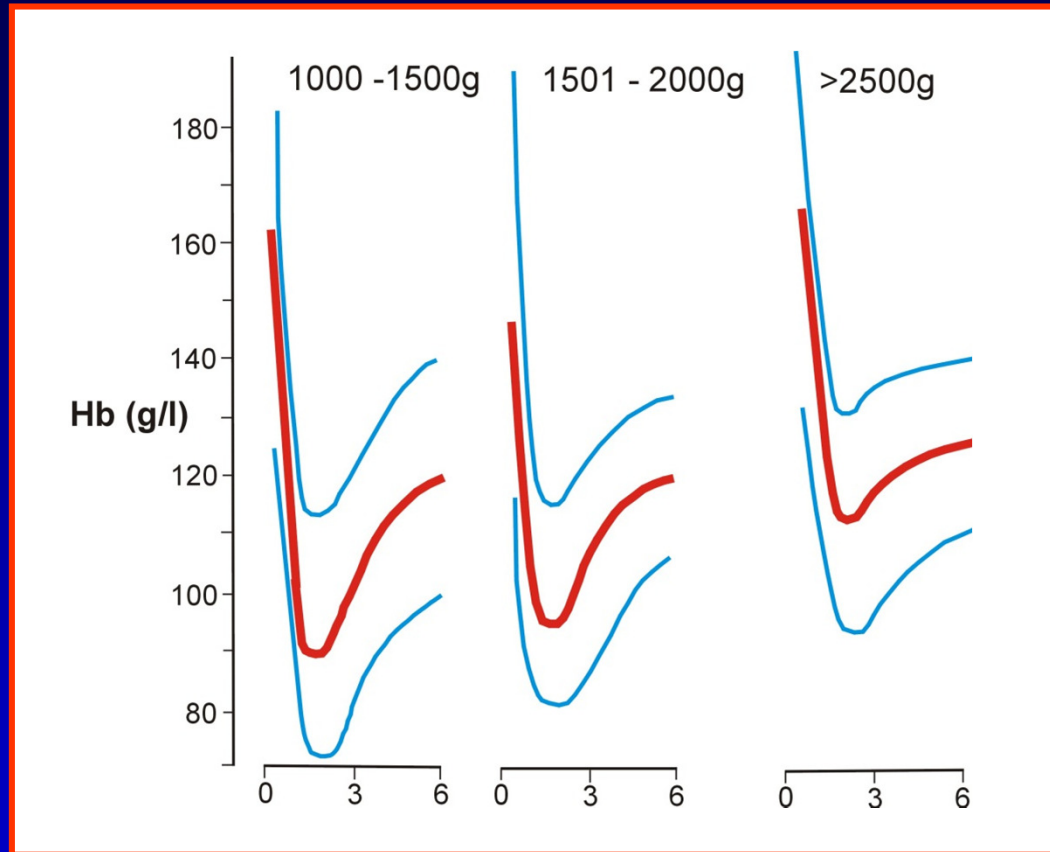


Vývoj hodnot hemoglobinu a objemu erytrocytů od narození do dospělosti.

(převzato z: Dallman PR, J Pediatr 1979, 94: 26; Stockman III JA, Pochedly C, Developmental and Neonatal Hematology, Raven Press New York 1988)

Věk	Hemoglobin (g/dl)		MCV (fl)	
	Průměr	Dolní limit	Průměr	Dolní limit
1. den	19,0	17,0	119	101
1 m	14,0	11,0	105	90
2 m	11,0	9,3	100	83
3 m	11,0	9,5	88	78
6m-2r	12,5	11,0	77	70
2-5r	12,5	11,0	79	73
5-9	13,0	11,5	81	75
9-12	13,5	12,0	83	76
12-14 let				
ženy	13,5	12,0	85	77
muži	14,0	12,5	84	76
14-18 let				
ženy	14,0	12,0	87	78
muži	15,0	13,0	86	77
18-49 let				
ženy	14,0	12,0	90	80
muži	16,0	14,0	90	80

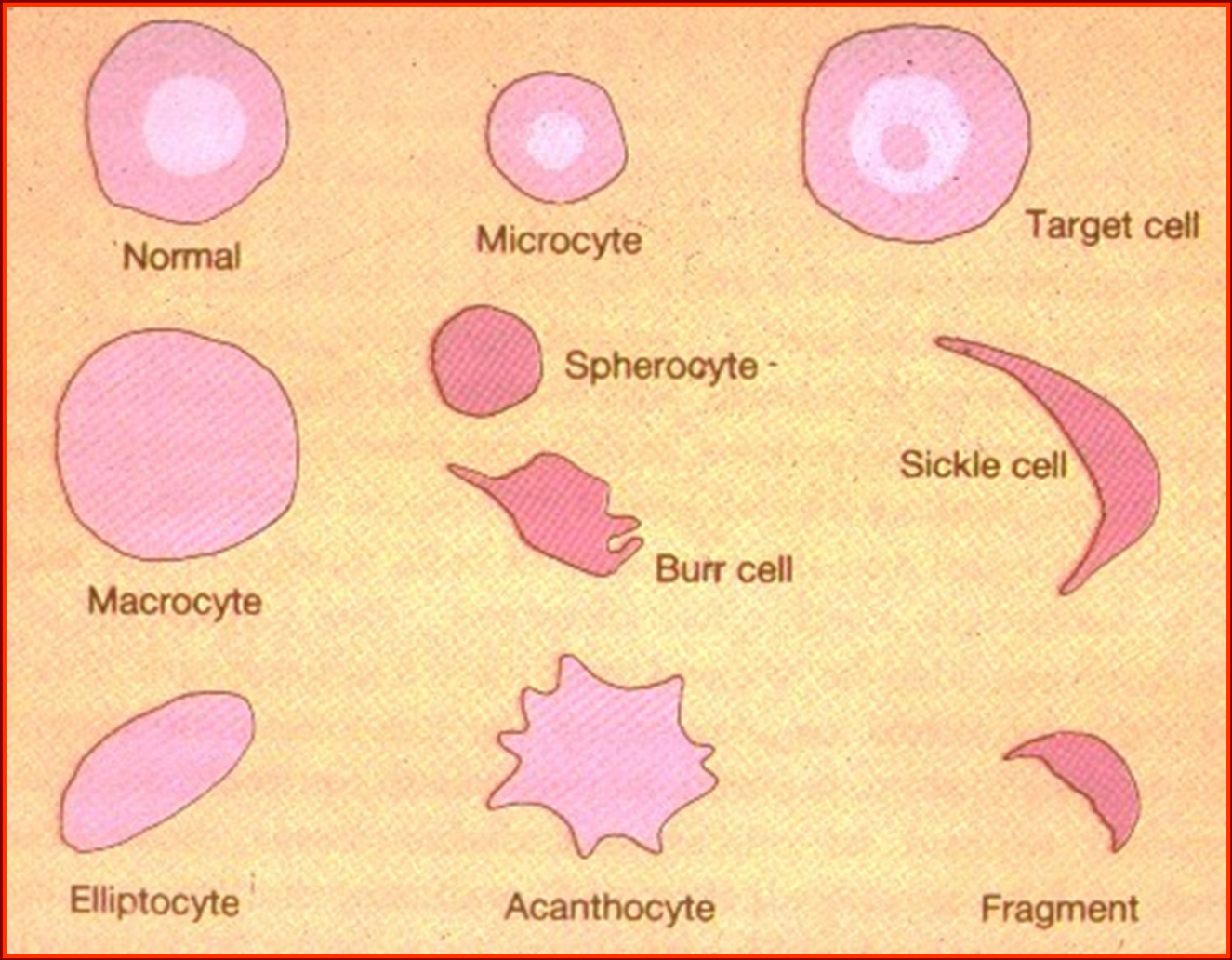
POSTNATAL CHANGES OF HEMOGLOBIN



Premature infants:
- more rapid decline
- a lower nadir

Indexy červených krvinek

- **MCV (střední objem erytrocytu):**
 - Dolní hranice normy u dětí < 10 r: 70 fl + věk v letech
 - Horní limit normy od 6. měsíce: 84 + 0,6fl/rok do dosažení limitu pro dospělé 95 fl
- **MCH (střední obsah Hb v ery):** obvykle sleduje změny v MCV
- **MCHC (střední koncentrace Hb v ery):**
 - Hodnota > 35g/dl je typická pro HS, snížené hodnoty pro sideropenii, talasémii
- **RDW (šíře distribuce objemu erytrocytů):** odráží rozdílnou velikost erytrocytů (anisocytóza)



Klasifikace anemií podle velikosti erytrocytu

- **Mikrocytární anemie**
- **Makrocytární anemie**
- **Normocytární anemie**

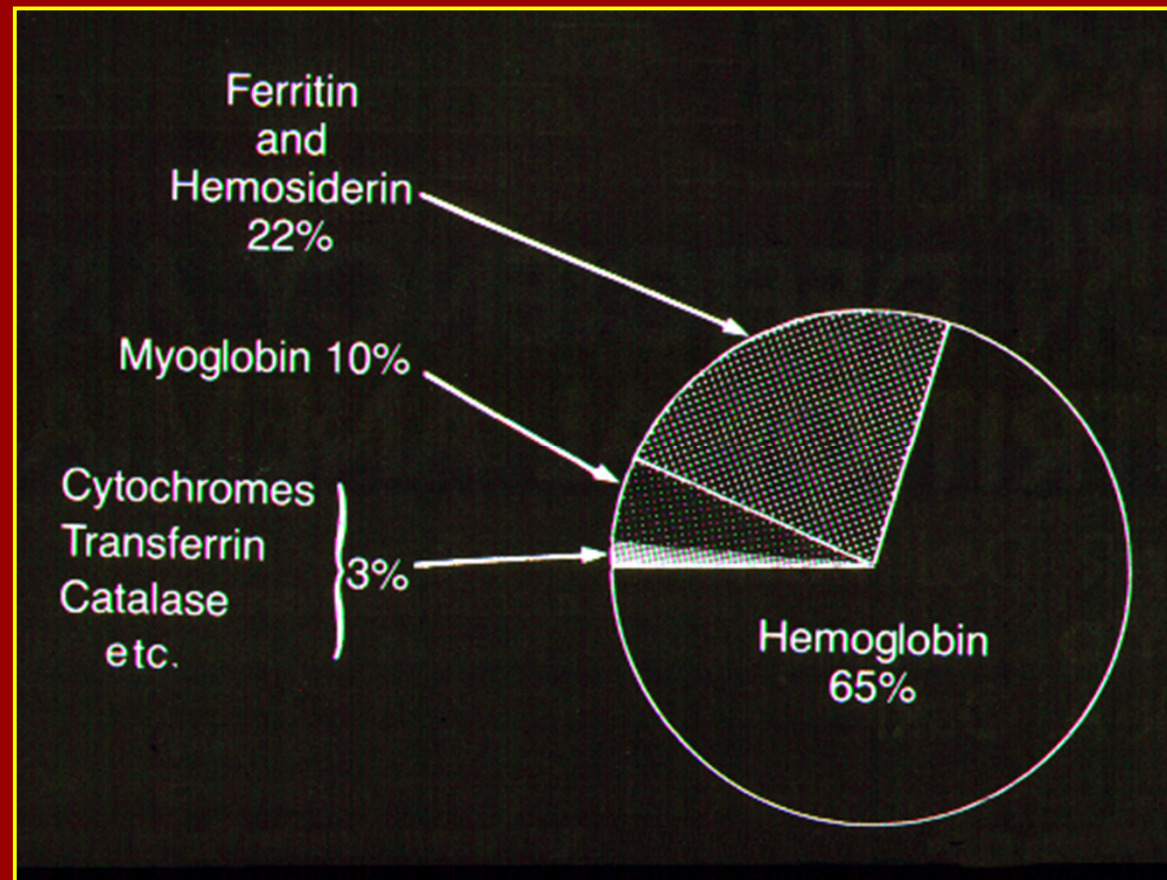
Mikrocytární anemie

- Deficit železa
- Chronický zánět
- Talasemie
- Sideroblastické anemie
- Vrozené hemolytické anemie s nestabilním hemoglobinem
- Chronická otrava olovem

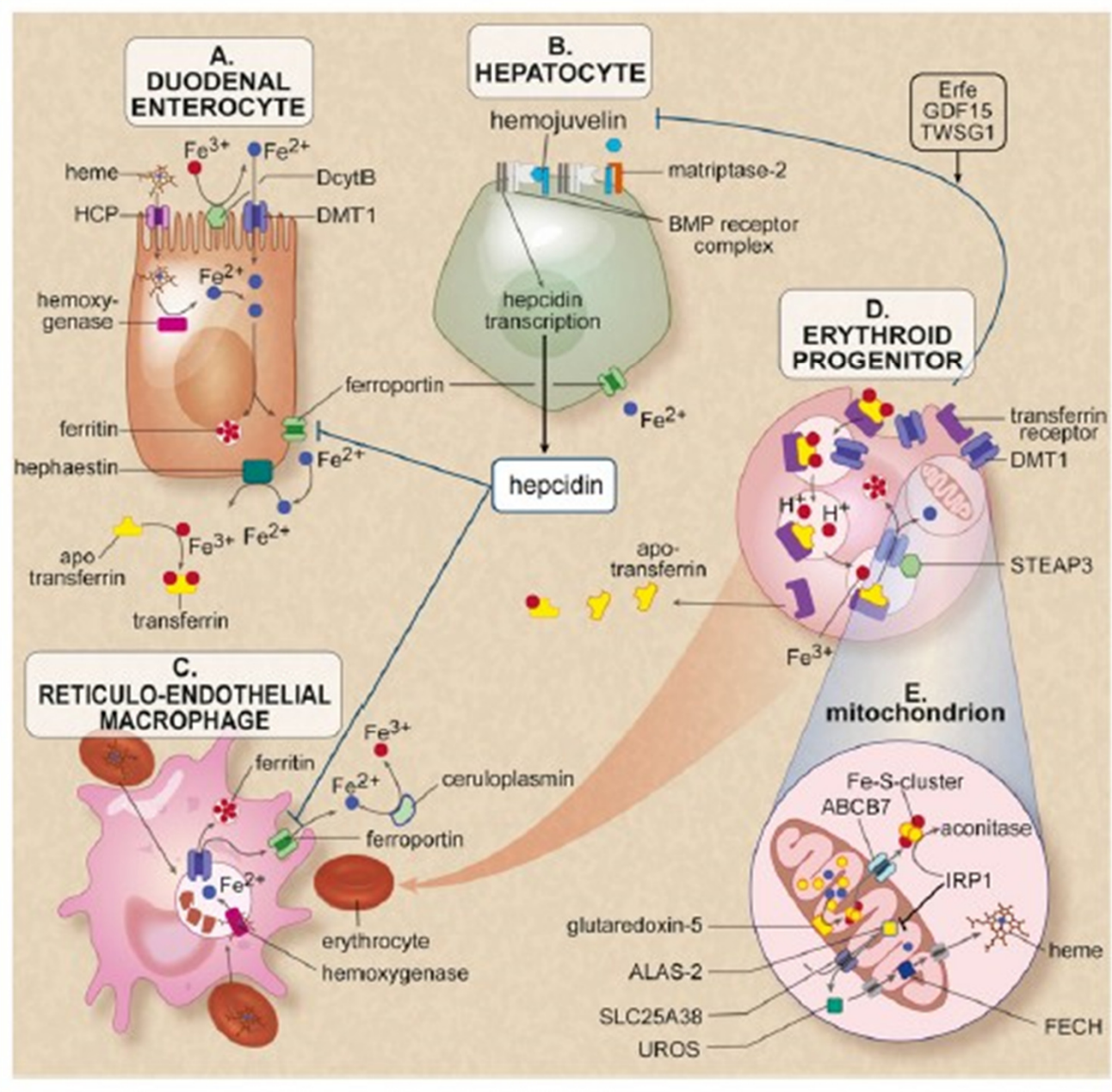
Role železa v organismu

- Fero- (Fe^{2+}) a feri- (Fe^{3+}) komplexy
- Základní složka hemoglobinu a myoglobinu (transport kyslíku)
- Součást enzymů katalyzujících reakce zajišťující transport elektronů a syntézu DNA (katalázy, peroxidázy, cytochromoxidázy)
- Množství železa v organismu: dospělý 4-5g, ztráty denně 1mg odlučováním buněk kůže a sliznic, menstruace 1mg/den, z makrofágů RES denně putuje do erythropoezy 20 mg Fe
- Toxicita Fe: při přetížení železem (volné železo) vznikají kyslíkové radikály (HO), které indukují smrt buněk (játra, srdce, pankreas)
- 1 TU erymasy obsahuje 200-250 mg Fe

DISTRIBUTION OF IRON IN MAN (adult male: $\approx 3,5$ gr)



Metabolismus železa



Absorpce železa

- Duodenum - produkce kyselin v žaludku snižuje pH v duodenu, Fe^{3+} (nerozpustné) \rightarrow Fe^{2+} (platí pro anorganické železo)
- Pouze 10% anorganického Fe je vstřebáno
- Hem (maso) je vstřebáván nezávisle na pH odlišným mechanismem, snadněji, vstupuje do enterocytu v.s. přes heme carrier protein (HCP). V buňce je degradován heme oxygenázou a železo je uvolněno
- Nedostatek Fe vstřebání zvyšuje, nadbytek snižuje
- Výjimkou je inefektivní krve tvorba (talasémie, deficit PK, CDA, MDS) a hereditární hemochromatóza

Mezibuněčný transport železa

- 60-80% tělesného Fe je v erytropoeze
- 4 mg Fe cirkulují v plasmě (ery-RES), vázané na Trf
- Trf je syntetizován v játrech, stoupá při deficitu Fe (CVK), klesá při zánětu a při přetížení Fe
- Za norm. stavu je cca 30% vazebné kapacity Trf saturováno Fe, jedna molekula Trf váže 2 atomy Fe
- Transport do erytropoezy, RES, jater

Hepcidin

- Peptid regulující homeostázu železa
- Působí vazbou na ferroportin (exportní kanál Fe) a tím blokuje přísun Fe do krve z makrofágů, jater, duodenálních enterocytů a placent. syncytiotrofoblastu
- Důsledkem je sideropenie, porucha tvorby hemoglobinu a mikrocytóza ery
- Posléze se může vyvinout i skutečný deficit Fe
- Syntéza je indukována nadměrným obsahem železa v organismu a zánětem, tlumena anémií, infektivní erytropoezou, tkáňovou hypoxií
- Vrozená mutace je příčinou hereditární hemochromatózy

Metabolismus železa

- Transferinový receptor – na všech dělicích se buňkách, zejména ale v erytroidních prekurzorech CFU-E, pronormoblasty, basofilní normoblasty, retikulocyty, nikoliv erytrocyty
- Solubilní (cirkulující) transferinové receptory – v plasmě, pochází z retikulocytů při změně v erytrocyty, zvýšené u deficitu Fe, hemolytické anemie, inefektivní erythropoeze, nezvyšují se při zánětu
- cHr (Siemens)/RET-He (Sysmex) – MCH v retikulocytech (pg), snížen při nedostatku železa bez ohledu na přítomnost či nepřítomnost zánětu
- Feritin – zásobní železo, netoxické, flexibilní, v plasmě marker množství Fe v organismu, zvyšuje se při zánětu, infekci, malignitě
- Hemosiderin-konečný produkt degradace feritinu, nerozpustný, barvitelný Pruskou modří

Sideropenická anemie

příčiny

- **Zvýšené nároky na přísun Fe v období rychlého růstu**
- **Nedostatečná absorpce Fe (nedostatek Fe v potravě, antacida, H₂ blokátory, čaj, káva, malabsorpce, resekce střev, záněty, Helicobacter pylori)**
- **Nedostatečné/nepoužitelné zásoby Fe – GIT krvácení (paraziti, Rendu-Osler), meno/metroragie, hematurie, plicní hemosideróza**
- **Atransferinémie (Fe vázáno na albumin, anemie, přetížení jater Fe)**
- **Abnormální intracelulární transport/utilizace Fe**

Sideropenická anémie

Bledost kůže

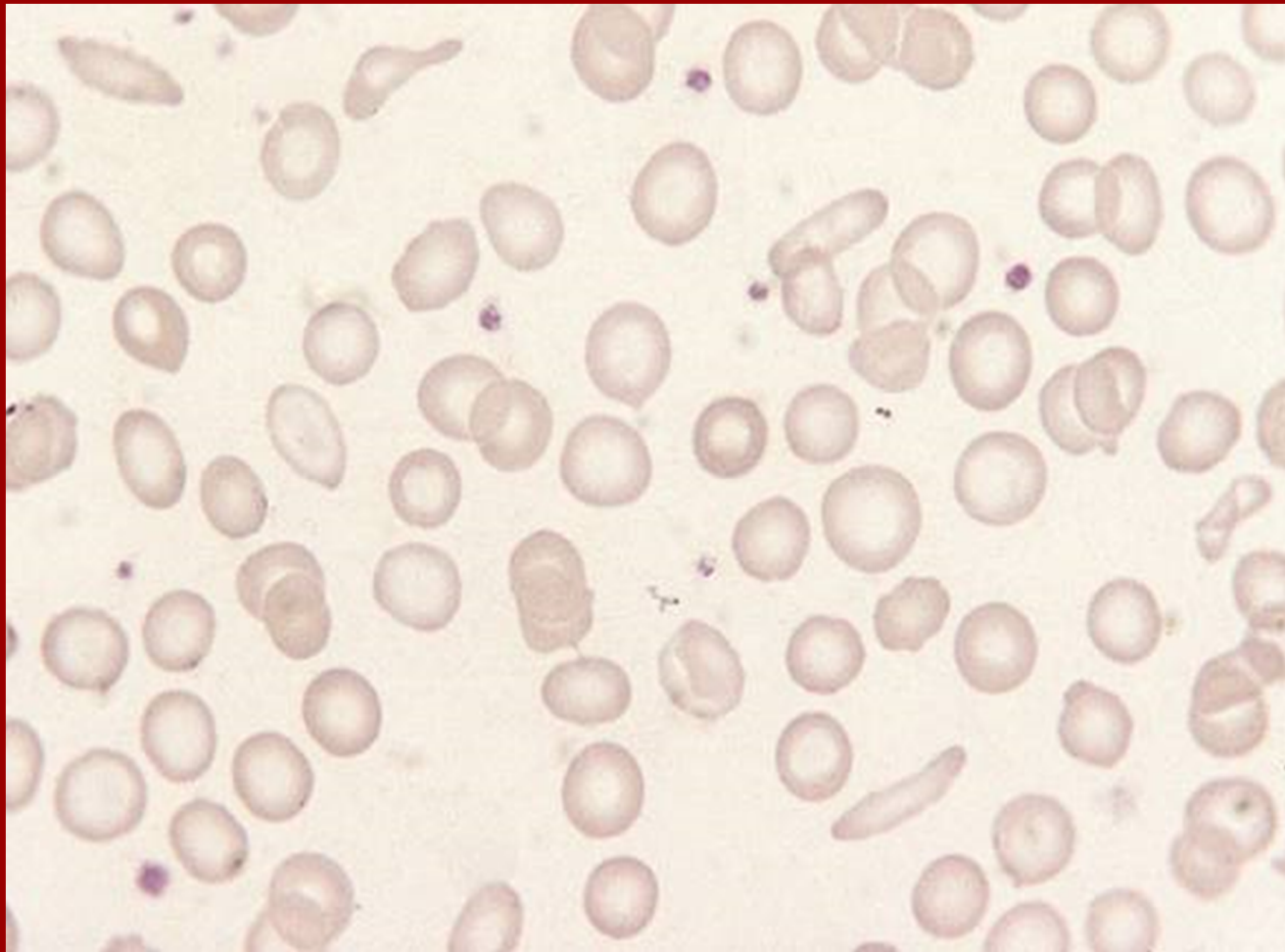


Sideropenická anemie

Laboratorní diagnostika

- Screening:
 - ✓ Hb
 - ✓ MCV
 - ✓ MCH, MCHC
 - ✓ RDW
 - ✓ cHr (obsah hemoglobinu v retikulocytech)
 - ✓ saturace transferinu
- ✓ Definitivní diagnóza:
 - ✓ feritin v séru
 - ✓ sTfR (sTfR/feritin)
 - ✓ hemosiderin v kostní dřeni

**Sideropenická anemie – nátěr PK
hypochromie, mikrocytóza, anisocytóza,
poikilocytóza**



Sideropenická anemie

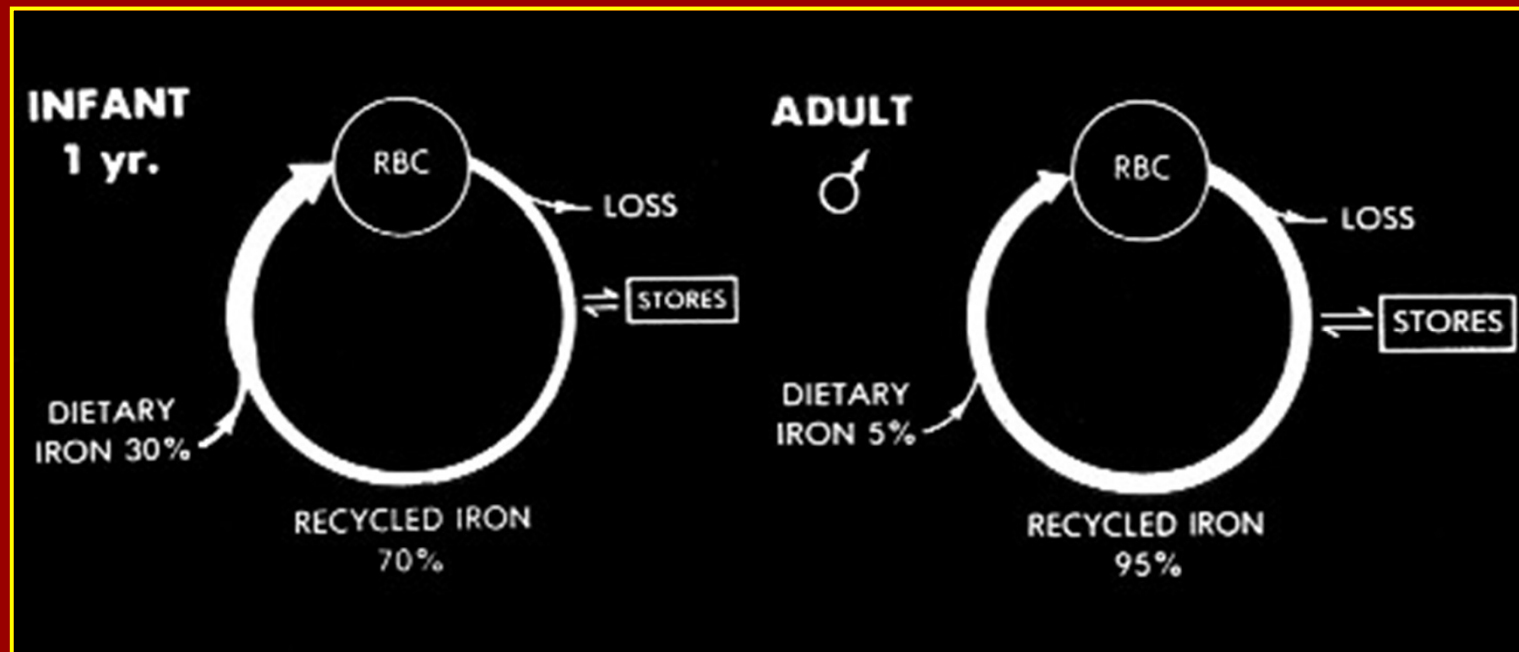
Vývojová stadia

- Prelatentní sideropenie: deficit zásobního Fe (snížen ferritin)
- Latentní sideropenie: deficit zásobního i ery Fe (sníženy Fe v séru, ferritin, zvýšeny CVK, sTfR)
- Sideropenická anemie: deficit zásobního a ery Fe, anemie (snížen Hb, Ht, MCV, MCH, MCHC, ferritin, zvýšeny sTfR, CVK)
- Dx kritéria: Nízký Hb, sérový ferritin < 30 µg/l, norm. CRP, zvýšené sTfR

Sideropenická anemie

- Dva vrcholy výskytu anemie v dětství: batolata 1-3 r a dospívající (největší nárůst Fe v Hb)
- V prvních 4 m života u donošených dětí dostatek zásobního Fe (od matky, pokles Hb z 180 na 140g/l)
- Množství Hb se u donošeného dítěte v jednom roce zdvojnásobí (180 → 340mg), u dítěte s hmotností 1 kg se zvýší 6x (2 kg 3x)
- Dospívající chlapci nárůst svalové hmoty (myoglobin), děvčata nárůst spotřeby Fe po menarche, (diety, sport)

GREATER DEPENDENCE ON DIETARY IRON IN THE INFANT COMPARED TO THE ADULT MALE



Sideropenická anemie

Prevence

- Absorpce Fe z kravského mléka (10%) je nižší než z mateřského (25-50%)
- Množství Fe v mateřském mléce po 5 m kojení klesá na 0,3 mg/l
- Od 6. m je nutné zařadit fortifikované cereálie, zelenino-masové předkrmy
- U nedonošených Fe v kapkách od 2. m (2-3 mg element. Fe/kg/den)

Sideropenická anemie

Léčba

- **3-5 mg element. Fe/kg/den, kojencům kapky 3x denně, batolatům sirup 1x denně, mezi jídly, večer (lepší tolerance)**
- **Parenterální Fe: 1,5 mg/kg/dávka, 3x týdně**
- **Nežádoucí účinky u 10-40% pacientů (GIT) – vyvolány uvolněním ionizovaného Fe, které dráždí sliznici (retardované tbl nižší lokální koncentrace Fe)**
- **Vzestup retikulocytů po týdnu, Hb stoupne za měsíc o 20g/l, doplnění zásob za 3-5 m**

Sideropenická anemie

Příčiny selhání léčby p.o. Fe

- **Non-kompliance**
- **Současné krevní ztráty**
- **Vysoké pH žaludeční sliznice (antacida, H2 blok)**
- **Helicobacter pylori (ELISA protilátky, dechový test)**
- **Chronický zánět**
- **Maligní nádor**
- **Nesprávná diagnóza (talasémie, sideroblastická anemie)**

Sideropenická anemie

Léčba

Typ preparátu	Sloučenina Fe	Název preparátu
S pomalým uvolňováním	Síran železnatý Síran železnatý s vit. C Síran železnatý s foláty Fumaran železnatý s foláty	Ferronat retard tbl Sorbifer durules tbl Tardyferon Fol retard tbl Ferretab comp.
S rychlým uvolňováním	Síran železnatý Síran železnatý s foláty Síran železnatý Fumaran železnatý Glukonan železnatý/vit C	Aktiferrin cps Aktiferrin comp cps Aktiferrin susp, gtt Ferronat susp Lösferron forte tbl
Preparáty obsahující Fe ³⁺	Hydroxid železitý a polymaltóza	Maltofer gtt, sir
Injekční preparáty Fe ³⁺	Hydroxid železitý a polymaltóza Glukonan železitý	Ferrum Lek inj Ferrlecit i.v.

Sideropenická anemie - kazuistika

- 8-měsíční kojeneček, narozen v 33. týdnu s p.h. 2050 g, plně kojen, odmítá zeleninové a masové příkrmy. Při 8měsíční prohlídce bledý, zpomalení růstové rychlosti.
- KO: Hb 62, ery 5,11, MCV 46,3, MCH 12,1, RDW 22,7%, retikulo 1,75%, RET-Hb 11,7 pg, leu 11,0, trombocyty 1256.
- Fe v séru 1,3 umol/l, feritin 2,7 ug/l, sTFR 55,98 mg/l (N 1,9-4)
- Transfuze ery, úprava stravy, železo v kapkách

Sideropenická anemie - kasuistika

- 16-letá dívka přijata pro měsíc trvající únavu navazující na metroragii. Strava pestrá, sportovkyně (házená).
- KO: **Hb 56 g/l**, **MCV 72,3**, MCH 21,9, MCHC 30,3, RDW 23,2, retikulo 1,12%, **Ret-He 14,9 pg** (N 28-36), leuko 3,4, AGC 1639, trombo 191. Anisocytóza, mikrocyty, hypochromie, poikilocyty
- **Feritin 1,3 µg/l** (8-95), Fe v séru 2 µmol/l (9-28), aspirace KD: erythropoetická řada 20%, sideroblasty nenalezeny, extracel. Fe zcela oj.
- Sorbifer Durules 2x1 tbl, trf ery nepodána
- KO po **týdnu léčby**: **Hb 70**, ery 3,04, MCV 79,6, MCH 23, MCHC 28,9, **retikulo 6,27%**, Ret-He 25,9, leu 4,0.
- **KO po 6 týdnech léčby**: Hb 109, MCV 85,6, MCH 26,7, MCHC 31,1, RDW 18, retikulo 0,74%, Ret-He 30,7, leu 6,2.
- KO po **6 měsících léčby**: **Hb 119**, MCV 86,7, MCH 28,3, MCHC 32,6, RDW 12,7%, retikulo 0,47%, leu 4,3, trombo 175. **Feritin 14,4**.
- Subj. bez obtíží, menstruační cyklus pravidelný. Léčba preparáty železa ukončena po 7 měsících.

Sideropenická anemie-kasuistika

- 16letá dívka přijata pro mikrocytární anemii po dvouměsíční neúspěšné léčbě perorálním železem (Tardyferon)
- KO: Hb 49, ery 3,27, **MCV 52,6**, MCH 15, MCHC 28,5, RDW 22,1%, retikulo 2,06%, leuko 8,8, trombo 352.
- Transf 3,6 (N), saturace 6,5% (↓), Fe v séru 61,8 (↑), feritin 2,3 (↓), sTFR 31,71(↑). CRP 1,5 mg/l (N).
- Menstruace prav., norm. intenzity, strava pestrá, stolice prav., norm. konzistence, ztráty krve popírá, hůře toleruje zátěž, snadno se zadýchá. 1. ročník obchodního lycea, učí se výborně.
- Necelý rok unavenější, opakované kolapsové stavy, zhubla 4 kg.
- Sono břicha: zesílená a prosáklá stěna céka. Kolonoskopie: floridní kolitida, biopsie svědčí pro **ulcerózní kolitidu**
- Prednison, Imuran, Salofalk
- Trf 2 TU ery, Venofer i.v. 2x týdně (sacharózový komplex hydroxidu železitého)
- Celková dávka: Maximální denní dávka iv železa obnáší 100 mg Fe⁺⁺⁺. 150–200 mg intravenózního Fe⁺⁺⁺ zvýší hladinu hemoglobinu asi o 10 g/l, navíc se doporučuje podat cca 500 mg k doplnění zásob.
- Možné příčiny selhání perorální léčby: mikroskopické ztráty krve stolicí, chronický zánět, non-compliance

Anemie u nespecifických střevních zánětů

- Nejčastější je sideropenická anemie v důsledku krevních ztrát či kombinace s anemií při chronickém zánětu
- U Crohnovy nemoci může k anemii přispět porucha absorpce vitamínu B12/folátů
- Léčba: iv preparáty železa, ev. v kombinaci s EPO

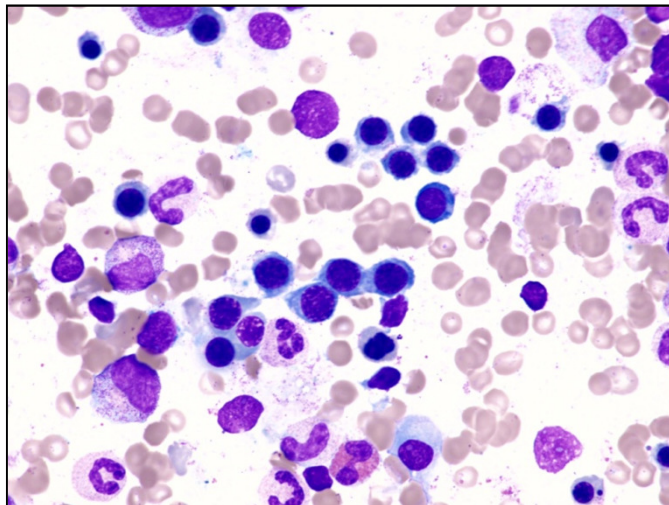
Sideropenická anemie jako první projev celiakie

- **Motto:** Jediným příznakem neklasické formy celiakie může být sideropenická anemie nereagující na léčbu železem (Frühauf P a Pracovní skupina pro dětskou gastroenterologii ČPS. Celiakie-doporučený postup pro diagnostiku a terapii u dětí).
- 6letá dívka referována do hematologické ambulance pro přetrvávající mikrocytární hypochromní anemii po léčbě železem. Unavenější, průjmy nemá, břicho v nivěu, nebolestivé, dle matky občas bolesti břicha s meteorismem. Výška 113 cm (8.P), hmotnost 18,3 kg (16.P), BMI 14,3 kg/m² (25.P).
- KO: Hb 105, ery 5,4, MCV 63,1, MCH 19,5, RDW 18,5.
- Fe v séru 2,7 umol/l, sTFR 12,26 mg/l, feritin 3,6 ug/l. Protilátky proti endomiziu (EMA) pozitivní, protilátky proti deamidovanému gliadinu (GliDA A) pozitivní. Biopsie tenkého střeva potvrzuje diagnózu celiakie.
- Bezlepková dieta, aktiferrin sirup.
- KO za 6 m: Hb 145, MCV 77,2, MCH 26,9, RDW 13,8%.

ANÉMIE U CHRONICKÝCH ONEMOCNĚNÍ

Definice

- **normochromní normocytární anémie → postupně hypochromní a mikrocytární charakter anémie (projev současné sideropenie, častější u dětí) doprovázející různá chronická onemocnění**



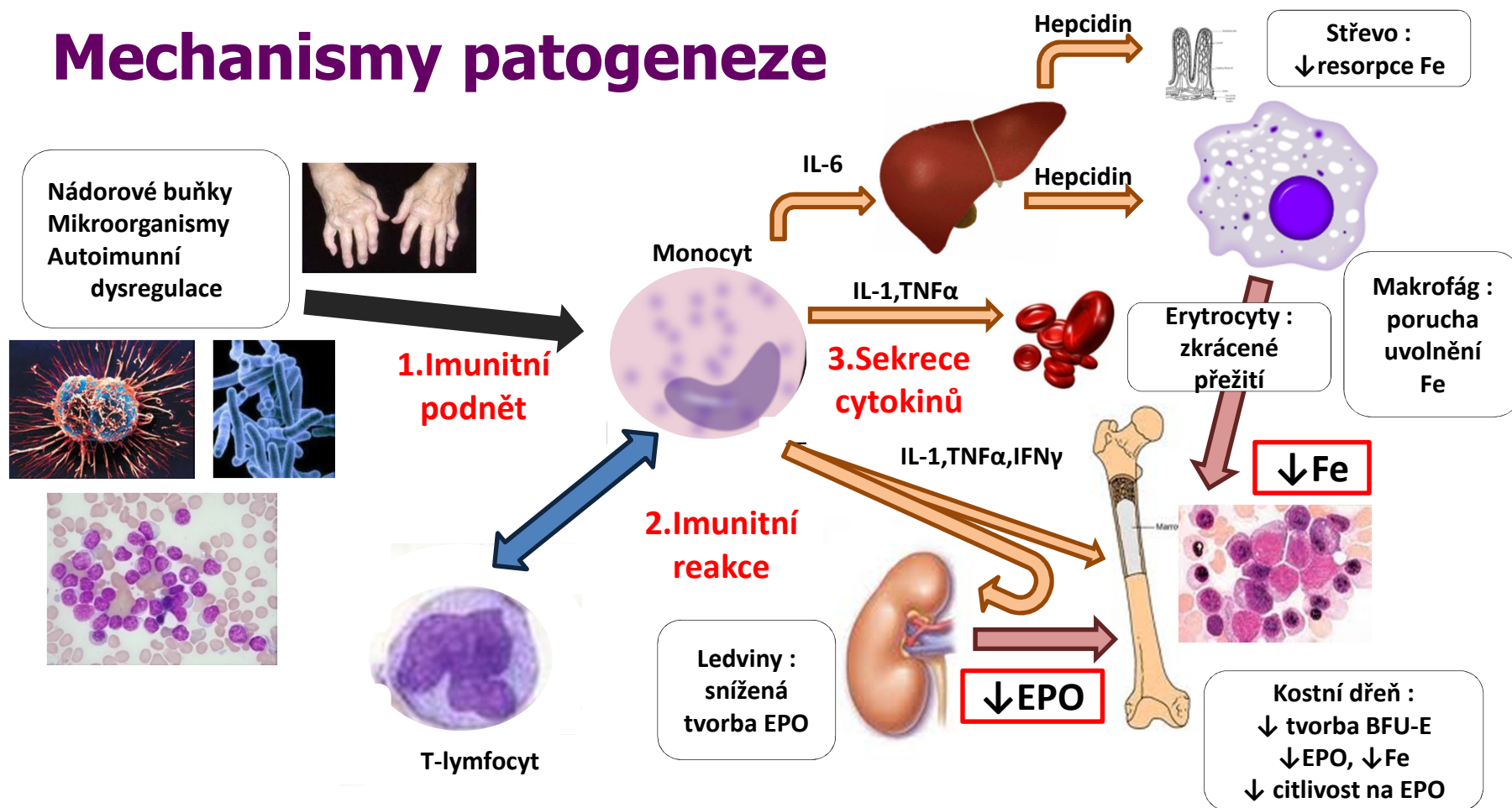
ANÉMIE U CHRONICKÝCH ONEMOCNĚNÍ

Příčiny

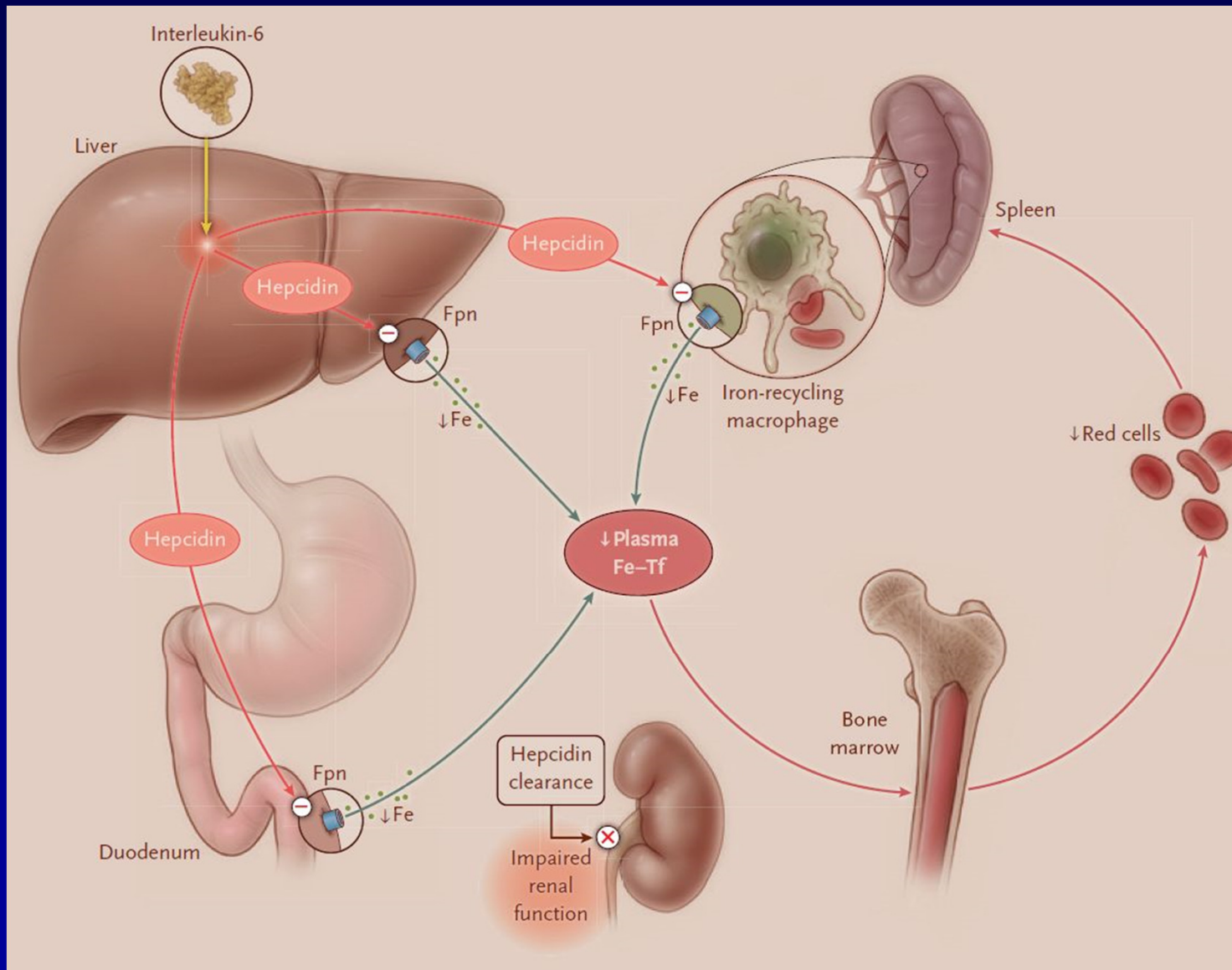
- **autoimunní choroby :**
revmatoidní artritida, systémový LE, ulcerózní kolitida
- **infekce :**
bakteriální endokarditida, osteomyelitida, tbc, AIDS
- **nádory :**
solidní metastazující, hematologické malignity
- **chronická onemocnění ledvin**

ACD - PATOGENEZE

Mechanismy patogeneze

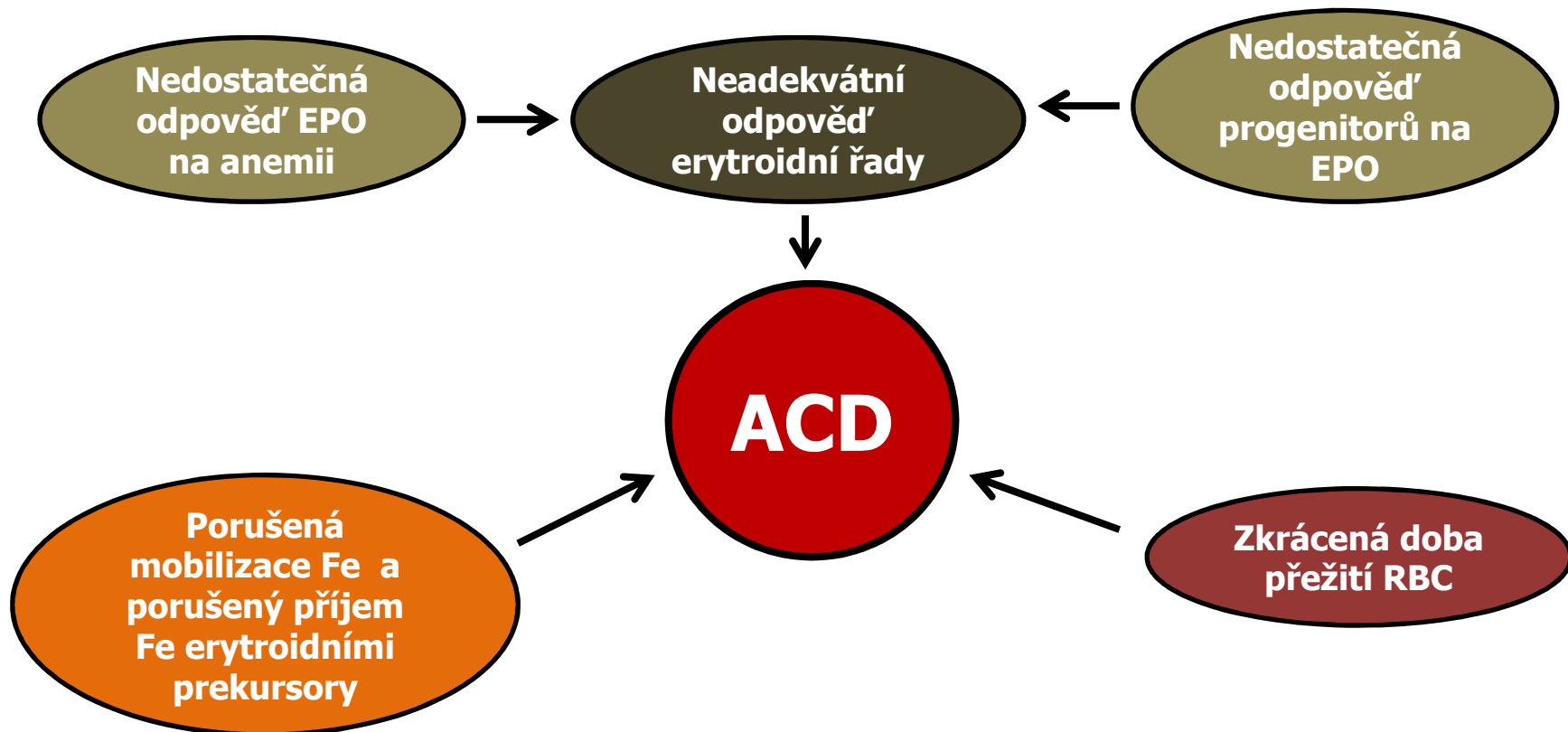


Anemie chronických onemocnění – metabolismus železa




ACD - PATOGENEZE

Mechanismy patogeneze



ACD – DIFERENCIÁLNÍ DIAGNOSTIKA

Základem – odlišení ACD od pravé sideropenie

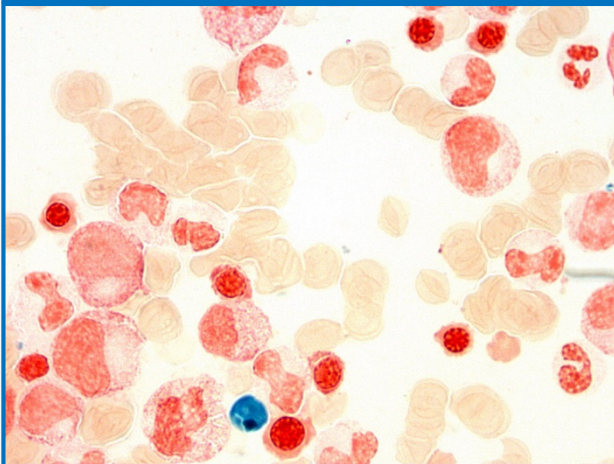
	Fe	TIBC	satTRF	feritin	TRF receptor
nedostatek železa	↓	↑	↓	↓	↑
anemie při chronickém onemocnění	↓	↓	N	N	
thalasemie	N či ↑	N či ↓	N či ↑	N či ↑	↑

Barvení na Fe

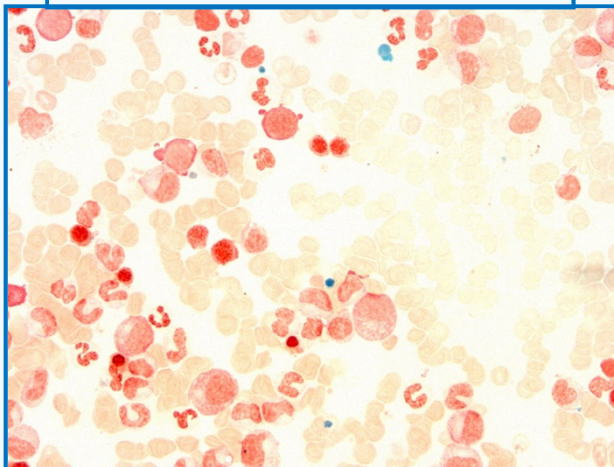
(Perlsova reakce – použitím ferokyanidu draselného vzniká tzv. berlínská modř)

Anémie chronických nemocí

Sideroblasty nenalezeny, Fe extracelulárně

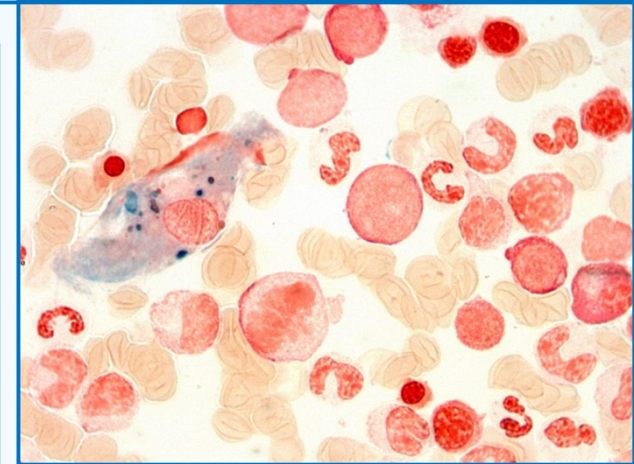


Fe extracelulárně

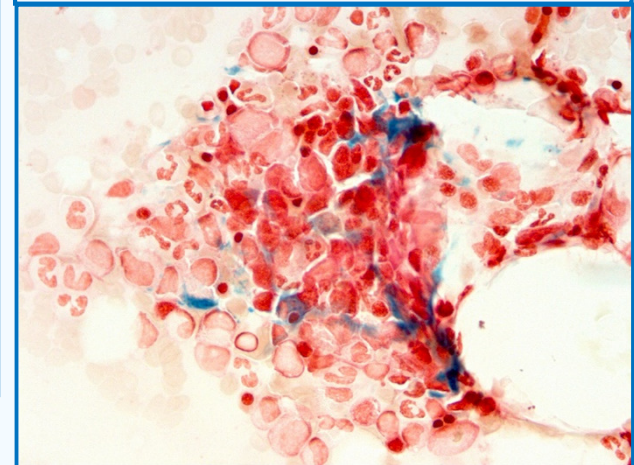


Sideroblasty nenalezeny

Fe hojně v makrofágu (siderofág)



V retikulu Fe hojně



ACD – LÉČEBNÉ PŘÍSTUPY

Chronické onemocnění :

snížený výdej Fe do cirkulace je obranným mechanismem

- **snížení dodávky Fe jako růstového faktoru pro mikroorganismy**
- **snížení nabídky Fe nádorových buňkám – růstový faktor**
- **snížení dodávky Fe do systému redoxních reakcí vedoucích k tvorbě volných hydroxylových radikálů poškozujících buněčné struktury.**

Je třeba vždy zvážit dle stupně anémie a klinických příznaků, zda anémie vyžaduje další léčbu krom léčby základního onemocnění.

ACD – LÉČEBNÉ PŘÍSTUPY

Základem – léčba základního onemocnění

Další léčebné metody :

- 1. podávání erythropoezu stimujících agens**
- 2. podávání přípravků železa při současném výskytu sideropenie (častější u dětí)**
- 3. nové léčebné přístupy (inhibitory hepcidinu)**

Anémie chronického zánětlivého onemocnění

- 16letá dívka (3/2017) s chronickou měnlivou vyrážkou od kojeneckého věku, histologicky granulomatózní zánět, rec. artritidami, atakou iridocyklitidy, lymfadenopatií krku a axil (granulomatózní zánět), ložisky v pánvi na PET-CT (granulomatózní zánět), hypergamaglobulinémií IgG 28,4 g/l, monoklonální gamapatií kappa, zvýšeným sérovým amyloidem. Afebrilní, subj. většinu dětství bez obtíží.
- KO: **Hb 100** (120-160), ery 4,66, **MCV 71** (82-95, MCH 21,5, RDW 17%, retikulo 0,8%, RET-Hb 21,8 (28-36), leu 8,6, trombocyty 405.
- Fe v séru 1,6 umol/l (9-29), transferin 2,83 g/l (1,8-4,1), CVK pro železo 72,6 umol/l (44-86), saturace transferinu 2,2%, feritin 35,1 (10-291), CRP 12,9 mg/l.
- **6 měsíců léčena perorálním železem. V KO Hb 109, MCV 69,8, RET-Hb 26,8, Fe v séru 4,7, saturace Trf 6,7%, feritin 87, sTFR 4,58 mg/l (1,9-4), v KD bez sideroblastů i siderocytů.**
- NextGen WES: heterozygotní GOF mutace NOD2/CARD15 vede k aktivaci NF- κ B a produkci zánětlivých cytokinů. Důsledkem je AD dědičné autoinflamatorní onemocnění **Blauův syndrom** (granulomatózní postižení kůže, kloubů uveitidy), onemocnění příbuzné sarkoidóze. Stejnou mutaci nese matka, která dosud bez projevů onemocnění.
- Léčba: MTX (12/2017), ev. Anakinra(IL-1 receptor antagonist), blokátory TNFa

Anemie nádorového onemocnění - kazuistika

- 17letá dívka přijata na DO pro měsíc trvající intermitentní bolesti zad a velkých kloubů, unavená, noční poty (v noci se musela opakovaně převlékat), zhubla 3kg, subfebrilie.
- KO: **Hb 98**, ery 4,21, **MCV 73,9** (82-98), **MCH 23,3** (28-34), MCHC 31,5 (32-36), RDW 16,1%, leuko 13,1, S 77,5, T2, mono 1, eo 1, lymfo 18, **trombo 717**.
- Fe 29,5, feritin 387, saturace Trf 18,5%. Aspirace KD: č.ř. 15,6%. Barvení na železo: sideroblasty 5%, v retikulu hojně.
- Scinti skeletu: mnohočetný ložiskový proces. PET-CT: multifokální skelet + generalizovaná L-patie. Extirpace uzliny na krku: klasický HL, smíšená buněčnost.
- Dx: HL, stadium IV, B symptomy.

Přetížení železem

- **Hereditární hemochromatóza** (homozygoti mutace C282Y genu hepcidinu (prevalence heterozygotů 10%, homozygoti 1/300))
- Rozvoj klinických projevů nemoci po 50. r, bronzový diabetes, cirhóza jater. Léčba: venepunkce
- **Sekundární hemochromatóza**
 - ✓ Talasémie
 - ✓ Deficit PK, Deficit G-6-PD
 - ✓ DBA, CDA
 - ✓ Sideroblastická anemie vrozená a získaná
 - ✓ Opakované krevní transfuse
- Projevy sek. přetížení železem: fibróza jater, srdeční selhání, opožděná puberta, hyperpigmentace kůže, oportunní infekce (Listeria, Yersinia, Mucor)
- Léčba: chelátory železa – Desferal, deferipron, deferasirox

Makrocytární anemie

1. S megaloblastickou kostní dřeví:

- Deficit vitaminu B12
- Deficit kyseliny listové
- Hereditární orotická acidurie

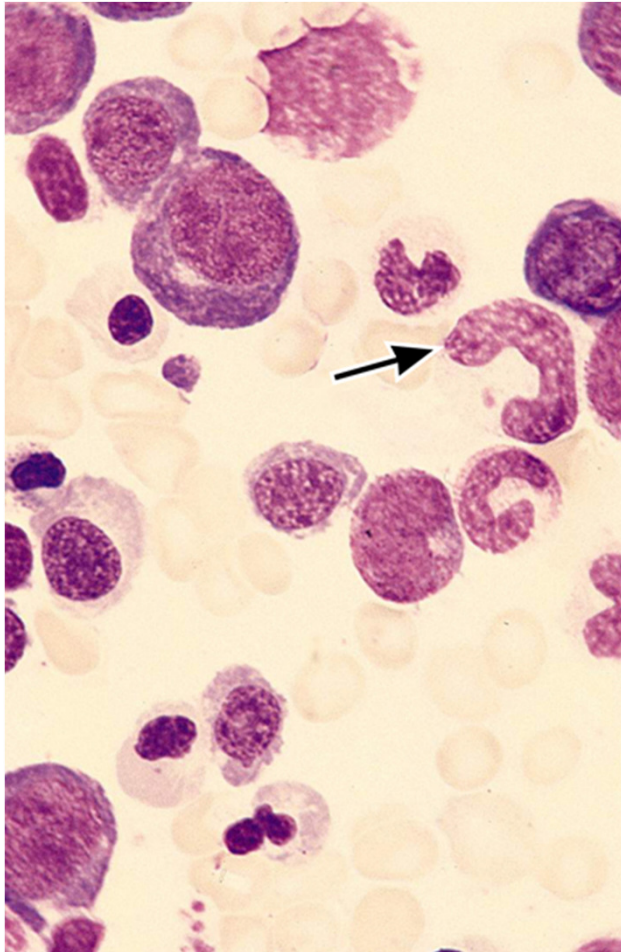
2. Bez megaloblastické kostní dřevě:

- Aplastická anemie
- Diamondova-Blackfanova anemie
- Hypothyreoidismus
- Jaterní onemocnění
- Infiltrace kostní dřevě
- Dyserythropoetické anemie

Role vitamínu B12 a folátů v organismu

- **Vitamin B12 (kobalamin)** je ve vodě rozpustný vitamín nezbytný pro vývoj centrální nervové soustavy a pro krevtvorbu.
- V organismu se uplatňuje jako kofaktor při přeměně homocysteinu na methionin a při konverzi metylmalonyl-CoA na sukcinyl-CoA. Porucha těchto reakcí vede k hromadění homocysteinu a kyseliny metylmalonové v plasmě a jejímu zvýšenému vylučování močí.
- **Foláty** se uplatňují v metabolismu aminokyselin a při syntéze purinů a pyrimidinů.
- Metabolismus kobalaminu a folátů jsou vzájemně propojené a jejich porucha vede k zvýšení obsahu RNA v krevtvorných buňkách, což se projeví snížením podílu DNA na celkovém obsahu nukleových kyselin. Morfologickým projevem je zvětšení objemu prekurzorů červené řady, gigantické myelocyty a tyče spolu s hypersegmentací jádra zralých neutrofilů v řadě bílé.
- Defekt syntézy fosfolipidů má za následek snížení tvorby bílé hmoty mozkové a rozvoj neurologické symptomatologie.

Makrocytární anemie KD + PK



Příčiny megaloblastické anemie (makrocytární anemie s megaloblastickou erythropoezou).

Deficit vitamínu B12:

1. Nedostatečný přísun v potravě
2. Nedostatečná sekrece vnitřního faktoru
 - Perniciózní anemie
 - Chronická atrofická gastritida
 - Vrozený deficit vnitřního faktoru
3. Malabsorpce v důsledku abnormalit v terminálním ileu
 - Crohnova nemoc
 - Stav po resekci ilea
 - Imerslundové-Gräsbeckův syndrom
4. Vrozené abnormality transportu vitamínu B12 nebo jeho buněčného metabolismu
 - Deficit transcobalamínu II
 - Kobalamin A-G

Deficit kyseliny listové:

1. Nedostatečný přísun v potravě
2. Malabsorpce v důsledku abnormalit v jejunu
 - Celiakie
 - Resekce jejunu
3. Získaná porucha metabolismu kyseliny listové v důsledku léčby inhibitory dihydrofolát reduktázy (MTX, Septrin)
4. Zvýšená potřeba
 - Nedonošenost
 - Chronické hemolytické anemie
 - Chronická zánětlivá onemocnění
5. Vrozené abnormality absorpce a metabolismu kyseliny listové
 - Hereditární malabsorpce folátů

Jiné příčiny megaloblastické anemie:

1. Získané abnormality syntézy nukleových kyselin v důsledku léčby analogy purinů (azathioprin, 6-merkaptopurin, 6-thioguanin, acyklovir), pyrimidinů (cytarabin), cyklofosfamidem, prokarbazinem
2. Vrozené poruchy syntézy nukleových kyselin
 - Orotová acidurie
3. Jiné – léčba antiepileptiky (kyselina valproová, karbamazepin, fenytoin), vrozené dyserythropoetické anemie I. a III. typu

Megaloblastická anemie z deficitu B12 u kojence – popis případu

- Matka 35 r, **veganka**, 12letá zdravá sestra
- Děvče, porod v termínu, p.h. 3600/50, matka v těhotenství i při kojení dodržovala přísnou veganskou dietu (vařená a syrová zelenina)
- Ve věku 8 měsíců (dosud kojena) při pravidelné prohlídce bledost, **Hb 45**, ery 1,17, **MCV 107**, retikulocyty 2,8%, leuko 3,7, S3, T0, mo 4, ly 93, **trombocyty 40**, **HJT**, BTE, anisocytóza, poikilocytóza, bilirubin 49,3, LD 19,1, ferritin 885
- Hypotonická, apatická, psychomotorická retardace, růstová retardace od 6 měsíců, NMR mozku: atrofie + subdurální efuse bilat
- Aspirát KD normocelulární, č.ř. 48%, gr.ř.24,8%, **megaloblastoidie**, dyserythropoeza

Megaloblastická anemie z deficitu B12 u kojence – popis případu

	Před léčbou	Při léčbě	Norma
Pacientka			
Homocystein	48	4,6	<12 $\mu\text{mol/l}$
B12 v krvi	36	1089	170-1117 ng/l
Matka			
Homocystein	Nevyš.		
B12 v krvi	100		

Megaloblastická anemie z deficitu B12 u kojence – popis případu

- Léčba:
- Transfuze krve, vit. B12 parenterálně dítěti i matce, změna výživy
- Laboratorní vyšetření za 3 m od Dx:
KO dítě: Hb 120, ery 4,38, MCV 79,4, leu 8,3, trombo 454, retikulo 0,55%.
Bil. 5,6, AST 0,85, ALT 0,58, LD 9,6, B12 699.

Deficit vitamínu B12 u novorozenců a kojenců

- Příčiny:
- Matka –, veganská dieta, Crohnova nemoc, ulcerózní kolitida, perniciózní anemie
- Dítě – vrozené poruchy metabolismu B12
- Diagnóza a léčba:
- Dx většinou až v kojeneckém věku, pancytopenie, makrocytární anemie, psychomotorická retardace, neprospívání, megaloblastoidie v KD ne vždy výrazná, hyperbilirbinemie, zvýšená LD, hyperferritinemie jako projev inefektivní erythropoezy
- Nízká hladina B12 v krvi dítěte/matky, efekt léčby B12

Megaloblastická anemie 1 (Imerslund-Gräsbeck) – Popis případu

- 3letá dívka s těžkou anemií po infektu (Hb 43, MCV 104) a hyperplasií megaloblastické erytroidní řady v KD, obrovské tyče a mmy s hypersegmentací polynukleárů, PCR parvovirus B19 v KD +, léčena neúspěšně IVIG
- Závislá na transfuzích ery v intervalu 6 týdnů
- Rozvoj ataxie, porucha řeči, zástava psychomotorického vývoje, rec. aftózní stomatitidy
- Metabolické vyšetření za 15 měsíců od počátku onemocnění

Vepřeková L, Čes-slov Pediat 2003

Megaloblastická anemie 1 (Imerslund-Gräsbeck) – Popis případu

	Před léčbou	Při léčbě B12	Referenční rozmezí
Hb	86	135	
MCV	102	83	
Ery	2,37	4,65	
Ferritin	1062	169	
Homocystein	155	6,4	<12 µmol/l
Kys.metylmalo nová v moči	499	< 5	<15 mmol/M kreat.
Vývojový kvocient	68	128	80-120

Megaloblastická anemie 1 (Imerslund-Gräsbeck)

- AR dědičnost
- mutace genu pro protein **cubilin** (CUBN), který váže komplex B12+IF a endocytózou ho dopraví do enterocytu
- Důsledkem je selektivní malabsorpce komplexu B12+IF
- Klinické projevy se manifestují v batolecím věku: bledost, neprospívání, stomatitida s rudým vyhlazeným jazykem, porucha řeči, ataxie a progredující psychomotorická retardace

Megaloblastická anemie 1 (Imerslund-Gräsbeck)

- Laboratorní nálezy:
- Makrocytární anemie s Howelovými-Jollyho tělísky, hypersegmentace neutrofilů, megaloblastická přestavba všech řad v KD
- Snížená sérová hladina B12, Shillingův test prokazuje poruchu vstřebávání vit. B12
- Zvýšený homocystein v krvi a metylmalonová acidurie
- Léčba:
- Parenterální aplikace B12

Normocytární anemie

1. Vrozené hemolytické anemie:

- Porucha membrány erytrocytu
- Defekty enzymů erytrocytu
- Mutace hemoglobinu

2. Získané hemolytické anemie:

- Protilátkou indukované (AIHA)
- Mikroangiopatická hemolytická anemie
- Sekundární při akutní infekci

3. Akutní ztráta krve

4. Hypersplenismus

5. Chronické renální selhání

Přehled hemolytických anemií

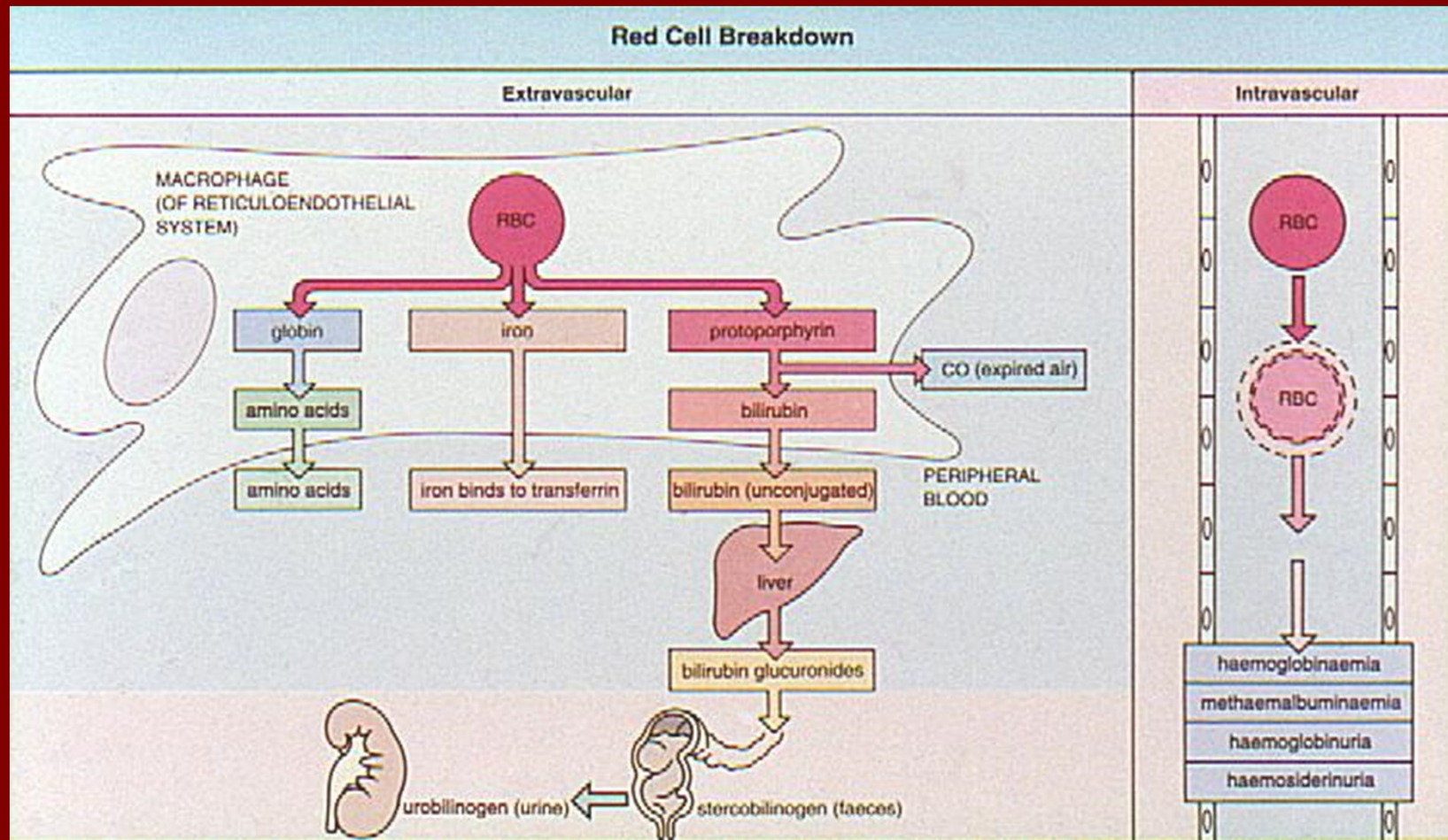
Korpuskulární příčina hemolýzy (většinou vrozené hemolytické anemie)

- Poruchy erytrocytové membrány
 - hereditární sferocytóza, eliptocytóza
 - paroxysmální noční hemoglobinurie (získané onemocnění)
- Poruchy metabolismu erytrocytů
 - defekty enzymů pentózového cyklu (defekty glukózo-6-fosfát dehydrogenázy, glutation-reduktázy)
 - defekty enzymů Embdenova Meyerhofova cyklu (defekty hexokinázy, pyruvátkinázy)
- Hemoglobinopatie (talasémie, srpkovitá anemie)

Extrakorpuskulární příčina hemolýzy

- Poškození fyzikálními a toxickými vlivy (mechanické, tepelné, bakteriální toxiny, malárie)
- Poškození protilátkami
 - Autoprotilátky
 - protilátky proti Rh (fetální erythroblastóza)
 - izoaglutininy (potransfuzní hemolytické reakce)

Hemolytické anemie: extravaskulární a intravaskulární mechanizmy rozpadu erytrocytů



Hereditární sferocytóza

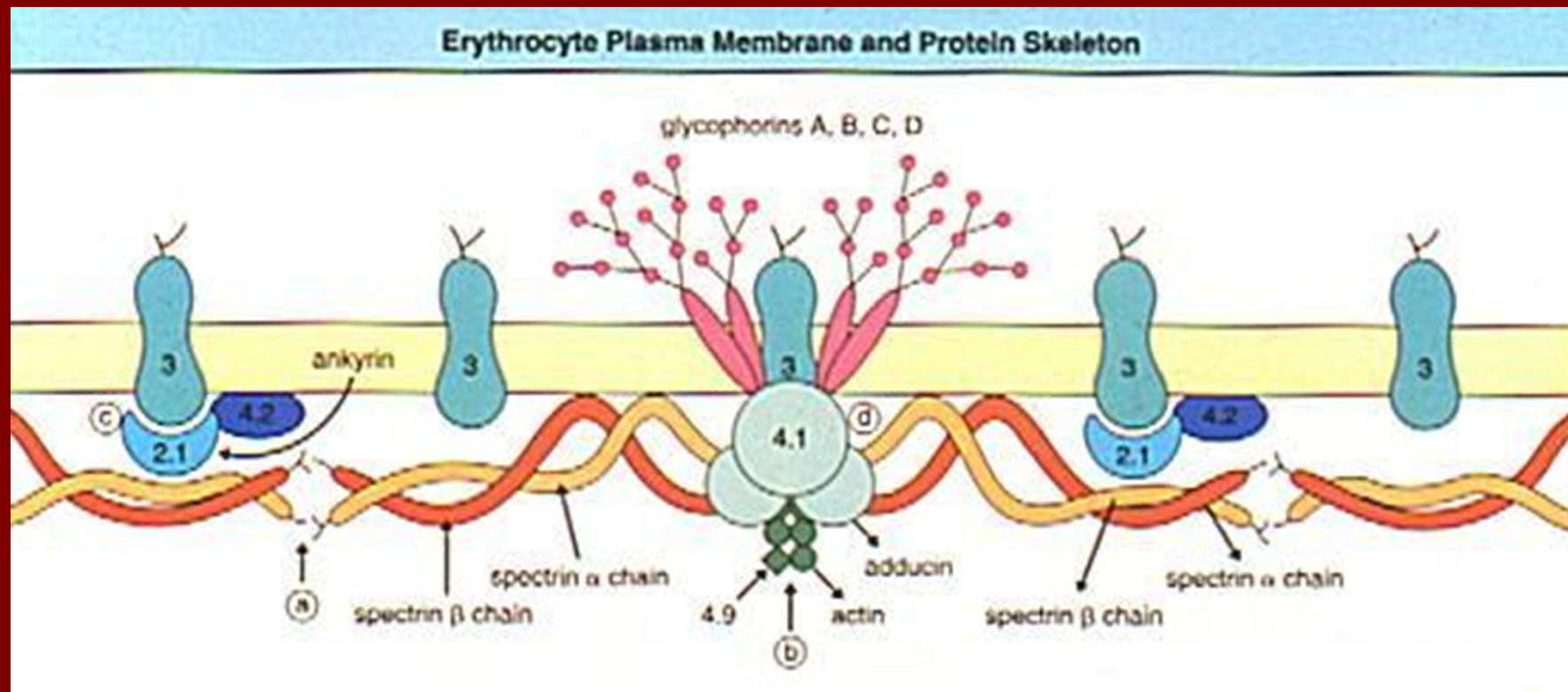
- Nejčastější hemolytická anemie způsobená defektem membrány erytrocytu
- Klinicky, biochemicky a geneticky heterogenní
- Osmoticky fragilní sferocyty jsou selektivně vychytávány ve slezině a ničeny
- Klinické projevy: anemie, žloutenka, splenomegalie
- Autosomálně dominantní dědičnost v 75% případů, autosomálně recesivní forma, *de novo* mutace

Hereditární sferocytóza

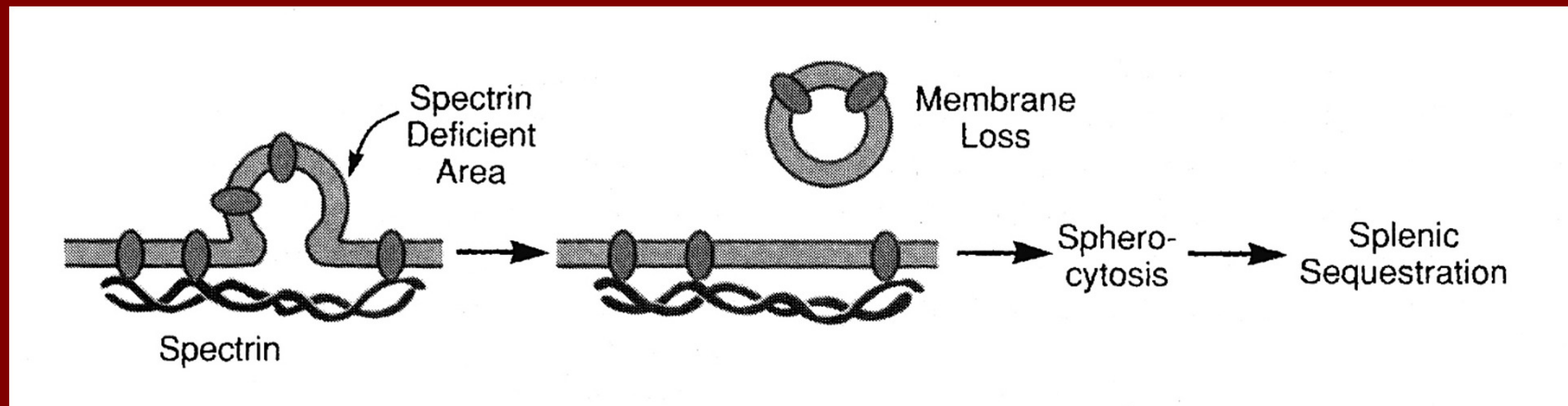
Patofysiologie

- Membrána erytrocytu: lipidová dvojvrstva + proteiny (spektrin $\alpha+\beta$, ankyrin, protein (proužek) 3, protein 4.2)
- Spektrin váže ankyrin, ankyrin a protein 4.2 se váží na cytoplasmatickou doménu proužku 3
- Porušení těchto vazeb způsobuje sferocytózu, která je důsledkem destabilizace cytoskeletu- oblasti postrádající protein –mikrovesikulace- aspirace výběžků makrofágy ve slezině – ztráta části membrány

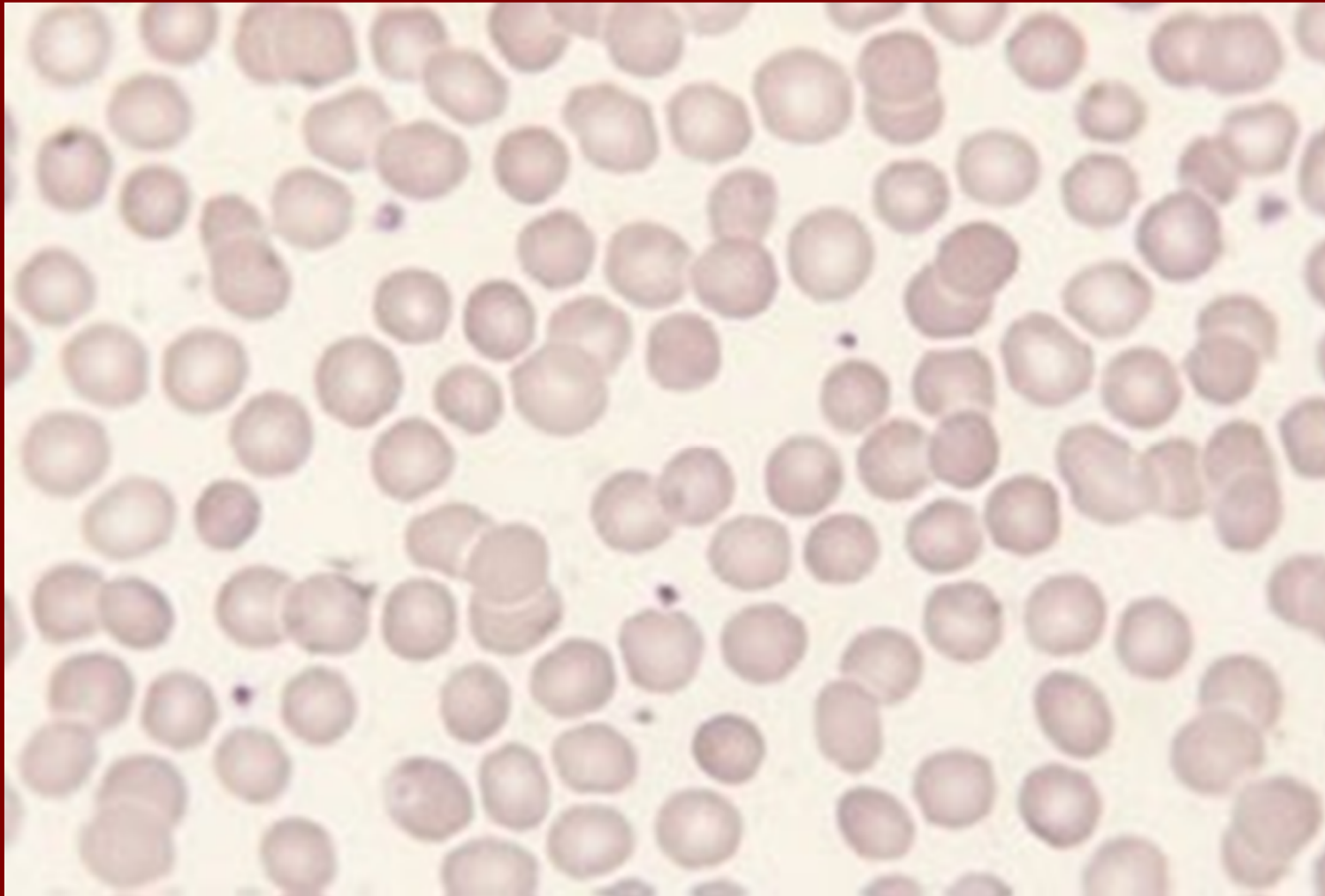
Membrána a proteinový skelet erytrocytu



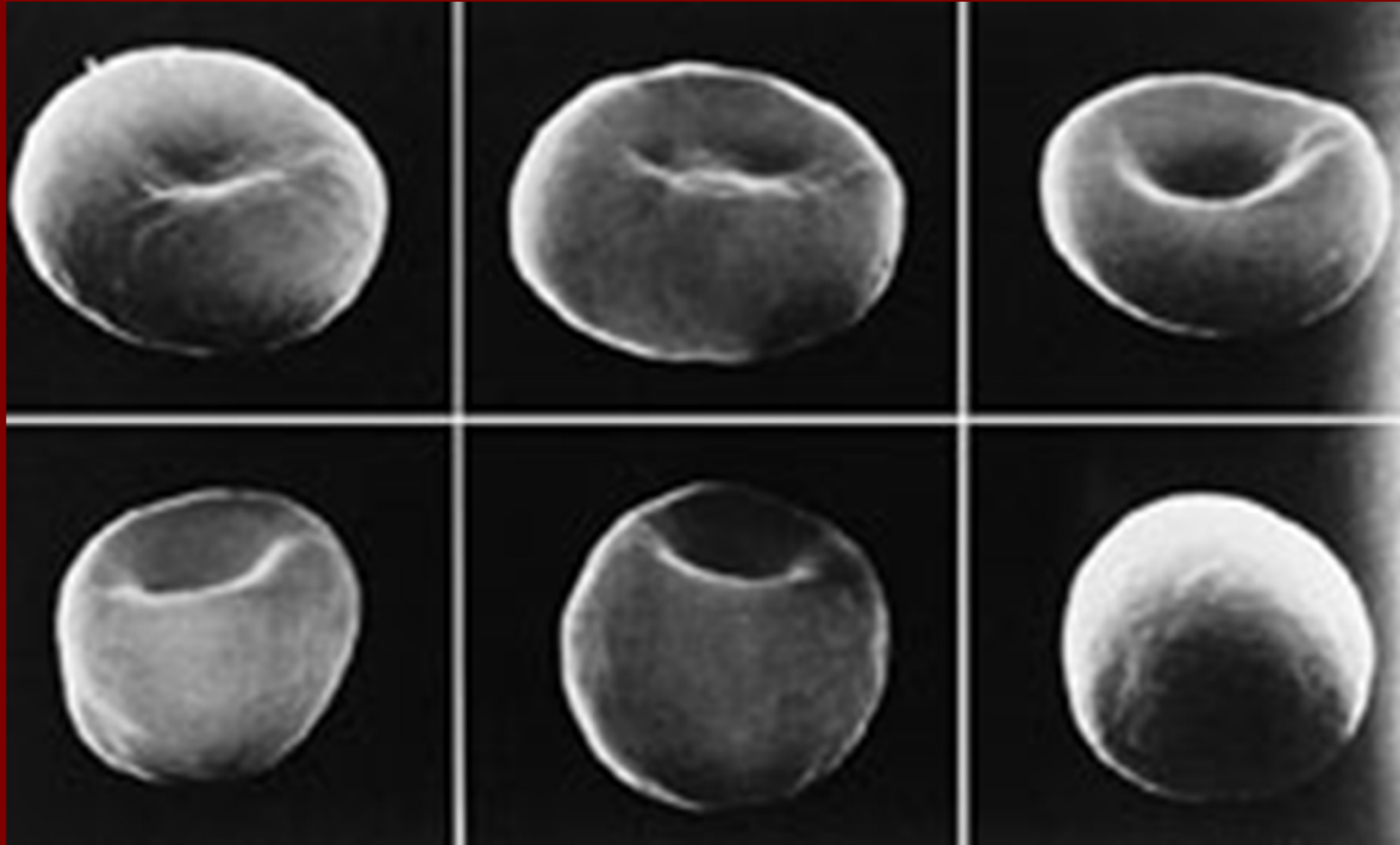
Ztráta membrány ery u HS



Hereditární sferocytóza



Scanning electron micrograph in HS



Hereditární sferocytóza

Molekulární genetika

- **HS je způsobena mutacemi v nejméně 5 genech, což má za následek defekty proteinu**
- **ANK1 gen (ankyrin) – 70% pacientů, dominantní a recesivní forma, kombinovaný deficit ankyrinu a spektrinu (ankyrin je deficitní a spektrin je nadměrně degradován)**
- **EPB3 gen (proužek 3) – 20% HS případů, dominantní forma, klinicky mírné onemocnění**
- **ELB42 gen (proužek 4.2) – recesivní forma, vysoký výskyt v Japonsku**
- **SPTB and SPTA1 geny (spektrin) – dominantní (beta) nebo recesivní (alfa) formy, mírný až středně těžký klinický obraz**

Hereditární sferocytóza

Klinické projevy

- Široké spektrum tíže onemocnění, značně homogenní v postižené rodině
- Obvykle se klinicky manifestuje v novorozeneckém období (špatná vazba HbF k 2,3-DPG, redukováná kapacita jater konjugovat bilirubin)
- Anemie činí obtíže v kojeneckém věku (pomalá odpověď KD)
- Mírná až středně těžká anemie (50-60%, trf sporadické), mírná (20-30%, kompenzovaná hemolýza, asymptomatická), těžká forma (5-7%, transfuse-dependentní)
- Problémy: aplastická krize (Parvo-B19), žlučové kameny (25% pts), hemosideróza

Hereditární sferocytóza

Diagnóza

- Normocytární anemie s retikulocytózou, hyperbilirubinemie a splenomegalie
- Pozitivní rodinná anamnéza
- Zvýšená MCHC a sferocyty v nátěru PK
- MCHC > 35.4 g/dl ve spojení s RDW > 14
- Test osmotické fragility (obsolentní), autohemolýza (obsolentní), glycerol lysis test, FCM EMA (eosin-5-maleimide reagující s proužkem 3)
- Je-li typická RA –další vyšetřování není nutné
- Je-li široká heterogenita klinických projevů v rodině: současný výskyt jiného defektu erytrocytu (β -talasemie, G-6-PD)
- Negativní RA – elektroforéza na polyakrylamidovém gelu a molekulární studie (recesivní dědičnost vs. *de novo* mutace)

Hereditární sferocytóza

Léčba

- Splenektomie je indikována u HS pts s anemií nebo signifikantní hemolýzou (retikulocyty > 5%) (prevence cholelithiázy)
- Mírná hemolýza + žlučové kameny (cholecystektomie a splenektomie)
- Splenektomie ve školním věku, totální vs. parciální, laparotomie vs. laparoskopie
- Riziko sepse (*Pneumococcus*, *H.influenzae*, *meningococcus*) – 4%, mortalita 2%
- Vakcinace nejméně 2 týdny před SE, revakcinace po 5 letech
- ATB profylaxe – PNC 250mg x2, amoxicillin 250 mg x 1 nejméně po 2 roky po SE, dále vždy při prvních projevech febrilní infekce celoživotně
- Edukace pacientů
- Suplementace kys. listovou u těžkých/středně těžkých forem
- Sledování: US žlučových cest od 5 let každé 3 roky, hematologické vyšetření při virových infekcích-riziko dekompenzace, TAC

Děvče, středně těžká HS

- **Rodinná anamnéza: otec (splenektomie v 19 r) a babička HS**
- **Věk při Dx: 2 mo**
- **Klinické projevy: 4 transfuse v předškolním věku (virové infekce), první v novorozeneckém období**
- **Hb 85-90 g/l, retikulocyty 5-9%, bilirubin 60 (konj 20)**
- **Splenektomie ve věku 8 r (splenomegalie +5 cm)**
- **KO po SE: Hb 125-145 g/l, retikulocyty 1.5%, destičky 800...600...217**
- **Bilirubin 18.5 (N 2-17)**
- **USG žlučových cest normální**
- **Současný věk: 19 r**

TAC - kasuistika

- **děvče, 3 r, HS (matka a její otec HS), Dx v novorozeneckém věku (ikterus), 2 trf v kojeneckém věku, sledována v hematologické ambulanci (Hb 90-100, retikulo 8-12%).**
- **1. a 2. den T 39st, 3. den unavená, nejí, bledá.**
- **KO 6. den: Hb 34, ery 1,35, retikulocyty 0,3%.**
- **Bledá, bilirubin 22,9/10, slezina +3 cm. Parvovirus B19 IgM a IgG pozitivní. Trf 1 TU ery masy.**

Vrozené nesferocytární hemolytické anemie z poruchy glykolýzy

- **Jediným známým zdrojem energie erytrocytu je produkce ATP glykolýzou**
- Cestou anaerobní glykolýzy (**Embdenův-Meyerhofův cyklus**) se využívá 90% glukózy, která prostoupí erytrocytární membránou. Vzniká ATP a 2,3 difosfoglycerát, regulující afinitu hemoglobinu ke kyslíku. Aerobní glykolýza je zajišťována **pentózofosfátovým cyklem**, který je zdrojem redukovaného glutationu, antioxidantního činidla, které snižuje poškození hemoglobinu a erytrocytové membrány kyslíkovými radikály.
- **Hemolytické anemie jsou důsledkem enzymových defektů v glykolýze**
- **Vrozené nesferocytární hemolytické anemie: absence sferocytů v krevním nátěru, normální osmotická fragilita, parciální léčebná odpověď na splenektomii, recesivní forma dědičnosti**

Glykolytické cykly v ery



Vrozené nesferocytární hemolytické anemie

- **Hexokinase deficiency**
- **Glucose phosphate isomerase deficiency**
- **Phosphofruktokinase deficiency**
- **Aldolase deficiency**
- **Triose phosphate isomerase deficiency**
- **Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase deficiency**
- **Phosphoglycerate kinase deficiency**
- **2,3 biphosphoglycerate mutase deficiency**
- **Enolase deficiency**
- **Pyruvate kinase deficiency**
- **Lactate dehydrogenase deficiency**
- **Pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency**
- **Adenylate kinase deficiency**

děvče, PK deficit

- **RA: negativní**
- **Věk při Dx: 3 mo**
- **Klinické projevy: neonatální hyperbilirubinemie, výměnná transfuze, závislost na transfuzích od neonatálního období po měsíci, žloutenka**
- **Splenektomie ve věku 4 r (po 35 transfuzích)**
- **Redukce transfuzí (2x/rok) dle klinických projevů, suplementace foláty**
- **Hb 70-80, ery 1.9-2.3, MCV 108-122, MCH 35-40, retikulocyty před SE 10%, po SE 60-80%**

děvče, PK deficit

- **Feritin před SE ve 4 r (35 trf): 935 μ g/l (N 7-142), po SE v 7 r (41 trf) 3 280, Desferal sc. infuse 5 dní/týden, redukce na 1 332 v 10 r, Deferipron po, ferritin ve 12 r (52 trf) 620 μ g/l**
- **Růst: 25. percentil, hmotnost: 25. percentil**
- **Bilirubin 130-170 (15)**
- **Žlučové kameny od věku 9 r**
- **Cholecystektomie ve věku 12 r (biliární obstrukce)**
- **Mezi 11. a 20. rokem (2002-2011) trf ery nepotřebovala, Hb 65, ery 1,65, MCV 125, retikulo 70-80%, trombo 900. Ferriprox 3x1 tbl (feritin 300-400 μ g/l). Stupňující se únava při zátěži před maturitou na střední ekonomické škole vyžádala 2 trf ery. V roce 2011 (20 r) předána do péče ÚHKT Praha.**
- **V roce 2018 zařazena do klinické studie léčby perorálním aktivátorem pyruvátkinázy AG-348.**

AIHA - klasifikace

Primární AIHA

- **Tepelné protilátky, IgG nebo IgG/C3 (WAIHA) – 50-70% AIHA**
- **Paroxysmální chladová hemoglobinurie, IgG/C3 (PCH) -20-30% AIHA**
- **Chladové protilátky, IgM nebo IgM/C3 (CAIHA)**
- **AIHA se smíšenými protilátkami (tepelné a chladové)**

Sekundární AIHA

- **Systémová autoimunitní onemocnění (např. lupus)**
- **Malignity (HD, NHL)**
- **Immunodeficience**
- **Léky indukovaná (penicilin, cephalosporiny)**

Immunitní clearance sensibilizovaných erytrocytů

- **WAIHA**: erytrocyty s navázanými IgG/C3 reagují s Fc/komplement receptory makrofágů ve slezině, erytrocyty jsou pohlceny a zničeny (extravaskulární hemolýza)
- **PCH**: intravaskulární hemolýza účinkem komplementu,

Charakteristika erytrocytárních protilátek

- **WAIHA**: IgG ab se váží na erytrocyty při norm. tělesné teplotě (tepelné)
- **PCH**: IgG (Donath-Landsteiner ab) se váží na ery a fixují C3 při 4⁰C, ale po ohřátí na T 37⁰C je komplement aktivován a vyvolá hemolýzu (bifázický hemolysin)

Rutinní laboratorní vyšetření

- Normochromní normocytární anemie, Hb mezi 4-7 g/dl
- Leukocyty a destičky normální
- PK nátěr: sférocyty (WAIHA), aglutinace ery (CAIHA)
- Retikulocytóza, (Retikulocytopenie)
- Volný hemoglobin v plasmě, hemoglobinurie
- Elevace LD, nízký haptoglobin, elevace nekonjugovaného bilirubinu
- Přímý antiglobulinový test (DAT nebo Coombsův test) pozitivní – prokazuje protilátky a/nebo komplement

děvče, akutní WAIHA

- **Věk při Dx: 13 r**
- **Klinické projevy: Měsíc před Dx horečnatý infekt, 10 dní před Dx únava, žloutenka, tmavá moč**
- **KO: Hb 63, ery 1.9, MCV 93.4, WBC 10.5, trombocyty 405, retikulocyty 11.1%.**
- **LD 10.1, Bilirubin 55.2 (konj 16.8), urobilinogen v moči +++**
- **Imunohematologie: DAT ++ (IgG3), anti-e specifická tepelná volná protilátka v séru**
- **Steroidy 2 měsíce, transfuse nepodána**
- **KO normalní do 2 měsíců od Dx, DAT negativní 10 měsíců od Dx**

děvče, chronická WAIHA

- **Věk při Dx: 2 r**
- **Klinické projevy: 3 týdny před Dx bledost, žloutenka, tmavá ranní moč**
- **KO: Hb 47, ery 1.14, MCV 137, retikulocyty 83.6%, erythroblasty 96/100 leu, leuko 18.2, destičky 296.**
- **LD 40.5, Bilirubin 75 (konj 17), urobilinogen + v moči,**
- **DAT +++ IgG1+IgG3/C3d, tepelná volná anti-E protilátka v séru**
- **transfuse 1 TU, steroidy ukončeny po 2 mo (DAT pozitivní, žloutenka), relaps**
- **Sledování: chronický průběh, léčba: azathioprin, steroidy, žádné transfuse, Hb 85-90, retikulocyty 10-30%, žloutenka, DAT pozitivní**
- **Kortikoidy vysazeny po roce, imuran v 9 r, v 11 letech (2013) bez léčby, norm. KO, DAT +**

chlapec, PCH

- **Věk při Dx: 3.5 r**
- **Klinické projevy: horečka 39⁰C, zvracení, průjem, tmavá moč den před Dx, žloutenka**
- **KO: Hb 81..55(trf)..51(trf)...83(D+6)...125(D+20), retikulocyty 1.5%....5.3%(D+6), leuko 25.1, trombocyty 255.**
- **LD 43.8, urea 14.1, bilirubin 52.5 (konj 7.7), hemoglobinurie**
- **DAT pozitivní C3d silně/IgG slabě, nespecifické chladové volné protilátky v séru**
- **Léčba a sledování: steroidy (pulsy 15 mg/kg x 3, prednison 2mg/kg/d, vysazen po 6 týdnech, DAT negativní po 6 týdnech**

Trombotická trombocytopenická purpura

Pentáda příznaků:

- Mikroangiopatická hemolytická anemie (schistocyty) (98% pacientů)
- Trombocytopenie (83% pacientů)
- Horečka
- Renální postižení (proteinurie/hemoglobinurie, renální selhání)
- CNS postižení (porucha vědomí)

Pacientka 17 r, získaná TTP

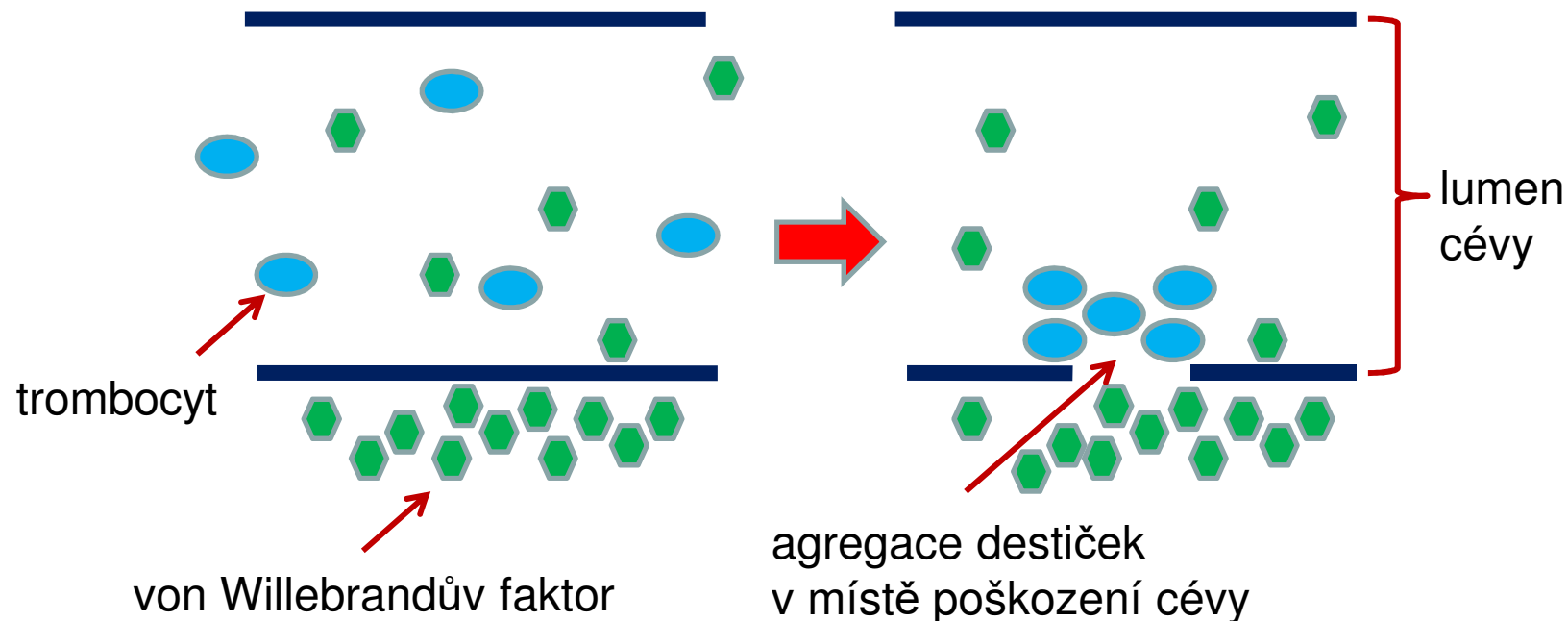
- **2 týdny před přijetím resp. infek, četnější hematomy. KO: Hb 96, ery 3,01, MCV 93, retikulo 4,5%, schistocyty 3,3%, leu 10,1, trombo 31. Bil. 37,8/12,9, LD 16,4, krea 82. Moč: bílk. +, krev ++. Depolymeráza vWf 1%, silný inhibitor. Dx. Získaná TTP. ANA+, ENA+. Léčba: 17x plasmaferéza, kortikoidy. Remise od 7/06**

TTP

- deficit aktivity enzymu - depolymerázy vW faktoru (ADAMTS13)

Von Willebrandův faktor (vWF):

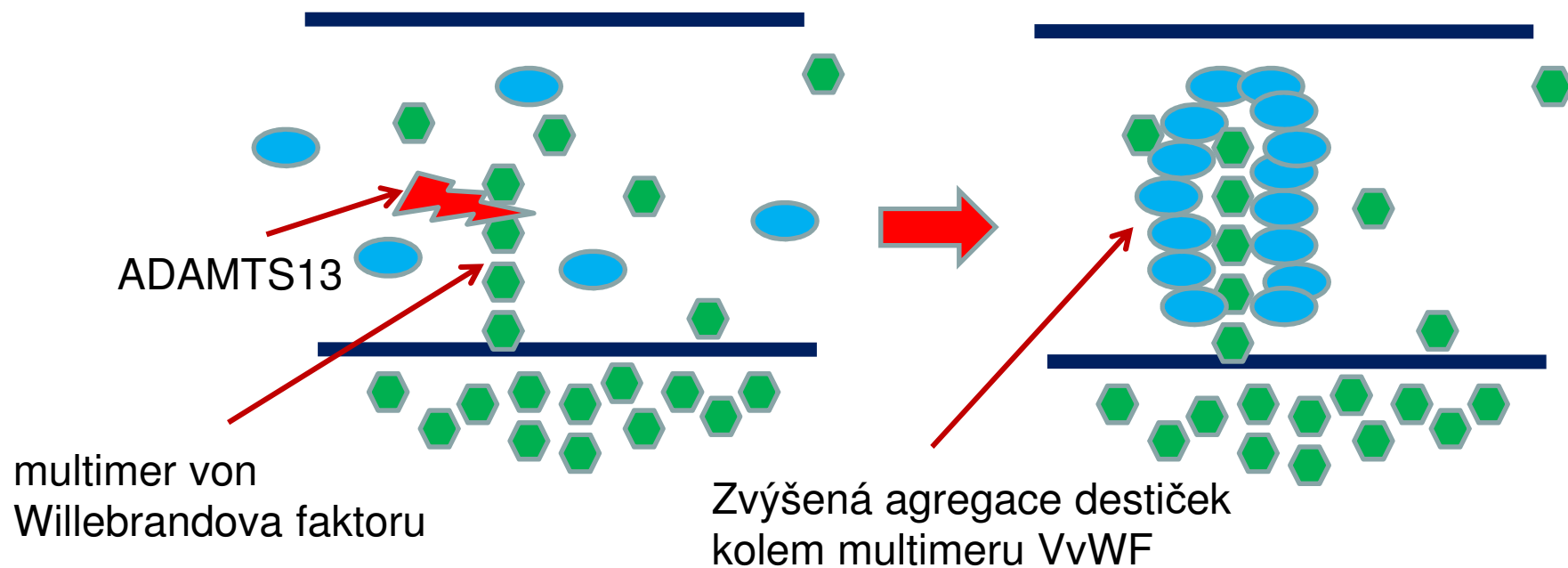
- Význam v **primární** (agregace trombo) i **sekundární** (vazba faktoru VIII) **hemostáze**



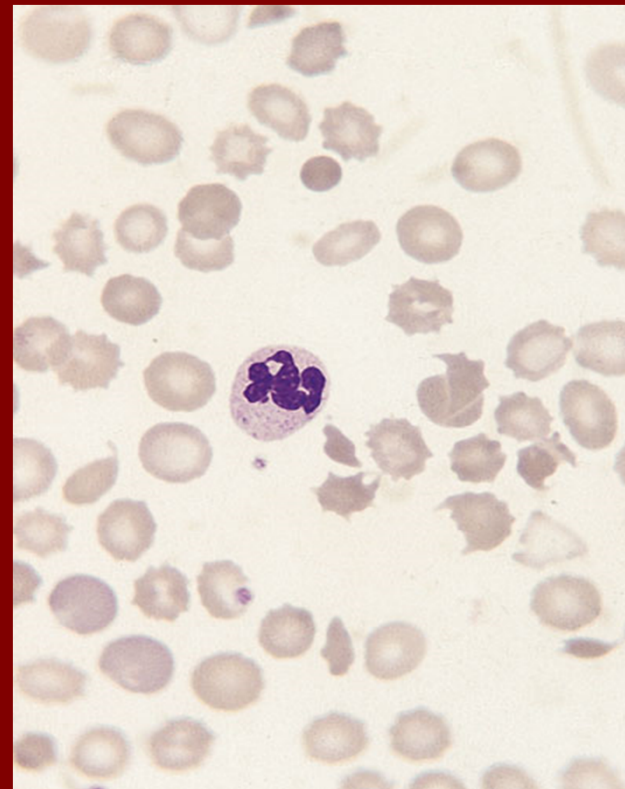
Patofyziologie TTP

vWF: tvoří se jako multimer → ADAMTS13 ho v krvi štěpí na monomery

Při deficitu ADAMTS13 zůstávají multimery →
↑ vážou trombo → **destičkové tromby** v kapilárách



Schistocyty (mikrosferocyty)



Trombotická trombocytopenická purpura

Léčba

- **Plasmaferéza, délka léčby se řídí hodnotou trombocytů**
- **Kortikoidy, aspirin, vinkristin, rituximab**
- **U vrozené formy profylaktické infúze FFP 10 ml/kg každé 2-3 týdny**
- **Rekombinantní lidská ADAMTS13 je v klinickém zkoušení**

Pacientka 15,5r, získaná TTP

- **Leden 2006: únava, kašel, hematomy, pád, chirurgické vyšetření, krevní obraz, odeslána na KDHO**
- **KO: Hb 76, ery 2,09, MCV 105,7, retikulo 5,78%, schistocyty 4,2%, leuko 3,8, trombocyty 17.**
- **Biochemismus: bilirubin 72,2/15, LD 16,8, AST 1,06, ALT 1,47, urea 5,1, kreatinin 97, haptoglobin <0,2.**
- **Moč: bílkovina +/-, urobilinogen 4, bil. 1**
- **Coombsův test negativní**
- **Depolymeráza vWf 0% aktivita, inhibitor velmi silný**
- **Léčba 33x plasmaferéza, kortikoidy, vinkristin (pomalá odpověď na léčbu -2 měsíce léčby)**

Pacientka 15,5r, získaná TTP průběh nemoci

- **4,5 m od poslední plasmaferézy infekt, hematomy, trombocyty 22, schistocyty 9promile, LD 11,2, bil. 44,7, depolymeráza vWf pod 1%, silný inhibitor – 1. relaps**
- **14x plasmaferéza, kortikoidy, ibustrin**
- **V dalším průběhu ADAMTS13 60%, inhibitor 43 U, za 5 měsíců (leden 2007) resp. infekt, únava, trombocyty 56, Hb 125, schistocyty 12 promile, LD 8,4, depolymeráza 1% aktivity, inhibitor 142 U/ml – 2. relaps**
- **ENA-SSA 1,42 (norma do 1), Schirmerův test patologický (sicca sy)**
- **20x plasmaferéza, 4x rituximab (2/2007)**