.02.001

BAIN, B. J., 2017. Blood Cell Morphology in Health and Disease. In: BAIN, B., I. BATES a M. LAFFAN. *Dacie and Lewis Practical Haematology (Twelfth Edition)* [online]. 12th ed. London: Elsevier Health Sciences, s. 61-92 [cit. 2022-07-08]. ISBN 978-0-7020-6696-2. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780702066962000059>

BALLAS, S. K., 2002. Sickle Cell Anaemia. *Drugs* [online]. **62**(8), 1143-1172 [cit. 2022-10-20]. ISSN 0012-6667. Dostupné z: doi:10.2165/00003495-200262080-00003

- BANDARU, S. S., R. KILLEEN a V. GUPTA, 2022. *Poikilocytosis: StatPearls* [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing [cit. 2022-12-15]. 32965812. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562141/?report=classic>
- BARBALATO, L. a L. S. PILLARISSETTY, 2021. *Histology, Red Blood Cell: StatPearls* [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing [cit. 2022-12-04]. 30969524. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539702/#_NBK539702_pubdet_
- BARCELLINI, W., A. ZANINONI, J. GIANNOTTA a B. FATTIZZO, 2020. New Insights in Autoimmune Hemolytic Anemia: From Pathogenesis to Therapy. *Journal of Clinical Medicine* [online]. **9**(12) [cit. 2022-11-30]. ISSN 2077-0383. Dostupné z: doi:10.3390/jcm9123859
- BENEDIK, P. S. a S. K. HAMLIN, 2014. The Physiologic Role of Erythrocytes in Oxygen Delivery and Implications for Blood Storage. *Critical Care Nursing Clinics of North America* [online]. **26**(3), 325-335 [cit. 2022-12-04]. ISSN 08995885. Dostupné z: doi:10.1016/j.ccell.2014.04.002
- BERENTSEN, S., 2020. New Insights in the Pathogenesis and Therapy of Cold Agglutinin-Mediated Autoimmune Hemolytic Anemia. *Frontiers in Immunology* [online]. **11** [cit. 2022-11-30]. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2020.00590
- BHAGAVAN, N. a Ch-E. HA, 2015. Hemoglobin. In: *Essentials of Medical Biochemistry* [online]. 2nd ed. Elsevier, s. 489-509 [cit. 2022-07-17]. ISBN 9780124166875. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-416687-5.00026-9
- BHOSALE, M., A. CHANDANWALE, A. KINIKAR, D. SINGH a R. CHAUDHARY, 2015. Impact of splenectomy on quality of life of children with β -thalassemia. *International Journal of Medicine and Public Health* [online]. **5**(4) [cit. 2023-02-22]. ISSN 2230-8598. Dostupné z: doi:10.4103/2230-8598.165963
- BILLING, B. H. a M. BLACK, 1969. Bilirubin metabolism. *Gut* [online]. **10**(4), 250-254 [cit. 2023-02-21]. ISSN 0017-5749. Dostupné z: doi:10.1136/gut.10.4.250
- BOUGUILA, J., G. BESBES a H. KHOCHTALI, 2015. Skeletal facial deformity in patients with β thalassemia major: Report of one Tunisian case and a review of the literature. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology* [online]. **79**(11), 1955-1958 [cit. 2023-02-22]. ISSN 1872-8464. Dostupné z: doi:doi.org/10.1016/j.ijporl.2015.08.037

- BRAGHINI, C., F. COSTA, H. FEDOSYUK, R. NEADES, L. NOVIKOVA, M. PARKER, R. WINEFIELD a K. PETERSON, 2016. Original Research: Generation of non-deletional hereditary persistence of fetal hemoglobin β -globin locus yeast artificial chromosome transgenic mouse models. *Experimental Biology and Medicine* [online]. **241**(7), 697-705 [cit. 2022-10-20]. ISSN 1535-3702. Dostupné z: doi:10.1177/1535370216636724
- BRANDOW, A. a R. LIEM, 2022. Advances in the diagnosis and treatment of sickle cell disease. *Journal of Hematology & Oncology* [online]. **15**(1), 1-27 [cit. 2022-10-20]. ISSN 1756-8722. Dostupné z: doi:10.1186/s13045-022-01237-z
- BRAUNSTEIN M., E., 2022. Hematology and Oncology- Approach to the patient with anemia: Evaluation of Anemia. In: *MSD MANUAL Professional Version* [online]. Kenilworth: Merck Sharp & Dohme Corp., a subsidiary of Merck & Co. [cit. 2022-04-28]. Dostupné z: <https://www.msmanuals.com/professional/hematology-and-oncology/approach-to-the-patient-with-anemia/evaluation-of-anemia>
- BRETON-GORIUS, J. a F. REYES, 1976. *Ultrastructure of Human Bone Marrow Cell Maturation* [online]. Elsevier, 251-321 [cit. 2022-04-29]. International Review of Cytology. ISBN 9780123643469. Dostupné z: doi:10.1016/S0074-7696(08)60993-6
- BROWN, K. A., 1996. Erythrocyte Metabolism and Enzyme Defects. *Laboratory Medicine* [online]. **27**(5), 329-333 [cit. 2022-04-29]. ISSN 0007-5027. Dostupné z: doi:10.1093/labmed/27.5.329
- BUCHANAN, G., E. VICHINSKY, L. KRISHNAMURTI a S. SHENOY, 2010. Severe Sickle Cell Disease—Pathophysiology and Therapy. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* [online]. **16**(1), 64-67 [cit. 2022-10-20]. ISSN 10838791. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbmt.2009.10.001
- CAMASCHELLA, C., 2017. New insights into iron deficiency and iron deficiency anemia. *Blood Reviews* [online]. **31**(4), 225-233 [cit. 2022-07-16]. ISSN 0268960X. Dostupné z: doi:10.1016/j.blre.2017.02.004
- CAMASCHELLA, C., 2019. Iron deficiency. *Blood* [online]. **133**(1), 30-39 [cit. 2022-11-29]. ISSN 0006-4971. Dostupné z: doi:10.1182/blood-2018-05-815944
- CAPPELLINI, M. a I. MOTTA, 2017. New therapeutic targets in transfusion-dependent and -independent thalassemia. *Hematology* [online]. **2017**(1), 278-283 [cit. 2022-11-29]. ISSN 1520-4391. Dostupné z: doi:10.1182/asheducation-2017.1.278

- CAPPELLINI, M., K. MUSALLAM a A. TAHER, 2019. Iron deficiency anaemia revisited. *Journal of Internal Medicine* [online]. **287**(2), 153-170 [cit. 2022-07-16]. ISSN 0954-6820. Dostupné z: doi:10.1111/joim.13004
- CROSBY, W. H., 1952. The Pathogenesis of Spherocytes and Leptocytes (Target Cells). *Blood* [online]. **7**(2), 261-274 [cit. 2022-07-08]. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1182/blood.V7.2.261.261
- CRUMBIE, L., 2022. Hematopoiesis: Definition, embryology and cell lines. In: *KEN HUB* [online]. Leipzig: Kenhub GmbH, 07. července 2022 [cit. 2022-12-08]. Dostupné z: https://www.kenhub.com/en/library/anatomy/histology-of-hematopoiesis
- ČERMÁK, J. a M. PÍSAČKA, 2018. Autoimunitní hemolytická anémie. *Vnitřní lékařství* [online]. **64**(5), 514-519 [cit. 2022-11-30]. 30193520. Dostupné z: https://www.casopisvnitrnilekarstvi.cz/pdfs/vnl/2018/05/07.pdf
- DA COSTA, L., J. GALIMAND, O. FENNETEAU a N. MOHANDAS, 2013. Hereditary spherocytosis, elliptocytosis, and other red cell membrane disorders. *Blood Reviews* [online]. **27**(4), 167-178 [cit. 2022-11-29]. ISSN 0268960X. Dostupné z: doi:10.1016/j.blre.2013.04.003
- DE OLIVEIRA, S. a C. SALDANHA, 2010. An overview about erythrocyte membrane. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* [online]. **44**(1), 63-74 [cit. 2022-04-29]. ISSN 13860291. Dostupné z: doi:10.3233/CH-2010-1253
- DELOUGHERY, T. G., 2017. Iron Deficiency Anemia. *Medical Clinics of North America* [online]. **101**(2), 319-332 [cit. 2022-07-16]. ISSN 00257125. Dostupné z: doi:10.1016/j.mcna.2016.09.004
- DEMIRCI, S., N. UCHIDA a J. TISDALE, 2018. Gene therapy for sickle cell disease: An update. *Cytotherapy* [online]. **20**(7), 899-910 [cit. 2022-11-29]. ISSN 14653249. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcyt.2018.04.003
- DYBAS, J., M. J. BOKAMPER, K. M. MARZEC a P. J. MAK, 2020. Probing the structure-function relationship of hemoglobin in living human red blood cells. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* [online]. **239** [cit. 2022-12-08]. ISSN 13861425. Dostupné z: doi:10.1016/j.saa.2020.118530
- EL ARISS, A. B., M. YOUNES, J. MATAR a Z. BERJAOU, 2015. Prevalence of sickle cell trait in the southern suburbs of Beirut, Lebanon. *Mediterranean Journal of Hematology and*

Infectious Diseases [online]. **8** [cit. 2023-02-22]. ISSN 2035-3006. Dostupné z: doi:10.4084/mjhid.2016.015

ELLIDAG, H. Y., E. EREN a M. AKDAG, 2016. The relationship between serum ferritin levels and serum lipids and HDL function with respect to age and gender. *The Ukrainian Biochemical Journal* [online]. **88**(6), 76-86 [cit. 2022-12-08]. ISSN 24094943. Dostupné z: doi:10.15407/ubj88.06.076

FÁBRYOVÁ, V. a A. SAKALOVÁ, 2010. *Anémie: Diagnostika a liečna v praxi*. 1 st ed. Bratislava: Herba. ISBN 978-80-89171-76-7.

FARASHI, S. a C. HARTEVELD, 2018. Molecular basis of α -thalassemia. *Blood Cells, Molecules, and Diseases* [online]. **70**, 43-53 [cit. 2022-07-17]. ISSN 10799796. Dostupné z: doi:10.1016/j.bcmed.2017.09.004

FARIAS, M. G., 2017. Advances in laboratory diagnosis of hereditary spherocytosis. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* [online]. **55**(7) [cit. 2022-11-30]. ISSN 1437-4331. Dostupné z: doi:10.1515/cclm-2016-0738

FARID, Y., N. BOWMAN a P. LECAT, 2021. *Biochemistry, Hemoglobin Synthesis: StatPearls* [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing [cit. 2022-04-29]. 30725597. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536912/>

FRIED, W., 2009. Erythropoietin and erythropoiesis. *Experimental Hematology* [online]. **37**(9), 1007-1015 [cit. 2022-12-08]. ISSN 0301472X. Dostupné z: doi:10.1016/j.exphem.2009.05.010

GALANELLO, R. a R. ORIGA, 2010. Beta-thalassemia. *Orphanet Journal of Rare Diseases* [online]. **5**(1), 135-3535 [cit. 2022-10-20]. ISSN 1750-1172. Dostupné z: doi:10.1186/1750-1172-5-11

GEHRS, B. a R. FRIEDBERG, 2002. Autoimmune hemolytic anemia. *American Journal of Hematology* [online]. **69**(4), 258-271 [cit. 2022-11-30]. ISSN 0361-8609. Dostupné z: doi:10.1002/ajh.10062

GUILLAUD, C., V. LOUSTAU a M. MICHEL, 2014. Hemolytic anemia in adults: main causes and diagnostic procedures. *Expert Review of Hematology* [online]. **5**(2), 229-241 [cit. 2022-11-29]. ISSN 1747-4086. Dostupné z: doi:10.1586/ehm.12.3

- GUNAWARDENA, D., S. JAYAWEERA, G. MADHUBHASHINI, D. D. LOKUMARAKKALA a S. J. SENANAYAKE, 2017. Reliability of Parameters of Complete Blood Count With Different Storage Conditions. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* [online]. **31**(2) [cit. 2022-12-12]. ISSN 08878013. Dostupné z: doi:10.1002/jcla.22042
- HALEY, K., 2017. Congenital Hemolytic Anemia. *Medical Clinics of North America* [online]. **101**(2), 361-374 [cit. 2022-11-29]. ISSN 00257125. Dostupné z: doi:10.1016/j.mcna.2016.09.008
- HARDANG, I., K. LILLEHOLT a T.A. HAGVE, 2017. Anemi ved kronisk sykdom. *Tidsskrift for Den norske legeforening* [online]. **137**(17) [cit. 2022-07-16]. ISSN 0029-2001. Dostupné z: doi:10.4045/tidsskr.16.1128
- HARTEVELD, C. L a D. R. HIGGS, 2010. α -thalassaemia. *Orphanet Journal of Rare Diseases* [online]. **5**(1) [cit. 2023-02-22]. ISSN 1750-1172. Dostupné z: doi:10.1186/1750-1172-5-13
- HERMAN, T. a M. U. JAVAID, 2022. *Heinz Body: StatPearls* [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing [cit. 2022-12-15]. 31869086. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551622/>
- CHOUDHRY, V. P., 2017. Thalassaemia Minor and Major: Current Management. *The Indian Journal of Pediatrics* [online]. **84**(8), 607-611 [cit. 2022-10-20]. ISSN 0019-5456. Dostupné z: doi:10.1007/s12098-017-2325-1
- INDRÁK, K., M. DIVOKÁ, D. POSPÍŠILOVÁ, J. ČERMÁK, M. BELIČKOVÁ, M. HORVÁTHOVÁ a V. DIVOKÝ, 2018. Hemoglobinopathies. *Vnitřní lékařství* [online]. **64**(5), 476-487 [cit. 2022-10-24]. ISSN 0042773X. Dostupné z: doi:10.36290/vnl.2018.068
- JAMWAL, M., P. SHARMA a R. DAS, 2020. Laboratory Approach to Hemolytic Anemia. *The Indian Journal of Pediatrics* [online]. **87**(1), 66-74 [cit. 2022-11-29]. ISSN 0019-5456. Dostupné z: doi:10.1007/s12098-019-03119-8
- KARIMI, M., N. COHAN, V. DE SANCTIS, N. MALLAT a A. TAHER, 2014. Guidelines for Diagnosis and Management of Beta-Thalassaemia Intermedia. *Pediatric Hematology and Oncology* [online]. **31**(7), 583-596 [cit. 2022-10-20]. ISSN 0888-0018. Dostupné z: doi:10.3109/08880018.2014.937884
- KAUSHANSKY, K., M. LICHTMAN, J. PRCHAL, M. LEVI, O. PRESS, L. BURNS a M. CALIGIURI, 2016. *Williams Hematology* [online]. 2016. New York, NY: McGraw-Hill

Education [cit. 2022-04-02]. ISBN 978-0-07-183300-4. Dostupné z: [file:///C:/Users/Silvi/Downloads/Williams%20Hematology%20\(%20PDFDrive%20\).pdf](file:///C:/Users/Silvi/Downloads/Williams%20Hematology%20(%20PDFDrive%20).pdf)

KAZDA, A., 2012. *Kritické stavy: metabolická a laboratorní problematika*. 1st ed. Praha: Galén. ISBN 978-807-2627-639.

KERNAN, K. F. a J. A. CARCILLO, 2017. Hyperferritinemia and inflammation. *International Immunology* [online]. **29**(9), 401-409 [cit. 2022-12-08]. ISSN 0953-8178. Dostupné z: [doi:10.1093/intimm/dxx031](https://doi.org/10.1093/intimm/dxx031)

KING, A. a D. HIGGS, 2018. Potential new approaches to the management of the Hb Bart's hydrops fetalis syndrome: the most severe form of α -thalassemia. *Hematology* [online]. **2018**(1), 353-360 [cit. 2022-11-29]. ISSN 1520-4391. Dostupné z: [doi:10.1182/asheducation-2018.1.353](https://doi.org/10.1182/asheducation-2018.1.353)

KINNUNEN, M., A. KAUPPIA, A. KARMENYAN a R. MYLLYLÄ, 2011. Effect of the size and shape of a red blood cell on elastic light scattering properties at the single-cell level. *Biomedical Optics Express* [online]. **2**(7) [cit. 2023-02-27]. ISSN 2156-7085. Dostupné z: [doi:10.1364/BOE.2.001803](https://doi.org/10.1364/BOE.2.001803)

KLINKEN, S. P., 2002. Red blood cells. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* [online]. **34**(12), 1513-1518 [cit. 2022-12-04]. ISSN 13572725. Dostupné z: [doi:10.1016/S1357-2725\(02\)00087-0](https://doi.org/10.1016/S1357-2725(02)00087-0)

KRČ, I., 2007. Hematologie: Hodnocení krevního obrazu. In: [Ttps://www.internimedica.cz](https://www.internimedica.cz) [online]. Olomouc: redakční a recenzní systém Actavia [cit. 2022-04-29]. Dostupné z: <https://www.internimedica.cz/pdfs/int/2007/11/11.pdf>

LAU-BRAUNHUT, S., H. STONE, G. COLLINS, S. BERENTSEN, B. BRAUN a M. ZINTER, 2019. Paroxysmal cold hemoglobinuria successfully treated with complement inhibition. *Blood Advances* [online]. **3**(22), 3575-3578 [cit. 2022-11-30]. ISSN 2473-9529. Dostupné z: [doi:10.1182/bloodadvances.2019000897](https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2019000897)

LESESVE, J., L. GARÇON a T. LECOMPTE, 2011. Finding knizocytes in a peripheral blood smear. *American Journal of Hematology* [online]. **87**(1), 105-106 [cit. 2022-07-08]. Dostupné z: [doi:https://doi.org/10.1002/ajh.22007](https://doi.org/10.1002/ajh.22007)

- LIEBMAN, H. a I. WEITZ, 2017. Autoimmune Hemolytic Anemia. *Medical Clinics of North America* [online]. **101**(2), 351-359 [cit. 2022-11-30]. ISSN 00257125. Dostupné z: doi:10.1016/j.mcna.2016.09.007
- LI, H. a G. LYKOTRAFITIS, 2014. Erythrocyte Membrane Model with Explicit Description of the Lipid Bilayer and the Spectrin Network. *Biophysical Journal* [online]. **107**(3), 642-653 [cit. 2022-04-29]. ISSN 00063495. Dostupné z: doi:10.1016/j.bpj.2014.06.031
- LI, N., H. ZHOU a Q. TANG, 2017. Red Blood Cell Distribution Width: A Novel Predictive Indicator for Cardiovascular and Cerebrovascular Diseases. *Disease Markers* [online]. **2017**, 1-23 [cit. 2022-12-12]. ISSN 0278-0240. Dostupné z: doi:10.1155/2017/7089493
- LIPPI, G., G. CERVELLIN a F. SANCHIS-GOMAR, 2019. Red blood cell distribution width: A marker of anisocytosis potentially associated with atrial fibrillation. *World Journal of Cardiology* [online]. **11**(12), 292-304 [cit. 2023-02-22]. ISSN 1949-8462. Dostupné z: doi:10.4330/wjc.v11.i12.292
- LONGO, D. a C. CAMASCHELLA, 2015. Iron-Deficiency Anemia. *New England Journal of Medicine* [online]. **372**(19), 1832-1843 [cit. 2022-07-16]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMra1401038
- LONGO, D., F. PIEL a D. WEATHERALL, 2014. The α -Thalassemias. *New England Journal of Medicine* [online]. **371**(20), 1908-1916 [cit. 2022-07-17]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMra1404415
- LOPEZ, A., P. CACOUB, L. MACDOUGALL a L. PEYRIN-BIROULET, 2016. Iron deficiency anaemia. *The Lancet* [online]. **387**(10021), 907-916 [cit. 2022-07-16]. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(15)60865-0
- LYNCH, E. C., H. K. WALKER, W. D. HALL a J. W. HURST, 1990. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations: Red Cell Indices: Peripheral Blood Smear* [online]. 3rd ed. Boston: Butterworths [cit. 2022-12-12]. 21250106. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK263/?report=reader>
- MANER, B. S. a L. MOOSAVI, 2022. *Mean Corpuscular Volume: StatPearls* [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing [cit. 2022-12-12]. 31424859. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545275/>

MARKS, V., T. CANTOR, R. PULLMANN, G. NOSÁLOVÁ a D. MESKO, 2002. *Differential Diagnosis by laboratory medicine: A Quick reference for physicians*. Berlín: Springer. ISBN 978-3-642-62765-1.

MCDONNELL, M. a S. S. MOHIUDDIN, 2022. *Biochemistry, Biliverdin: StatPearls* [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing [cit. 2023-02-20]. 31747188. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK549781/>

NANDAKUMAR, S. K., J. C. ULIRSCH a V. G. SANKARAN, 2016. Advances in understanding erythropoiesis: evolving perspectives. *British Journal of Haematology* [online]. **173**(2), 206-218 [cit. 2022-12-08]. ISSN 00071048. Dostupné z: doi:10.1111/bjh.13938

NOVKOVIC, B., 2021. What is Transferrin + High & Low Levels. In: *SelfDecode: Labs* [online]. Florida [cit. 2023-02-28]. Dostupné z: <https://labs.selfdecode.com/blog/transferrin/>

ORIGA, R., 2017. β -Thalassemia. *Genetics in Medicine* [online]. **19**(6), 609-619 [cit. 2022-11-29]. ISSN 10983600. Dostupné z: doi:10.1038/gim.2016.173

OTTO, C. N., 2020. Hemoglobin metabolism. In: OTTO, C., E. KEOHANE a J. WALENGA. *Rodak's Hematology: Clinical Principles and Applications* [online]. 6th ed. St. Louis: Elsevier Health Sciences, s. 91-103 [cit. 2022-04-29]. ISBN 978-0-323-53045-3. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-323-53045-3.00016-7

PACE, B., A. STARLARD-DAVENPORT a A. KUTLAR, 2021. Sickle cell disease: progress towards combination drug therapy. *British Journal of Haematology* [online]. **194**(2), 240-251 [cit. 2022-11-29]. ISSN 0007-1048. Dostupné z: doi:10.1111/bjh.17312

PECKA, M., 2006a. Laboratorní hematologie v přehledu. In: *Laboratorní hematologie v přehledu: Fyziologie a patofyziologie krevních buněk* [online]. 2006. Český Těšín: tiskárna FINIDR, s. r. o., s. 83 [cit. 2022-03-30]. ISBN 80-86682-02-1. Dostupné z: <https://dokumenty.upce.cz/uk/ke-stazeni/pecka-lh-2.pdf>

PECKA, M., 2006b. *Laboratorní hematologie v přehledu: Fyziologie a patofyziologie krevních buněk* [online]. 2006. Český Těšín: FINIDR [cit. 2022-04-28]. ISBN 80-866-8202-1. Dostupné z: <https://dokumenty.upce.cz/uk/ke-stazeni/pecka-lh-2.pdf>

PENKA, M. a A. BULIKOVÁ, 2009. *Neonkologická hematologie*. 2., dopl. a zcela přeprac. vyd. Praha: Grada. ISBN ISBN978-80-247-2299-3.

- PENKA, M. a E. SLAVÍČKOVÁ, 2011. *Hematologie a transfúzní lékařství: Hematologie*. 2011. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-3459-0.
- PERROTTA, S., P. GALLAGHER a N. MOHANDAS, 2008. Hereditary spherocytosis. *The Lancet* [online]. **372**(9647), 1411-1426 [cit. 2022-11-29]. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(08)61588-3
- PHILLIPS, J. a A. HENDERSON, 2018. Hemolytic Anemia: Evaluation and Differential Diagnosis. *American Family Physician* [online]. **98**(6), 354-361 [cit. 2022-11-29]. 30215915. Dostupné z: <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2018/0915/p354.html>
- RACHMILEWITZ, E. a P. GIARDINA, 2011. How I treat thalassemia. *Blood* [online]. **118**(13), 3479-3488 [cit. 2022-11-29]. ISSN 0006-4971. Dostupné z: doi:10.1182/blood-2010-08-300335
- RAI, D., A. WILSON a L. MOOSAVI, 2022. Histology, Reticulocytes. In: *Histologie, retikulocyty: StatPearls* [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing, 17. února 2022, s. 1-6 [cit. 2022-04-29]. 31194329. 31194329. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542172/>
- RISINGER, M. a T. A. KALFA, 2020. Red cell membrane disorders: structure meets function. *Blood* [online]. **136**(11), 1250-1261 [cit. 2022-12-04]. ISSN 0006-4971. Dostupné z: doi:10.1182/blood.2019000946
- ROBIER, C., D. KLESCHER, G. REICHT, O. AMOUZADEH-GHADIKOLAI, F. QUEHENBERGER a M. NEUBAUER, 2014. Dacryocytes are a common morphologic feature of autoimmune and microangiopathic haemolytic anaemia. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* [online]. **53**(7) [cit. 2022-07-08]. Dostupné z: doi:10.1515/cclm-2014-0936
- SAKALOVÁ, A., 1995. *Hematológia a Transfuziologie: Teória*. 2nd ed. Martin: Vydavateľstvo Osveta. ISBN 80-217-0444-6.
- SANCHEZ, J. a D. T. LYNCH, 2022. Histology, Basophilic Stippling: StatPearls [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing [cit. 2022-12-15]. 31424843. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545259/>
- SARNAIK, S. A., 2005. Thalassemia and related hemoglobinopathies. *The Indian Journal of Pediatrics* [online]. **72**(4), 319-324 [cit. 2022-07-17]. ISSN 0019-5456. Dostupné z: doi:10.1007/BF02724015

SCAFIDI, J., R. AMRAEI a V. GUPTA, 2022. *Histologie, Howell Jolly Body: StatPearls* [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing [cit. 2022-12-15]. 32491421. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557489/>

SHORT, M. a J. DOMAGALSKI, 2013. Iron Deficiency Anemia: Evaluation and Management. *American Family Physician* [online]. **87**(2), 98-104 [cit. 2022-11-29]. 23317073. Dostupné z: <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2013/0115/p98.html>

SCHMAIER, A. H., 2020. Transferrin: a blood coagulation modifier. *Cell Research* [online]. **30**(2), 101-102 [cit. 2022-11-30]. ISSN 1001-0602. Dostupné z: doi:10.1038/s41422-020-0275-z

SMITH, J. E., 1987. Erythrocyte Membrane: Structure, Function, and Pathophysiology. *Veterinary Pathology* [online]. **24**(6), 471-476 [cit. 2022-04-29]. ISSN 0300-9858. Dostupné z: doi:10.1177/030098588702400601

SOLOMON, C. G. a R. A. BRODSKY, 2019. Warm Autoimmune Hemolytic Anemia. *New England Journal of Medicine* [online]. **381**(7), 647-654 [cit. 2023-02-27]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMcp1900554

STEINEROVÁ, K., D. LYSÁK a P. JINDRA, 2018. Nejběžnější typy anémií: diagnostika, klasifikace a léčba. In: <https://www.medicinapropraxi.cz> [online]. Plzeň: Redakční a recenzní systém Actavia [cit. 2022-03-30]. Dostupné z: <https://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2018/02/05.pdf>

STEVENS-HERNANDEZ, C. a L. BRUCE, 2022. Reticulocyte Maturation. *Membranes* [online]. **12**(3), 1-33 [cit. 2022-04-29]. ISSN 2077-0375. Dostupné z: doi:10.3390/membranes12030311

SUNDD, P., M. GLADWIN a E. NOVELLI, 2019. Pathophysiology of Sickle Cell Disease. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease* [online]. **14**(1), 263-292 [cit. 2022-10-20]. ISSN 1553-4006. Dostupné z: doi:10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012838

TAMARY, H. a O. DGANY, 2005. *GeneReviews: Alfa-Thalasemie* [online]. 1st ed. Seattle: University of Washington [cit. 2022-11-29]. ISBN 2372-0697. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1435/?report=reader#!po=94.6429>

THOMAS, L., 1998. *Clinical Laboratory Diagnostics: Use and Assessment of Clinical Laboratory Results*. 4 th ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft. ISBN 9783980521543.

- TISDALE, J., S. THEIN a W. EATON, 2020. Treating sickle cell anemia. *Science* [online]. **367**(6483), 1198-1199 [cit. 2022-11-29]. ISSN 0036-8075. Dostupné z: doi:10.1126/science.aba3827
- TRIPATHI, N. a I. JIALAL, 2022. *Conjugated Hyperbilirubinemia: StatPearls* [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing [cit. 2023-02-21]. 32965843. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32965843/>
- TUCHSCHERER, A. a J. CHEMNITZ, 2015. Hämolytische Anämien. *Der Internist* [online]. **56**(9), 1000-1008 [cit. 2022-11-29]. ISSN 0020-9554. Dostupné z: doi:10.1007/s00108-015-3661-8
- UCAR, K., 2002. Clinical Presentation and Management of Hemolytic Anemias. *Oncology* [online]. **16**(9) [cit. 2022-11-29]. 12380967. Dostupné z: <https://www.cancernetwork.com/view/clinical-presentation-and-management-hemolytic-anemias>
- VALAEI, A., M. KARIMIPOOR, A. KORDAFSHARI a S. ZEINALI, 2018. Molecular Basis of α -Thalassemia in Iran. *Iranian Biomedical Journal* [online]. **22**(1), 6-14 [cit. 2022-11-29]. Dostupné z: doi:10.22034/ibj.22.1.6
- VAN WIJK, R. a W. VAN SOLINGE, 2005. The energy-less red blood cell is lost: erythrocyte enzyme abnormalities of glycolysis. *Blood* [online]. **106**(13), 4034-4042 [cit. 2022-04-29]. ISSN 0006-4971. Dostupné z: doi:10.1182/blood-2005-04-1622
- VASKOVIĆ, J., 2022. Erythrocytes. In: *KEN HUB* [online]. Lipsko: Kenhub GmbH [cit. 2022-04-29]. Dostupné z: <https://www.kenhub.com/en/library/anatomy/erythrocytes>
- VIALLAT, A. a M. ABKARIAN, 2014. Red blood cell: from its mechanics to its motion in shear flow. *International Journal of Laboratory Hematology* [online]. **36**(3), 237-243 [cit. 2022-12-04]. ISSN 17515521. Dostupné z: doi:10.1111/ijlh.12233
- VILLATORO, V. a M. TO, 2019. *A Laboratory Guide to Clinical Hematology* [online]. 1st ed. Edmonton: Minneapolis, MN Open Textbook Library Edmonton, Alberta University of Alberta Libraries [cit. 2022-04-29]. ISBN 978-1-55195-440-0. Dostupné z: [https://era.library.ualberta.ca/items/3cd22d5b-2296-49fc-9fe2-273cfe7ab7a7/view/718eccdd-9f18-45fb-81ad-de6d3bd362d9/A-Laboratory-Guide-to-Clinical-Hematology-1562966401._oss%20\(1\).pdf](https://era.library.ualberta.ca/items/3cd22d5b-2296-49fc-9fe2-273cfe7ab7a7/view/718eccdd-9f18-45fb-81ad-de6d3bd362d9/A-Laboratory-Guide-to-Clinical-Hematology-1562966401._oss%20(1).pdf)

- VOULGARIDOU, A. a T. KALFA, 2021. Autoimmune Hemolytic Anemia in the Pediatric Setting. *Journal of Clinical Medicine* [online]. **10**(2) [cit. 2022-11-30]. ISSN 2077-0383. Dostupné z: doi:10.3390/jcm10020216
- WAHED, A. a A. DASGUPTA, 2015. Red Blood Cell Disorders: A Comprehensive Review for Board Preparation, Certification and Clinical Practice. In: *Hematology and Coagulation* [online]. 1st ed. Houston: Elsevier Health Sciences, s. 31-53 [cit. 2022-07-08]. ISBN 978-0-12-800241-4. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800241-4.00003-6
- WALDVOGEL-ABRAMOWSKI, S., G. WAEBER, C. GASSNER, A. BUSER, B. FREY, B. FAVRAT a J. TISSOT, 2014. Physiology of Iron Metabolism. *Transfusion Medicine and Hemotherapy* [online]. **41**(3), 213-221 [cit. 2022-04-29]. ISSN 1660-3796. Dostupné z: doi:10.1159/000362888
- WALKER, H., W. HALL a J. HURST, 1990. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations: Red Cell Indices* [online]. 3rd ed. Boston: Butterworths [cit. 2022-12-12]. 21250045. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK260/
- WANG, W., M. A. KNOVICH, L. G. COFFMAN, F. M. TORTI a S. V. TORTI, 2010. Serum ferritin: Past, present and future. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* [online]. **1800**(8), 760-769 [cit. 2022-12-08]. ISSN 03044165. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbagen.2010.03.011
- WHITEHOUSE, D. a A. MOORE, 2004. Respiratory Chain and ATP Synthase. *Encyclopedia of Biological Chemistry* [online]. Brighton: Elsevier Health Sciences, 671-675 [cit. 2022-04-29]. ISBN 9780124437104. Dostupné z: doi:10.1016/B0-12-443710-9/00028-4
- WILLIAMS, T. a S. THEIN, 2018. Sickle Cell Anemia and Its Phenotypes. *Annual Review of Genomics and Human Genetics* [online]. **19**(1), 113-147 [cit. 2022-10-20]. ISSN 1527-8204. Dostupné z: doi:10.1146/annurev-genom-083117-021320
- WINTER, W., L. BAZYDLO a N. HARRIS, 2014. The Molecular Biology of Human Iron Metabolism. *Laboratory Medicine* [online]. **45**(2), 92-102 [cit. 2022-04-29]. ISSN 0007-5027. Dostupné z: doi:10.1309/LMF28S2GIMXNWHMM
- WU, Y., L. LIAO a F. LIN, 2021. The diagnostic protocol for hereditary spherocytosis-2021 update. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* [online]. **35**(12) [cit. 2022-11-29]. ISSN 0887-8013. Dostupné z: doi:10.1002/jcla.24034

YOSHIDA, T., M. PRUDENT a A. D'ALESSANDRO, 2019. Red blood cell storage lesion: causes and potential clinical consequences. *Blood Transfus* [online]. **17**(1), 27-52 [cit. 2022-12-04]. Dostupné z: doi:10.2450/2019.0217-18

ZAMORA, E. a C. SCHAEFER, 2022. *Hereditary Spherocytosis* [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing [cit. 2022-11-29]. 30969619. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539797/>