



Anémie

Rozšířené parametry červené krevní řady v diferenciální diagnostice a léčbě anémií

Anémie – základní fakta a klasifikace

Anémie je globální problém, který postihuje odhadem třetinu světové populace a týká se převážně žen a malých dětí. Podle Světové zdravotnické organizace (WHO) je anémie stav, při němž se snižuje počet erytrocytů (RBC) nebo jejich schopnost přenášet kyslík, což má za následek jeho nedostatečnou distribuci v organismu. Pro diagnózu anémie je prvním ukazatelem koncentrace hemoglobinu (HGB). Příslušné hodnoty HGB byly poprvé zveřejněny v roce 1968 expertní skupinou WHO a od té doby byly nastaveny na < 130 g/l pro zdravé muže, < 120 g/l pro zdravé ženy a < 110 g/l pro těhotné ženy [1]. V souladu s tím jsou ženy ve fertilním věku spolu s dětmi, staršími lidmi a pacienti s chronickými nemocemi nejvíce ohroženou skupinou pro možný rozvoj anémie.

Mezi typické příznaky anémie patří únava, dušnost, tachykardie a bolest hlavy. Příznaky mohou být mírné, ale mohou vést k závažnému snížení kvality života jedince. Z dlouhodobého hlediska může přetrvávající nedostatečný přísun kyslíku vážně poškodit funkci orgánů. Detekce preanemických stavů a diagnóza anémie v rané fázi vede k včasnému zahájení léčby, která zabrání nevratnému poškození. Nejčastějším typem anémie je anémie z nedostatku železa (IDA). Jiné typy anémie jsou důsledkem nedostatku vitaminů, ztrát krve a infekčních nebo chronických onemocnění. IDA je často léčena nutriční suplementací železa. Pacienti s hemolytickým, aplastickým nebo myelodysplastickým subtypem anémie nebo anémií chronických chorob (ACD) vyžadují pro adekvátní léčbu přesnou diferenciální diagnostiku, aby se předešlo progresi těžkého stavu.

Diferenciální diagnostika obvykle vyžaduje morfologickou klasifikaci RBC s měřením průměrného korpuskulárního objemu (MCV), který umožňuje rozlišovat mezi mikrocytárními, normocytárními a makrocytárními typy anémií (obr. 1). Normální hodnoty MCV se pohybují mezi 80 a 100 fl. Porucha produkce hemoglobinu, což je typické pro IDA a β -talasémii, vede k mikrocytárním RBC s MCV < 80 fl. Naproti tomu jsou hodnoty MCV > 100 fl spojeny hlavně s abnormální erythropoézou. Například vitamín B12 a nedostatek folátů způsobují makrocytární anémii s megaloblastickými RBC. Druhým podtypem makrocytární anémie je normoblastová makrocytární anémie. Normocytární anémie se vyznačuje normálními hodnotami MCV a sníženým počtem RBC v důsledku akutního krvácení, hemolýzy a/nebo chronických onemocnění (obr. 1).

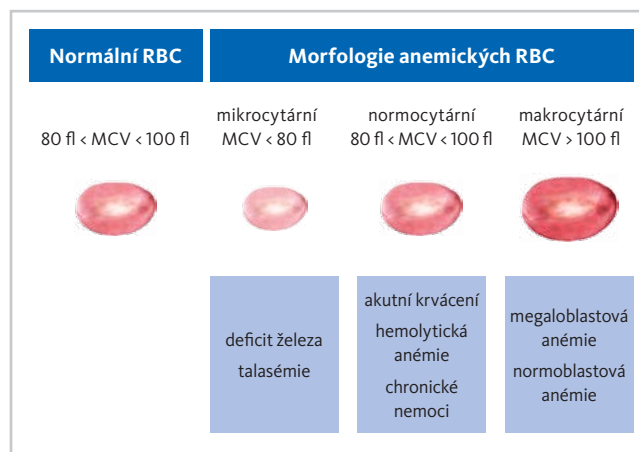
Koncentrace hemoglobinu a morfologická klasifikace RBC poskytují cenný klinický vzhled na hodnocení anémie, zejména pokud se jedná o anémii z nedostatku železa nebo vitamínů. Efektivní lékařské intervence závisí především na přesné diferenciální diagnostice. Moderní automatizované hematologické analyzátoři nabízejí řadu pokročilých parametrů červené krevní řady, které diferenciální diagnostiku podporují. Pokročilé parametry, jako je procento mikrocytárních a hypochromních RBC, postupné dozrávání retikulocytů, nezralé retikulocyty a ekvivalent obsahu hemoglobinu v retikulocytech (RET-H_e), poskytují podrobné informace o specifických populacích buněk. Využití těchto parametrů v klinické praxi bylo prokázáno v mnoha studiích, které jsou shrnuty v následujících odstavcích.

RET-H_e a CHr – dva srovnatelné parametry

Hemoglobin v retikulocytech vydávají dva různé systémy hematologických analyzátorů pod odlišnými názvy: obsah hemoglobinu v retikulocytech (CHr), poskytovaný některými hematologickými analyzátoři Advia® společnosti Siemens Healthineers, a ekvivalent obsahu hemoglobinu v retikulocytech (RET-H_e) od společnosti Sysmex.

Několik studií ukázalo, že oba tyto parametry mají stejný klinický význam a vzájemnou silnou shodu u pediatrických pacientů (RET-H_e a CHr; $y = 1,04 \cdot x - 1,06$; $r^2 = 0,88$) i dospělých (RET-H_e a CHr; $y = 1,06 \cdot x - 0,43$; $r^2 = 0,83$) [31].

Také Jarc *et al.* našli lineární korelaci mezi RET-H_e a CHr ($r = 0,895$) a poskytli cut-off hodnoty pro identifikaci nedostatku železa u anémie z nedostatku železa. Celkově tyto studie ukazují, že CHr a RET-H_e jsou ekvivalentní a přímo srovnatelné parametry [26, 31, 32].



Obr. 1 Morfologická klasifikace anémie pomocí MCV.

Nízké hodnoty MCV indikují přítomnost mikrocytární anémie, která může být způsobena nedostatkem železa nebo talasémií. Normocytární typy anémie mohou být způsobeny akutním krvácením, zvýšenou hemolýzou nebo chronickými chorobami, u žádných z nich se MCV nemění. Makrocytární anémie je charakterizována zvýšeným MCV a dále se dělí na normoblastovou anémii, způsobenou zhoršenou erythropoézou, a megaloblastovou anémii, způsobenou nedostatkem vitamínu B12 nebo folátu.

Detekce latentního nedostatku železa

Suplementace železa je ovlivněna příjmem potravy. Nedostatek železa často začíná latentně, bez příznaků, s normálními hodnotami MCV a HGB, a s velkou pravděpodobností se po určité době projeví jako IDA. Riziko vážných komplikací v důsledku latentního nebo silného nedostatku železa (ID) hrozí obzvláště těhotným ženám. Totéž platí pro batolata a děti, protože jejich těla vyžadují vysokou úroveň hladiny železa pro rychlý růst a rozvoj. Diagnostika latentního ID v subklinické fázi je zásadní pro včasný zásah do úpravy diety nebo farmakologické suplementace železa.

Obsah hemoglobinu v retikulocytech nebo ekvivalent obsahu hemoglobinu v retikulocytech (CHr/RET-H_e, viz rámeček) je velmi citlivý pokročilý klinický parametr pro predikci nedostatku železa. Pro tento přístup byl obsah hemoglobinu v retikulocytech (CHr) zkoumán ve skupině vysoce rizikové populace. Studie provedená Ullrichem *et al.* prokázala v kohortě pediatrických pacientů lepší výsledky při použití parametru CHr pro predikci zásob železa u 9–12měsíčních kojenců [2]. Autoři určili ideální cut-off hodnotu parametru CHr 27,5 pg pro kojence s vysokou pravděpodobností následného rozvoje anémie se senzitivitou 83 % a specificitou 72 %. U dospělé populace Toki *et al.* porovnali RET-H_e s klasickými biochemickými parametry pro přesný screening ID [3]. Cut-off hodnota byla nastavena na 28,4 pg s odpovídající senzitivitou 68 % a specificitou 91 %.

Výsledky odpovídají klasickým biochemickým hodnotám a ukazují srovnatelnou přesnost diagnostiky ID. Podobné cut-off hodnoty byly použité ve studii hodnotící RET-H_e jako rutinní screeningový nástroj pro latentní ID u dárců krve (HGB > 125 g/l) [4]. Cut-off hodnota RET-H_e byla nastavena na 28 pg se senzitivitou 91,2 % a specificitou 97,2 % ve srovnání s hodnotou solubilního transferinového receptoru (sTfR). Postmenopauzální zdánlivě zdravé ženy byly vyšetřeny Urrechagou *et al.* se závěrem, že parametr RET-H_e vykazuje významné rozdíly mezi osobami s latentními ID a osobami bez ID [5].

Všechny uvedené studie poukázaly na výhody měření obsahu/ekvivalentu obsahu hemoglobinu v retikulocytech pro hodnocení stavu zásob železa v rané fázi anémie. Analýza je rychlá, nákladově efektivní a porovnatelná nebo lepší než konvenční biochemické markery, což dokazuje, že se jedná o vhodný screeningový parametr pro latentní ID.

Využití rozšířených parametrů červené krevní řady při léčbě mikrocytární anémie

Detekce anémie z nedostatku železa

Odhaduje se, že hlavní příčinou všech diagnostikovaných anémii je až v 50 % nedostatek železa [1]. Referenční metodou pro hodnocení zásob železa v kostní dřeni a detekci nedostatku železa je barvení berlínskou modří [6, 7]. Tato metoda však vyžaduje aspiraci kostní dřeni, což je invazivní a bolestivý výkon. Alternativně jsou běžnými biochemickými indikátory nedostatku železa sérové hladiny feritinu, procento saturace transferinu (sTRF), celková vazebná kapacita železa (TIBC) a receptory solubilního transferinu (sTfR) [6]. Tyto parametry však mají svá omezení. Procento saturace transferinu je ovlivňováno denními výkyvy železa v séru a sérový feritin je reaktant v akutní fázi, oba parametry nemusí být v případě přítomnosti zánětu spolehlivé [8, 9]. Oproti těmto parametrům odráží RET-H_e obsah hemoglobinu v retikulocytech. V periferní krvi dozrávají jeden až dva dny, a proto poskytují informace o dostupnosti železa v kostní dřeni a jeho začlenění do hemoglobinu v reálném čase. RET-H_e není ovlivněn reakcí akutní fáze [10, 11] a vykazuje mnohem nižší stupeň biologických variací než sTRF a feritin (tabulka 1) [12].

Mehta *et al.* zkoumali schopnost RET-H_e a sérového feritinu hodnotit železo v kostní dřeni u IDA v kohortě dospělých pacientů. Jejich výsledky ukázaly vysokou korelaci mezi RET-H_e a sérovým feritinem ($r = 0,786$; $P < 0,0001$). Parametr RET-H_e je o něco lepší v predikci zásob železa v kostní dřeni s plochou pod křivkou (AUC) 0,894 ve srovnání s 0,891 pro sérový feritin [7].

Tabulka 1 Analytické a biologické rozdíly v parametrech hodnotících anémii a stav železa, převzato z [12].

Zdroj variability	Variační koeficient (%)				
	HGB	HCT	RET-H _e /CHR	sTRF	Feritin
analytický	2,0	2,2	2,4	2,7	6,9
biologický	4,0	4,0	4,8	38,0	15,1
souhrnně	6,0	6,2	7,2	40,7	22,0

HGB: hemoglobin, HCT: hematokrit, RET-H_e/CHR: hemoglobin v retikulocytech, sTRF: saturace transferinu

Buttarello *et al.* srovnávali efektivitu parametru HYPO-H_e, které udává procento RBC s obsahem hemoglobinu < 17 pg, s parametrem RET-H_e v diagnostice stavů s nedostatkem železa, které byly definovány hladinami feritinu v séru < 15 µg/l (12 µg/l u žen) a sTRF < 16 %. RET-H_e (cut-off 30,6 pg) vykazuje se senzitivitou 93,1 % a specificitou 95,1 % pozoruhodnou schopnost identifikovat IDA lépe než HYPO-H_e (cut-off 0,9 %), které dosáhlo senzitivity 84,5 % a specificity 95,7 % [6].

Tyto studie ukázaly, že pokročilé parametry červené krevní řady, zejména parametr RET-H_e, jsou slibným nástrojem pro detekci IDA a hodnocení zásob železa v kostní dřeni. Odlišit anémie z nedostatku železa od β-talasémie však tyto parametry neumožňují. Proto by měly být u populací s vysokou prevalencí β-talasémie používány s opatrností.

Diferenciální diagnostika mikrocytární anémie a β-talasémie

Ačkoli jsou IDA a β-talasémie různé etiologie, společný pokles MCV ztěžuje jejich rozlišení klasickými hematologickými parametry. Nejspolehlivější metodou diagnostiky β-talasémie je měření koncentrace HbA₂ pomocí kapalinové chromatografie (HPLC). Při hledání rychlého a snadno použitelného screeningového nástroje použilo několik autorů klasické parametry erytrocytů, jako jsou MCV, MCH, HGB a RDW, k vývoji algoritmů s cílem odlišit IDA od pacientů s β-talasémií. Ukázalo se, že tyto algoritmy nejsou k rozlišení pacientů s IDA a nositelů β-talasémie vhodné. S dostupností pokročilých parametrů červené krevní řady se zájem o tyto algoritmy obnovil [13]. Například Urrechaga *et al.* vyvinuli index, který kombinuje MicroR (procento mikrocytárních RBC s objemem < 60 fl) a HYPO-H_e (procento hypochromních RBC s obsahem HGB < 17 pg) společně s RDW. Takzvaný *index M-H-RDW* poskytuje pro screening β-talasémie senzitivitu 100 % a specificitu 92,6 % při cut-off hodnotě -7,6 [13].

Schoorl *et al.* vyvinuli šest algoritmů. Tři pro IDA a tři pro β -talasémii, které lze použít v závislosti na definovaných předpokladech k rozlišení IDA a β -talasémie (obr. 2) [14].

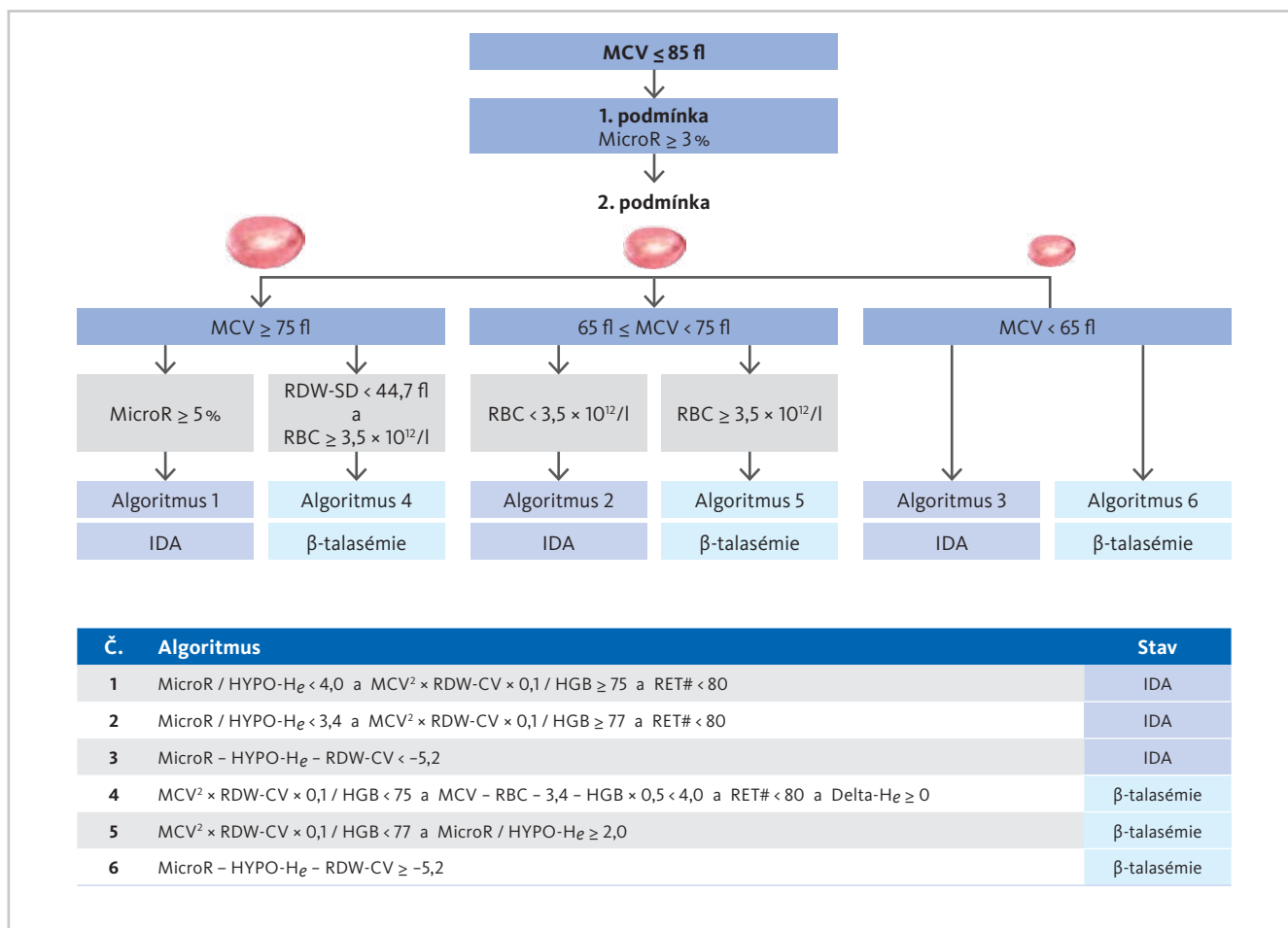
Například pro identifikaci pacienta s mikrocyty ($MCV \leq 85$ fl) by měla být mikrocytární erythropoéza potvrzena pomocí $MicroR \geq 3\%$, což je první podmínka. Použití rozmezí MCV jako druhé podmínky v kombinaci s hraničními hodnotami $MicroR$, RDW a/nebo RBC určuje, který algoritmus by měl být použit k identifikaci IDA (algoritmy 1–3) nebo β -talasémie (algoritmy 4–6). Přímé srovnání diagnostické efektivity ve sledované kohortě, která se skládala ze 142 IDA, 34 β -talasémií a 309 zdravých subjektů, odhalilo, že nově vyvinuté algoritmy fungovaly lépe než dříve publikované indexy. Algoritmy 1–3 (IDA) vykázaly senzitivitu 79 % a specifitu 97 %, zatímco algoritmy 4–6 (β -talasémie) prokázaly senzitivitu 74 % a specifitu 98 % [14].

Kombinace pokročilých parametrů červené krevní řady s obvyklými indexy představuje cenný nástroj, který zlepšuje screening β -talasémie a pomáhá při diferenciální diagnostice IDA a β -talasémie.

Využití pokročilých parametrů červené krevní řady při léčbě anémie chronických onemocnění

Rozlišení anémie z nedostatku železa a anémie chronických onemocnění (ACD)

ACD je druhým nejrozšířenějším typem anémie na světě. Může se vyvinout z mnoha různých etiologií, například poruch ledvin a malignit. Ve většině případů se ACD vyvíjí jako normocytární anémie, což znamená, že nejsou ovlivněny hodnoty MCV. Ukázalo se, že biochemické markery, jako je sTfR a poměr sTfR/log feritin, jsou v klinickém použití spolehlivé, ale mají svá omezení.



Obr. 2 Rozlišení IDA a β -talasémie pomocí šesti nových algoritmů autorů Schoorl *et al.*

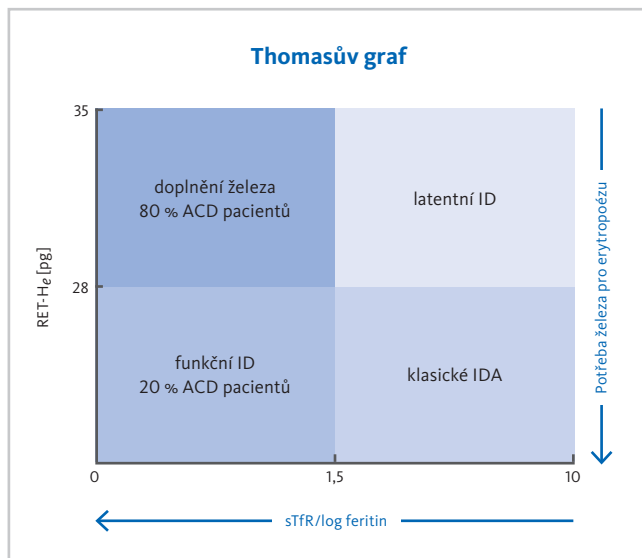
Po identifikaci mikrocytárních RBC ($MCV \leq 85$ fl) se k potvrzení mikrocytózy použije první podmínka ($MicroR \geq 3\%$). Pro kategorizaci této mikrocytózy jsou jako druhá podmínka využity tři různé rozsahy MCV. Po druhé podmínce se další kritéria rozhodování řídí buď vhodným algoritmem k identifikaci IDA, nebo algoritmem k identifikaci β -talasémie. Vzorce příslušných algoritmů jsou uvedeny v tabulce pod vývojovým diagramem. Parametry použité v algoritmech jsou vyjádřeny v těchto jednotkách: $Delta-H_e$ (pg), HGB (g/l), HYPO- H_e (%), MCV (fl), $MicroR$ (%), RBC ($\times 10^{12}/l$), RDW-CV (%), RDW-SD (fl), $RET\#$ ($\times 10^9/l$).

Převzato a upraveno ze [14].

Klasické IDA, ACD a kombinace ACD/IDA je přesto obtížné rozlišit. Jelikož je RET-H_e využíván v určitých kohortách pacientů jako užitečný parametr pro detekci ID a IDA, je považován za užitečný i při rozlišení mezi pacienty s IDA a ACD. Studie Canals *et al.* uvádí významné rozdíly v hodnotách RET-H_e mezi pacienty s IDA a ACD [15]. Schopnost RET-H_e rozlišovat IDA od ACD byla dále potvrzena Urrechaga *et al.* Je zajímavé, že nejen RET-H_e, ale také HYPO-H_e vykazuje významné rozdíly mezi pacienty s nedostatkem železa, chronickým onemocněním ledvin (CKD) a pacienty hemodialyzovanými [11, 16].

Užitečným nástrojem pro rozlišení klasické IDA od ACD a kombinovaného stavu funkčního deficitu železa s ACD je takzvaný *Thomasův graf*, který vyvinuli Thomas *et al.* Diagnostický graf se čtyřmi kvadranty kombinuje RET-H_e s poměrem sTfR/log feritin a je vodítkem pro rozhodnutí o léčbě. Ukazuje, zda je použitelná suplementace železem (IDA a ACD s IDA) nebo aplikace erythropoetinu (ACD a ACD s IDA) (obr. 3) [10].

Ukázalo se, že Thomasův graf je efektivní u předoperační léčby anémie. Enko *et al.* použil Thomasův graf jako rozlišovací nástroj u pacientů s předoperační anémií (HGB < 130 g/l) k rozhodnutí o podání 200 mg železa intravenózně a 40 000 IU látek stimujících erythropoézu (ESA) v případě, že graf ukázal na ACD,

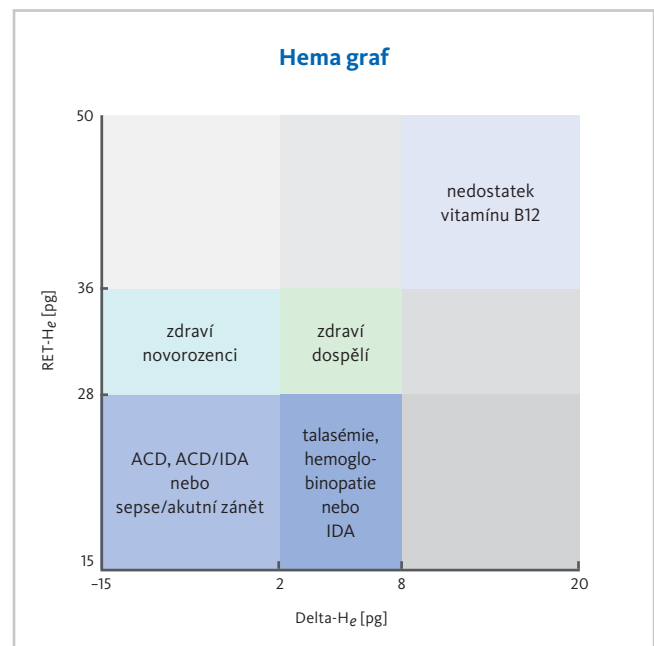


Obr. 3 Diagnostický diagram pro hodnocení stavu železa při nedostatku železa (ID) podle Thomase *et al.* Thomasův graf je rozdělen na čtyři kvadranty a vyhodnocuje sTfR/log feritin a RET-H_e. Poskytuje informace o stavu s nedostatkem železa a pomáhá odlišit IDA od ACD. Převzato z [10].

nebo s 1000 mg železa intravenózně a 10 000 IU ESA u pacientů s ID nebo kombinací ACD/ID. Při použití těchto kritérií vykazovali pacienti s plánovanou operací kyčle nebo kolena vyšší hladiny HGB před a po operaci ve srovnání s neléčenými pacienty s anémií a bylo potřeba aplikovat o 44 % méně transfuzních jednotek erytrocytů [17].

Kromě RET-H_e se ukázal také Delta-H_e jako užitečný parametr při léčbě anémie a diferenciální diagnostice ACD/IDA [18]. Delta-H_e představuje rozdíl mezi obsahem hemoglobinu v retikuloocytech a erytrocytech, což odráží trend inkorporace železa do retikuloocyty.

Weimann *et al.* vyvinuli kombinací Delta-H_e a RET-H_e nový diagnostický graf. *Hema graf* (obr. 4) poskytuje rychlé informace o změnách v erythropoéze, které pomáhají odhalit hlavní příčinu anémie související s typem onemocnění během zánětlivých stavů [18]. Je zajímavé, že oba parametry, Delta-H_e a RET-H_e, byly schopny rozlišit pacienty s ACD a sepsí nezávisle na podání terapie, což z nich dělá zajímavé parametry pro monitoring terapie.



Obr. 4 Hema graf pro management různých typů anémie specifických pro dané onemocnění [18]. Hema graf rozdělený na devět oblastí kombinuje hodnoty RET-H_e a Delta-H_e. Pozice jsou postupně očíslovány od jedné do devíti a pacientům lze přiřadit příslušné hodnoty dvou biomarkerů. Převzato z [18].

Nedostatek železa a management anémie při poruchách ledvin

U chronického onemocnění ledvin (CKD) se anémie vyvíjí z důvodu narušení erythropoézy, které je často způsobeno nedostatečnou produkcí erythropoetinu (EPO). Podávání ESA, jako je rekombinantní lidský erythropoetin (rHuEPO), je účinnou léčbou a má potenciál plně obnovit zhoršenou produkci erytrocytů. Terapeutickou účinnost rHuEPO však významně omezuje nedostatečná dostupnost železa způsobená absolutním nebo funkčním nedostatkem železa [19]. Proto je nutná identifikace pacientů, kteří potřebují další doplnění železa. Ukázalo se, že biochemické parametry, jako je sérový feritin a saturace transferinu, jsou při hodnocení funkčního deficitu železa za přítomnosti zánětu méně přesné [6]. Některé postupy pro klinickou praxi proto doporučují využít procento hypochromních erytrocytů a ekvivalent obsahu hemoglobinu v retikulocytech jako parametry pro hodnocení nedostatku železa a úspěšnosti léčby železem u pacientů s CKD (obr. 5) [20, 21].

Počáteční hodnocení nedostatku železa u CKD

Hodnocení krevního obrazu

- HGB < 110 g/l
- parametry RBC (MCH, MCHC, MCV)
- počet leukocytů a diferenciální rozpočet
- počet trombocytů a retikulocytů

Hodnocení dostupnosti železa

- HYPO-H_e % (stáří vzorku < 6 h)
- RET-H_e
- sérový feritin
- CRP

Terapie železem

- HYPO-H_e < 6 %
- RET-H_e > 29 pg
- feritin > 100 µg/l
- sTRF > 20 %

Obr. 5 Doporučení asociace pro klinickou praxi u anémii při chronickém onemocnění ledvin [21].

Studie ukazují, že RET-H_e lze použít k hodnocení úspěšnosti suplementace železem u pacientů s CKD podstupujících hemodialýzu [22]. RET-H_e je také užitečným parametrem pro vyhodnocení potřeby suplementace železa během léčby rHuEPO [20]. Zejména u dětí na chronické dialýze, kdy je anémie z nedostatku železa častější než nedostatečná produkce EPO, bylo prokázáno, že RET-H_e je mnohem lepším biomarkerem nedostatku železa než sTRF a feritin [23].

U pacientů podstupujících peritoneální dialýzu v konečném stadiu onemocnění ledvin (ESRD) pozorovali Danielson *et al.* korelaci Delta-H_e s markery zánětu IL-6 a hs-CRP. Tato studie navíc odhalila souvislost Delta-H_e s odpovědí na léčbu ESA a rizikem úmrtí z jakékoli příčiny a prokázala, že je užitečným markerem pro hodnocení rizika a predikci odpovědi ESA u pacientů s ESRD podstupujících peritoneální dialýzu [24].

Stručně řečeno, RET-H_e je cenným parametrem pro hodnocení stavu železa u pacientů s CKD a je spolehlivějším než jiné biochemické parametry. Zejména u pacientů podstupujících hemodialýzu je použití RET-H_e výhodné a umožňuje upravit suplementaci železem a terapii EPO podle potřeb pacienta. Kromě RET-H_e je také velmi zajímavý parametr Delta-H_e jako alternativní marker zánětu pro predikci odpovědi na léčbu ESA a hodnocení rizik u onemocnění ledvin.

Referenční meze pokročilých parametrů červené krevní řady

U pokročilých parametrů červené krevní řady nebyly referenční meze pro zdravou skupinu bělochů dosud zveřejněny. V nedávné studii z Nizozemí však van Pelt *et al.* analyzovali 12 782 vzorků krve zdravých jednotlivců a navrhli pro tyto parametry referenční meze (tabulka 2) [33]. I přes tyto komplexní údaje a stanovené referenční rozsahy je vhodné v dané populaci stanovit referenční meze dle doporučení Mezinárodní federace klinické chemie a laboratorní medicíny [30].

Tabulka 2 Referenční meze pro pokročilé parametry červené krevní řady vydávané hematologickými analyzátoři řady XN společnosti Sysmex [33].

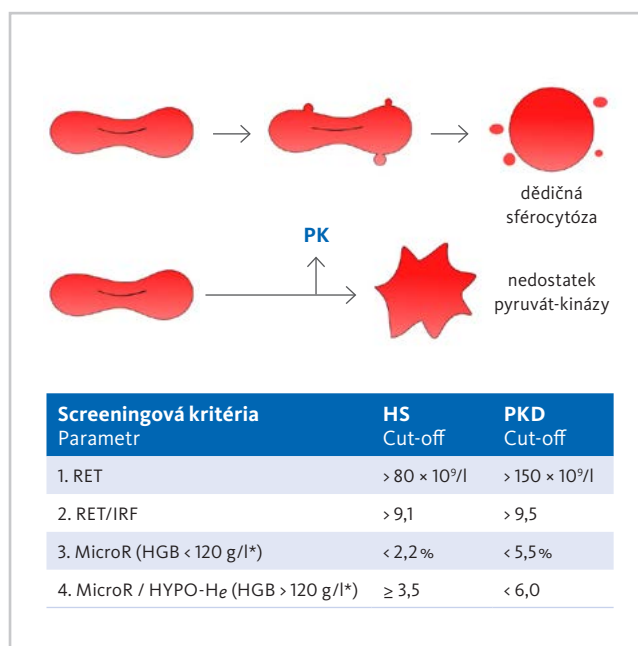
XN parametry	Referenční meze
RET-H _e	29,7–35,4 pg
IRF	2,7–14,9 %
Delta-H _e	1,4–3,7 pg
MicroR	0,3–3,9 %
MacroR	2,9–4,8 %
HYPO-H _e	0,0–0,2 % (muži) 0,0–0,4 % (ženy)
HYPER-H _e	0,5–0,9 % (muži) 0,4–0,8 % (ženy)

Diferenciální diagnostika vzácné hemolytické anémie

Hemolytické anémie, jako je dědičná sférocytóza (HS) a nedostatek pyruvát-kinázy (PKD), jsou klasifikovány jako normocytární typy anémie. Kvůli nedostatku senzitivity a specifity běžně používaných metod je jejich diferenciální diagnostika obzvláště náročná [25]. HS se vyvíjí z molekulárních defektů, které vedou k abnormalitám struktury membrány a tvorbě sférických tvarů erytrocytů.

V této souvislosti se ukázalo, že normální krevní obraz s mírně zvýšenou hodnotou MCHC je relevantní pro identifikaci pacientů s chorobami membrány erytrocytů včetně HS. Společnost Sysmex nabízí volitelnou aplikaci CBC-O, která umožňuje vysoce citlivou detekci onemocnění erytrocytů pomocí skóre RBC [26]. Hledání snadno použitelného nástroje pro screening HS založeného na rutinních hematologických parametrech odhalilo, že s HS je spojena se zvýšeným počtem retikulocytů (RET) a zvýšeným poměrem celkových retikulocytů k nezralé frakci retikulocytů (RET/IRF). Toto vedlo k implementaci parametrů do doporučení Mezinárodní rady pro standardizaci v hematologii (ICSH) jako kritéria pro diagnostiku HS [27, 28]. Kritéria vycházejí ze studie provedené Mullierem *et al.*, který použil počet retikulocytů $\geq 80 \times 10^9/l$ a $RET/IRF > 7,7$ k identifikaci pacientů s HS. Studie také ukázala, že $RET/IRF > 16$ lze použít k identifikaci mírné HS a dále definovat její závažnost podle $MicroR \geq 3,6 \%$ a $MicroR/HYPO-H_e \geq 2,5$ (střední) a $\geq 2,0$ (těžké). Tento nástroj přizpůsobili Persijn *et al.*, který zjistil lepší výkonnost zvýšením cut-off hodnoty počtu retikulocytů na $\geq 100 \times 10^9/l$ a snížením cut-off hodnoty pro $MicroR$ na $\geq 2,6 \%$ [29].

Na základě těchto studií vyvinuli Bobée *et al.* specifický a snadno použitelný screeningový nástroj pro HS, který dosáhl kombinací poměru RET/IRF s hladinou hemoglobinu, počtem retikulocytů, $MicroR$ a $HYPO-H_e$ senzitivitu 100 % a specifitu 92,1 %. Za použití stejných parametrů vyvinuli Bobée *et al.* také kritéria pro diagnostiku PKD a zavedli první screeningový nástroj založený na automatizovaném hodnocení krevního obrazu pro identifikaci pacientů s PKD se senzitivitou 100 % a specifitou 96,5 % (obr. 6). Jak screeningová kritéria HS, tak PKD se ukázala jako účinná u pacientů s HS s anémií a u dětí mladších tří let [25].



Obr. 6 Schéma abnormální membrány erytrocytů u HS a PKD a příslušná screeningová kritéria založená na pokročilých parametrech červené krevní řady pro hematologickou identifikaci pacientů s HS a PKD.

Použitím rozšířených parametrů červené krevní řady vyvinuli Bobée *et al.* screeningový nástroj pro HS, který umožňuje identifikovat pacienty s HS a PK s danými cut-off hodnotami pro počet retikulocytů (RET), poměr retikulocytů k nezralé frakci retikulocytů (RET/IRF), procento mikrocytárních erytrocytů ($MicroR$) v závislosti na HGB a poměr mikrocytárních k hypochromním erytrocytům ($MicroR/HYPO-H_e$) v závislosti na HGB. Převzato z [25].

*Koncentrace HGB jsou brány v úvahu pouze u pacientů s HS.

Shrnutí a závěr

Moderní hematologické analyzátoři měří velké množství různých parametrů, které umožňují získat rychlý a jasný obraz o stavu anemického pacienta. Několik studií ukázalo, že pokročilé parametry červené krevní řady jsou cenným nástrojem pro zvládnutí anémie a mohou být nápomocné lékařům při jejich rozhodování o nejlepší a neúčinnější léčbě anemického pacienta. Kromě toho otevírá vzájemná kombinace pokročilých parametrů červené krevní řady nebo jejich kombinace s klasickými parametry nové příležitosti pro včasnou diagnostiku různých typů anémie, sledování progresu onemocnění a reakce na léčbu.

Literatura

- [1] **WHO (2011):** Haemoglobin concentrations for the diagnosis of Anaemia and Assessment of Severity. Online WHO/NMH/NHD/MNM/11.1
- [2] **Ullrich C et al. (2005):** Screening Healthy Infants for Iron Deficiency Using Reticulocyte Hemoglobin Content. *JAMA* 294(8): 924.
- [3] **Toki Y et al. (2017):** Reticulocyte hemoglobin equivalent as a potential marker for diagnosis of iron deficiency. *Int. J. Hematol.* 106(1): 116–125.
- [4] **Tiwari AK et al. (2018):** Applying newer parameter Ret-H_e (reticulocyte haemoglobin equivalent) to assess latent iron deficiency (LID) in blood donors-study at a tertiary care hospital in India. *Vox Sang.* 113(7): 639–646.
- [5] **Urrechaga E et al. (2016):** Clinical Value of Hypochromia Markers in the Detection of Latent Iron Deficiency in Nonanemic Premenopausal Women. *J. Clin. Lab. Anal.* 30(5): 623–627.
- [6] **Buttarelo M et al. (2016):** Evaluation of the hypochromic erythrocyte and reticulocyte hemoglobin content provided by the Sysmex XE-5000 analyzer in diagnosis of iron deficiency erythropoiesis. *Clin. Chem. Lab. Med.* 54(12): 1939–1945.
- [7] **Mehta S et al. (2016):** Reticulocyte hemoglobin vis-a-vis serum ferritin as a marker of bone marrow iron store in iron deficiency anemia. *J. Assoc. Physicians India* 6438–6442.
- [8] **Northrop-Clewes CA (2008):** Interpreting indicators of iron status during an acute phase response – lessons from malaria and human immunodeficiency virus. *Ann. Clin. Biochem.* 45(1): 18–32.
- [9] **Kasvosve I et al. (2006):** Association of serum transferrin receptor concentration with markers of inflammation in Zimbabwean children. *Clin. Chim. Acta* 371(1–2): 130–136.
- [10] **Thomas L et al. (2005):** Reticulocyte hemoglobin measurement – Comparison of two methods in the diagnosis of iron-restricted erythropoiesis. *Clin. Chem. Lab. Med.* 43(11): 1193–1202.
- [11] **Thomas C et al. (2002):** Biochemical markers and hematologic indices in the diagnosis of functional iron deficiency. *Clin. Chem.* 48(7): 1066–76.
- [12] **Van Wyck DB et al. (2010):** Analytical and biological variation in measures of anemia and iron status in patients treated with maintenance hemodialysis. *Am. J. Kidney, Dis.* 56(3): 540–546.
- [13] **Urrechaga E et al. (2011):** The role of automated measurement of RBC subpopulations in differential diagnosis of microcytic anemia and β -thalassemia screening. *Am. J. Clin. Pathol.* 135(3): 374–379.
- [14] **Schoorl M et al. (2012):** Efficacy of advanced discriminating algorithms for screening on iron-deficiency anemia and β -thalassemia trait: A multicenter evaluation. *Am. J. Clin. Pathol.* 138(2): 300–304.
- [15] **Canals C et al. (2009):** Chronic inflammatory disease, lymphoid tissue neogenesis and extranodal marginal zone B-cell lymphomas. *Haematologica.* 94(8): 1109–1123.
- [16] **Urrechaga E et al. (2013):** Erythrocyte and reticulocyte indices in the assessment of erythropoiesis activity and iron availability. *Int. J. Lab. Hematol.* 35(2): 144–149.
- [17] **Enko D et al. (2013):** The Impact of an Algorithm-Guided Management of Preoperative Anemia in Perioperative Hemoglobin Level and Transfusion of Major Orthopedic Surgery Patients. *Anemia.* 2013: 1–9.
- [18] **Weimann A et al. (2016):** Delta-He, Ret-He and a new diagnostic plot for differential diagnosis and therapy monitoring of patients suffering from various disease-specific types of anemia. *Clin. Lab.* 62: 667–677.
- [19] **Miwa N et al. (2010):** Usefulness of measuring reticulocyte hemoglobin equivalent in the management of haemodialysis patients with iron deficiency. *Int. J. Lab. Hematol.* 32(2): 248–255.
- [20] **Maconi M et al. (2009):** Erythrocyte and reticulocyte indices in iron deficiency in chronic kidney disease: Comparison of two methods. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 69(3): 365–370.
- [21] **Mikhail A et al. (2017):** Renal association clinical practice guideline on Anaemia of Chronic Kidney Disease. *BMC Nephrol.* 18(1): 345.
- [22] **Wirawan R et al. (2017):** Concordance between Reticulocyte Hemoglobin Equivalent and Reticulocyte Hemoglobin Content in CKD Patients Undergoing Hemodialysis. *Acta Med. Indones.* 49(1): 34–40.
- [23] **Davidkova S et al. (2016):** Comparison of reticulocyte hemoglobin equivalent with traditional markers of iron and erythropoiesis in pediatric dialysis. *Pediatr. Nephrol.* 31(5): 819–826.
- [24] **Danielson K et al. (2014):** Delta-He: A novel marker of inflammation predicting mortality and ESA response in peritoneal dialysis patients. *Clin. Kidney J.* 7(3): 275–281.
- [25] **Bobée V et al. (2018):** Screening of hereditary spherocytosis and pyruvate kinase deficiency by automated blood count using erythrocytic and reticulocytic parameters. *Int. J. Lab. Hematol.* 40(6): 697–703.
- [26] **Berda-Haddad Y et al. (2017):** Increased mean corpuscular haemoglobin concentration: artefact or pathological condition? *Int. J. Lab. Hematol.* 39(1): 32–41.
- [27] **Mullier F et al. (2011):** Additional erythrocytic and reticulocytic parameters helpful for diagnosis of hereditary spherocytosis: Results of a multicentre study. *Ann. Hematol.* 90(7): 759–768.
- [28] **King M-J et al. (2015):** ICSH guidelines for the laboratory diagnosis of nonimmune hereditary red cell membrane disorders. *Int. J. Lab. Hematol.* 37(3): 304–325.
- [29] **Persijn L et al. (2012):** Screening for hereditary spherocytosis in routine practice: Evaluation of a diagnostic algorithm with focus on non-splenectomised patients. *Ann. Hematol.* 91(2): 301–302.
- [30] **Solberg HE (2004):** The IFCC recommendation on estimation of reference intervals. *The RefVal Program. Clin. Chem. Lab. Med.* 42(7): 710–714.
- [31] **Brugnara C et al. (2006):** Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret-H_e) and assessment of iron-deficient states. *Clin. Lab. Haematol.* 28(5): 303–308.
- [32] **Jarc E et al. (2017):** Comparison of erythrocyte and reticulocyte indices for the diagnosis of iron deficiency. *Zdr. Vestn.* 86:(1–2).
- [33] **van Pelt LJ et al.:** Manuscript in preparation.

Volně přístupné Sysmex White Papers s dalšími tématy naleznete na:

www.sysmex.cz/whitepapers