



ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE

FAKULTA BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ

Katedra biomedicínské techniky

**Využití základních hematologických parametrů k odhadu
klinického průběhu COVID-19**

**Use of the basic haematological parameters for estimation of the
clinical course of COVID-19**

Diplomová práce

Studijní program: Systémová integrace procesů ve zdravotnictví
Vedoucí práce: prof. MUDr. Věra Adámková, CSc.

Bc. Martina Polehlová

Kladno 2023



ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Polehlová** Jméno: **Martina** Osobní číslo: **478104**
Fakulta: **Fakulta biomedicínského inženýrství**
Garantující katedra: **Katedra biomedicínské techniky**
Studijní program: **Systémová integrace procesů ve zdravotnictví**

II. ÚDAJE K DIPLOMOVÉ PRÁCI

Název diplomové práce:

Využití základních hematologických parametrů k odhadu klinického průběhu COVID 19

Název diplomové práce anglicky:

Use of basic hematological parameters to estimate the clinical course of COVID 19

Pokyny pro vypracování:

Cílem diplomové práce je zhodnotit průběh nemoci COVID 19 (retrospektivně), dle dokumentace Ústřední vojenské nemocnice (ÚVN), u nemocných v hospitalizační léčbě v době od 1.1.2021 do 31.12.2021, analyzovat vztah mezi provedenými hematologickými vyšetřeními a vybranými klinickými prvky průběhu nemoci pomocí vhodných statistických metod. Sledovaný soubor: muži, ženy, starší 18 let věku, hospitalizovaní pro COVID19 jako hlavní diagnózu v uvedeném časovém rozmezí, v ÚVN, u kterých byla provedena hematologická vyšetření.

Seznam doporučené literatury:

- [1] FRIEDECKÝ, B.; KRATOCHVÍLA, J., Analyty klinické biochemie a hematologie u COVID-19, Klinická biochemie a metabolismus, ročník 25, číslo 50, 2021
- [2] TERRA, Patrícia Oliveira Cunha, Camila Dermínio DONADEL, Luciana Correa OLIVEIRA, Mayra Gonçalves MENEGUETI, Maria AUXILIADORA -MARTINS, Rodrigo Tocantins CALADO a Gil Cunha DE SANTIS, Neutrophil-to-lymphocyte ratio and D-dimer are biomarkers of death risk in severe COVID-19: A retrospective observational study, Health Science Reports, ročník 5, číslo 2, 2022, doi:10.1002/hsr2.514

Jméno a příjmení vedoucí(ho) diplomové práce:

prof. MUDr. Věra Adámková, CSc.

Jméno a příjmení konzultanta(ky) diplomové práce:

Datum zadání diplomové práce: **14.02.2023**

Platnost zadání diplomové práce: **20.09.2024**

doc. Ing. Martin Rožánek, Ph.D.
vedoucí katedry

prof. MUDr. Jozef Rosina, Ph.D., MBA
děkan

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci s názvem Využití základních hematologických parametrů k odhadu klinického průběhu COVID-19, vypracovala samostatně a použila k tomu úplný výčet citací použitých pramenů, které uvádím v seznamu přiloženém k diplomové práci.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 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.

V Kladně dne 17. 5. 2023

.....

Bc. Martina Polehlová

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala vedoucí práce paní prof. MUDr. Věře Adámkové, CSc., za odborné vedení, vstřícný přístup, trpělivost a čas, který mi v průběhu zpracování této diplomové práce věnovala a panu primáři plk. gšt. MUDr. Miloši Bohoňkovi, Ph.D. za umožnění zpracování dat na oddělení OHKT. Nakonec bych ráda poděkovala všem, kteří mě podporovali – rodině, přátelům a také kolegům.

ABSTRAKT

Cílem předkládané diplomové práce bylo nalézt vztah mezi hematologickými laboratorními parametry a parametry klinického průběhu onemocnění COVID-19. Dílčím cílem diplomové práce bylo statistické vyhodnocení možných vztahů nejdůležitějších hematologických parametrů a tohoto onemocnění.

V teoretické části souhrnně popisují klinický průběh a stav onemocnění způsobené virem SARS-CoV-2 včetně jeho léčby, přehled současné epidemiologické situace ve světě. Literární přehled je rozšířen také o náhled na tuto problematiku v zahraničních i českých studiích zabývajících se především dopadem působení viru na hematologické parametry a metabolismus pacienta.

Metodická část práce se zabývá zpracováním získaných klinických dat z databáze informačního systému infekční nemoci (ISIN) a hematologických dat z laboratorního informačního systému (LIS) v Ústřední vojenské nemocnici-Vojenské fakultní nemocnici Praha (ÚVN-VFN Praha) a následným statistickým zpracováním souboru dat pomocí statistických testů (Mann-Whitneyho test, Kruskal-Wallisova ANOVA či logistická regrese).

Získané výsledky ukazují, že se hematologické parametry liší dle vybraných skupin charakterizujících průběh onemocnění (UPV, ECMO, HFNO, kyslík, mortalita, JIP), také dle pohlaví. Vždy se liší minimálně v jednom parametru diferenciálního rozpočtu leukocytů. Byl nalezen vztah mezi hematologickými parametry (Baso S a IG %), pohlavím, věkem pacienta a mortalitou. Také byly nalezeny rozdíly hematologických parametrů dle závažnosti stavu pacienta.

Klíčová slova

COVID-19, hematologie, laboratorní metody, statistika

ABSTRACT

The aim of the present thesis was to find the relationship between haematological laboratory parameters and the parameters of the clinical course of COVID-19. A sub- bjective of the thesis was to statistically evaluate possible relationships between the most important haematological parameters and this disease.

In the theoretical part, I summarise the clinical course and status of the disease caused by SARS-CoV-2 virus including its treatment, review the current epidemiological situation in the world. The literature review is also expanded by the insight into this issue in foreign and Czech studies dealing mainly with the impact of the virus on the haematological parameters and metabolism of the patient.

The methodological part of the thesis deals with the processing of clinical data obtained from the Infectious Disease Information System (ISIN) database and haematological data from the Laboratory Information System (LIS) at the Central Military Hospital –The Military University Hospital Prague (ÚVN-VFN Prague) and the subsequent statistical processing of the sets of data using the statistical tests (Mann-Whitney test, Kruskal-Wallis ANOVA or logistic regression).

The obtained results show that the haematological parameters differ according to selected groups characterizing the course of the disease (UPV, ECMO, HFNO, oxygen, mortality, ICU), also according to gender. They always differ in at least one parameter of the differential leukocyte budget. A correlation has been found between the haematological parameters (Baso S and IG %), gender, patient age and mortality. The differences in the haematological parameters according to the severity of the patient's condition were also found.

Keywords

COVID-19, hematology, laboratory methods, statistics

Obsah

1	Úvod	13
2	Přehled současného stavu.....	14
2.1	COVID-19.....	14
2.2	Klinický obraz infekce COVID-19	14
2.3	Klinický průběh onemocnění	15
2.3.1	Indikace k přijetí do nemocnice	16
2.4	Léčba onemocnění COVID-19.....	17
2.4.1	Oxygenoterapie.....	18
2.5	Změny hematologických parametrů v průběhu onemocnění COVID-19	23
2.6	Analýza krevního obrazu	26
2.6.1	Referenční rozmezí KO	26
2.6.2	Buňky krve [21].....	27
2.6.3	Diferenciální rozpočet leukocytů	29
2.6.4	Morfologie [23]	30
2.7	Koagulační vyšetření.....	34
2.7.1	Protrombinový čas (PT)	34
2.7.2	Aktivovaný parciální tromboplastinový čas (APTT)	34
2.7.3	D-dimery.....	34
2.7.4	Trombinový čas (TT)	34
2.7.5	Fibrinogen (Fib-C).....	35
2.7.6	Antitrombin (AT)	35
3	Cíle práce.....	36
4	Metody	37
4.1	Požadované souhlasy.....	37
4.2	Charakteristika souboru dat.....	37
4.3	Vlastní materiál a metody	39
4.3.1	Vyšetření krevního obrazu včetně diferenciálního rozpočtu leukocytů 39	
4.3.2	Vyšetření koagulačních parametrů	39
4.4	Statistické metody	40

4.4.1	Normalita dat	40
4.4.2	Statistické neparametrické testy	41
5	Výsledky.....	42
5.1	Popisná statistika	42
5.2	Normalita dat.....	44
5.3	Použité grafy ve statistice.....	45
5.3.1	Krabicové grafy	45
5.4	Jednovýběrový Wilcoxonův test	46
5.5	Mann-Whitney test	47
5.6	Kruskal-Wallisova ANOVA	62
5.7	Logistická regrese	67
6	Diskuse	68
7	Závěr	78

Seznam symbolů a zkratk

Seznam symbolů

Symbol	Jednotka	Význam
ALP	μkat/L	Alkalická fosfatáza
ALT	μkat/L	Alaninaminotransferáza
AMS	μkat/L	Alfa-amyláza
Anti-Xa	kIU/L	Nízkomolekulární heparin
AST	μkat/L	Aspartátaminotransferáza
AT	%	Antitrombin
CK	μkat/L	Kreatinkináza
Cl	mmol/L	Chlór
CRP	mg/L	C-reaktivní protein
Ddim	mg/L	D-dimer
ESR	mm/1 hod	Sedimentace
Fib-C	g/L	Fibrinogen
FDP	mg/L	Fibrin degradační produkty
FiO ₂	Objemový podíl	Inspirační koncentrace kyslíku
GMT	μkat/L	Gama-glutamyltransferáza
HCT	Ratio	Hematokrit
HGB	g/L	Hemoglobin
IG	10 ⁹ /L, %	Počet nezralých granulocytů
IL-6	ng/L	Interleukin 6
K	mmol/L	Draslík
LD	μkat/L	Laktátdehydrogenáza
LDH	μkat/L	Laktát dehydrogenáza
MCV	fl	Objem erytrocytů
MCH	pg	Středního množství hemoglobinu v erytrocytech
MCHC	g/L	Koncentrace hemoglobinu v erytrocytech
MPV	fl	Objem trombocytů
Na	mmol/L	Sodík
NRBC	10 ⁹ /L, /100 WBC	Normoblasty
NT-proBNP	ng/L	Natriuretický peptid
PDW	fl	Distribuční šíře trombocytů
PLT	10 ⁹ /L	Trombocyty
PT	S, sekundy	Protrombinový čas
RBC	10 ¹² /L	Erytrocyty
RDW	%	Distribuční šíře erytrocytů
RET	10 ⁹ /L, %	Retikulocyty
SpO ₂	%	Saturace krve kyslíkem
TAG	mmol/L	Triacylglyceroly
TnT	ng/L	Troponin T
TT	S, sekundy	Trombinový čas
WBC	10 ⁹ /L	Leukocyty

Seznam zkratek

Zkratka	Význam
AIHA	Autoimunitní hemolytická anémie
ARDS	Syndrom akutní dechové tísně
CBC	Kompletní krevní obraz
CIC	Koagulopatie vyvolaná COVID-19
CLL	Chronická lymfatická leukémie
CMML	Chronická myeloidní leukémie
CO ₂	Oxid uhličitý
COVID-19	Onemocnění koronavirem
CT	Výpočetní tomografie
ČIA	Český institut pro akreditaci
DIC	Diseminovaná intravaskulární koagulopatie
DIFF	Diferenciální rozpočet leukocytů
ECMO	Extrakorporální membránová oxygenace
ECHO	Echokardiografie
EKG	Elektrokardiografie
FSP	Produkty štěpení fibrinu
GDPR	Ochrana osobních údajů
HCL	Vlasatobuněčné leukémie
HFV	Vysokofrekvenční ventilace
HIT	Heparinem indukovaná trombocytopenie
HRCT	Výpočetní tomografie s vysokým prostorovým rozlišením
CHOPN	Chronická obstrukční plicní nemoc
ID	Identifikace
IPU	Informační procesní jednotka
ISIN	Informační systém infekční nemoci
JIP	Jednotka intenzivní péče
KO	Krevní obraz
LGL	Velké granulární lymfocyty
LIS	Laboratorní informační systém
LMWH	Nízkomolekulární hepariny
MDS	Myelodisplastický syndrom
MERS-CoV	Koronavirus související s blízkovýchodním respiračním syndromem
MLR	Poměr monocytů/lymfocytů
NASKL	Národní autorizační středisko pro klinické laboratoře
NET	Neutrofilní extracelulární pasti
NHL	Non hodgkinův lymfom
NIV	Neinvazivní ventilace
NRL	Poměr neutrofilů/lymfocytů
O ₂	Kyslík
OHKT	Oddělení hematologie a krevní transfuze
PCR	Polymerázová řetězová reakce
PIC	Difuzní plicní intravaskulární koagulopatie
PLL	Prolymfocytární leukémie
PLR	Poměr trombocytů/lymfocytů
SARS-CoV	Koronavirus způsobující těžký akutní respirační syndrom
SARS-CoV-2	Koronavirus 2. typu způsobující těžký akutní respirační syndrom
SVL	Splenický vilózní lymfom
TAT	Hodnocení aktivace koagulace
UPV	Umělá plicní ventilace
ÚVN	Ústřední vojenská nemocnice
vWF	Von Willebrandův faktor
WHO	Světová zdravotnická organizace

Seznam obrázků

OBRÁZEK 2.1 KYSLÍKOVÉ BRÝLE [10]	19
OBRÁZEK 2.2 KYSLÍKOVÁ MASKA [10].....	19
OBRÁZEK 2.3 HFNO [11]	20
OBRÁZEK 2.4 UPV [12]	21
OBRÁZEK 2.5 UPV SCHÉMA [12].....	21
OBRÁZEK 2.6 ECMO [13].....	22
OBRÁZEK 2.7 SEPSE COVID-19 VS KONVENČNÍ SEPSE [18].	25
OBRÁZEK 2.8 DIFERENCIÁLNÍ ROZPOČET LEUKOCYTŮ [22].....	29
OBRÁZEK 2.9 ZORNÉ POLE LEUKOCYTŮ POD MIKROSKOPEM [22]	29
OBRÁZEK 5.1 GRAF NORMALITY DAT HCT	44
OBRÁZEK 5.2 GRAF NORMALITY DAT D-DIMERY	44
OBRÁZEK 5.3 GRAF ROZLOŽENÍ DAT APTT	45
OBRÁZEK 5.4 M-W GRAF ZÁVISLOSTI HCT NA POHLAVÍ	48
OBRÁZEK 5.5 GRAF ZÁVISLOSTI D-DIMERŮ NA POHLAVÍ.....	49
OBRÁZEK 5.6 GRAF ZÁVISLOSTI N/LY NA MORTALITĚ	51
OBRÁZEK 5.7 GRAF ZÁVISLOSTI RBC NA MORTALITĚ	51
OBRÁZEK 5.8 GRAF ZÁVISLOSTI D-DIMERŮ NA MORTALITĚ	52
OBRÁZEK 5.9 GRAF ZÁVISLOSTI HCT NA KYSLÍKU	53
OBRÁZEK 5.10 GRAF ZÁVISLOSTI N/LY NA POTŘEBĚ HFNO	54
OBRÁZEK 5.11 GRAF ZÁVISLOSTI PT (S) NA POTŘEBĚ HFNO.....	55
OBRÁZEK 5.12 GRAF ZÁVISLOSTI NEUT AS NA POTŘEBĚ UPV	56
OBRÁZEK 5.13 GRAF ZÁVISLOSTI D-DIMERŮ NA POTŘEBĚ UPV	57
OBRÁZEK 5.14 GRAF ZÁVISLOSTI HGB NA POTŘEBĚ JIP	59
OBRÁZEK 5.15 GRAF ZÁVISLOSTI LYMFO S NA POTŘEBĚ JIP	59
OBRÁZEK 5.16 GRAF ZÁVISLOSTI D-DIMERŮ NA POTŘEBĚ JIP	60
OBRÁZEK 5.17 GRAF ZÁVISLOSTI HGB NA STAVU PACIENTA.....	63
OBRÁZEK 5.18 GRAF ZÁVISLOSTI HCT NA STAVU PACIENTA	63
OBRÁZEK 5.19 GRAF ZÁVISLOSTI LYMFO S NA STAVU PACIENTA	65
OBRÁZEK 5.20 GRAF ZÁVISLOSTI D-DIMERŮ NA STAVU PACIENTA	66

Seznam tabulek

TABULKA 2.1 KLASIFIKACE ZÁVAŽNOSTI COVID-19 [7].....	15
TABULKA 2.2 REFERENČNÍ ROZMEZÍ KO [20]	26
TABULKA 2.3 FYZIOLOGICKÉ HODNOTY DIFERENCIÁLNÍHO ROZPOČTU LEUKOCYTŮ V PERIFERNÍ KRVI [20]	27
TABULKA 4.1 SLEDOVANÉ PARAMETRY KO	38
TABULKA 4.2 SLEDOVANÉ PARAMETRY KOAGULACE.....	38
TABULKA 5.1 POPISNÁ STATISTIKA KO.....	43
TABULKA 5.2 POPISNÁ STATISTIKA DIFF	43
TABULKA 5.3 POPISNÁ STATISTIKA KOAG	43
TABULKA 5.4 M-W TEST KO DLE POHLAVÍ.....	47
TABULKA 5.5 M-W TEST KOAG DLE POHLAVÍ.....	49
TABULKA 5.6 M-W TEST KO DLE MORTALITA	50
TABULKA 5.7 M-W TEST KOAG DLE MORTALITA	52
TABULKA 5.8 M-W TEST KO DLE KYSLÍK	53
TABULKA 5.9 M-W TEST KO DLE HFNO.....	54
TABULKA 5.10 M-W TEST KOAG DLE HFNO	55
TABULKA 5.11 M-W TEST KO DLE UPV.....	56
TABULKA 5.12 M-W TEST KOAG DLE UPV	57
TABULKA 5.13 M-W TEST KO DLE JIP.....	58
TABULKA 5.14 M-W TEST KOAG DLE JIP.....	60
TABULKA 5.15 M-W TEST KO DLE ECMO	61
TABULKA 5.16 M-W TEST KOAG DLE ECMO	61
TABULKA 5.17 KRUSKAL-WALLISOVA ANOVA ZALOŽ. NA POŘADÍ KO.....	62
TABULKA 5.18 KRUSKAL-WALLISOVA ANOVA ZALOŽ. NA POŘADÍ DIFF	64
TABULKA 5.19 KRUSKAL-WALLISOVA ANOVA ZALOŽ. NA POŘADÍ KOAG	66
TABULKA 5.20 LOGISTICKÁ REGRESE	67

1 Úvod

Světová zdravotnická organizace (WHO) identifikovala neznámý koronavirus způsobující pneumonii v čínském městě Wu-chan. Sekvenční analýza odhalila, že se řadí mezi viry způsobující těžký akutní respirační syndrom (SARS), druh SARS-CoV. Onemocnění bylo následně označeno názvem COVID-19. Původce onemocnění byl v České republice poprvé diagnostikován v březnu 2020. V březnu 2020 byla nákaza COVID-19 označena WHO za pandemii, tím se stala celosvětovým rizikem. V reakci na vypuknutí pandemie, se stává problematika hematologických vyšetření ve spojitosti s COVID-19, velmi aktuálním a zajímavým tématem po celém světě [1].

Pracuji jako zdravotní laborantka v ÚVN-VFN Praha na oddělení hematologie a krevní transfuze (OHKT), kde mi byl také umožněn sběr dat k této diplomové práci. V rámci rutinního vyšetřování jsem pozorovala výrazné rozdíly v laboratorní diagnostice u pacientů s onemocněním COVID-19 např.: rozdíly v poměrném zastoupení leukocytů a jejich morfologických změn, výše hladiny D-dimerů. Tyto rozdíly mě inspirovaly k bližšímu prozkoumání této problematiky. S takto vysokými hodnotami D-dimerů, jsem se osobně setkala poprvé až u pacientů s onemocněním COVID-19.

V této práci se věnuji především hematologickým parametrům, které mohou souviset s predikcí těžkého průběhu onemocnění a nalezením těch parametrů, u kterých může docházet k jejich elevaci či naopak k rapidnímu snížení v jejich počtu či hladině, s cílem najít prognostické markery závažnosti onemocnění.

2 Přehled současného stavu

2.1 COVID-19

V posledních 20 letech způsobily různé druhy koronaviru (SARS-CoV), koronavirus související s blízkovýchodním respiračním syndromem (MERS-CoV) a SARS-CoV-2) tři rozsáhlé epidemie onemocnění. Koronaviry jsou charakterizovány a pojmenovány podle korunovitých hrotů na povrchu virionů. Existují čtyři hlavní podskupiny koronavirů, alfa, beta, gama a delta. Virus SARS-CoV-2, původce onemocnění COVID-19, je z těchto tří druhů zatím nejvirulentnější [2].

Poprvé se virus SARS-CoV-2 objevil v čínském městě Wu-chan a byl identifikován WHO, jako betakoronavir. Postihuje dolní cesty dýchací a projevuje se jako pneumonie u lidí. Již v roce 2019 byly doporučeny postupy hygienické prevence, diagnostiky a byla vydána doporučení základních laboratorních vyšetření, včetně vyšetření hematologických parametrů krevního obrazu (KO) a koagulačních vyšetření (KOAG) [1]. Počet případů rostl exponenciálně, což mělo k dubnu 2021 za následek více než 150 milionů lidí infikovaných po celém světě a více než 3,1 milionu úmrtí [2]. Dne 5. května 2023 byla zrušena pandemie COVID-19, generálním ředitelem WHO [3].

2.2 Klinický obraz infekce COVID-19

Jedná se o akutní infekční onemocnění s postižením respiračního traktu způsobené virem SARS-CoV-2 s inkubační dobou 2 až 14 dní od expozice (průměr 5–6 dní). Klinické projevy jsou pestré, ale nemusí se projevit všechny najednou. Mohou se vyskytnout i asymptomatictí pacienti. U symptomatických pacientů se mohou objevit mírné až závažné příznaky. Mezi mírné příznaky patří horečka, kašel, bolest hlavy a únava, s mírným nebo žádným zápalem plic. Mohou se také projevit poruchy zažívacího traktu (průjem, zvracení) a poškození ledvin [1]. Závažnějšími klinickými projevy jsou akutní respirační syndrom (ARDS), hypoxie a dušnost. V kritických případech pacienti trpí multiorgánovou dysfunkcí, respiračním selháním a septickým šokem. Velkým nebezpečím může být vznik trombů a následné bezpříznakové úmrtí. Úmrtnost je vyšší u starších lidí s chronickými komorbiditami, jako je diabetes mellitus, ischemická choroba srdeční, hypertenze, chronická obstrukční plicní nemoc (CHOPN) a obezita [4].

Studie A review on how to do hematology consults during COVID-19 pandemic [5] zaznamenala specifický nález laboratorních abnormalit u pacientů s onemocněním COVID-19: lymfopenie (82,1 %), trombocytopenie (36,2 %) a leukopenie (33,7 %). U pacientů s kritičtější klinickým obrazem byly pozorovány následující koagulopatie: prodloužený protrombinový čas (PT) a elevace D-dimerů [5].

2.3 Klinický průběh onemocnění

Z počátku byly popsány pouze čtyři skupiny průběhu onemocnění. Ovšem stále více se objevovali pacienti bez příznaků, kteří byli potencionálními přenašeči koronaviru. Z důvodu stejné možnosti přenosu infekce, jako u symptomatických pacientů, se zařadila do klasifikace pátá, tzv skupina asymptomatických pacientů [6].

Závažnost klinického stavu pacienta s diagnózou COVID-19 je hodnocena dle potřeby kyslíku viz Tabulka 2.1 [7].

Tabulka 2.1 Klasifikace závažnosti COVID-19 [7]

závažnost	stupeň	kritéria
Lehký průběh	1	bez příznaků
	2	lehké příznaky, bez nutnosti oxygenoterapie, není potřeba hospitalizace
Středně těžký průběh	3	dušnost, hypoxémie s nutností oxygenoterapie, hospitalizace na standardním oddělení
Těžký průběh	4	potřeba HFNO nebo NIV
	5	potřeba UPV nebo ECMO, hospitalizace na JIP

Asymptomatická, či presymptomatická forma se vyznačuje absencí klinických příznaků COVID-19. U asymptomatické formy se příznaky neprojeví po celou dobu subklinické infekce, kdežto u presymptomatické formy se příznaky onemocnění COVID-19 rozvinou následně [4]. Hodnoty SpO₂ (saturace krve kyslíkem) odpovídají fyziologickým hodnotám (95–99 %). Z hlediska šíření koronaviru je tato skupina nejnebezpečnější, proto je třeba včasné zachycení a kontrola těchto infekcí [6]. Léčba se u asymptomatických pacientů nepodává žádná, u rizikových pacientů s presymptomatickou formou můžeme podat antivirotika či monoklonální protilátky [8].

Mírná forma se vyznačuje přítomností jednoho či více klinických příznaků (horečka, bolest v krku, kašel, únava, bolest svalů a kloubů, nauzea, zvracení, průjem, ztráta chuti a čichu a další). V těchto případech pacienti netrpí dušností, ani se u nich nevyskytují jakékoliv radiologické změny dolních cest dýchacích [4]. Pacienti jsou léčeni ambulantně antivirotiky, případně v počátcích onemocnění podáním monoklonálních protilátek [8].

Středně závažná forma se projevuje stejnými příznaky jako výše zmíněná mírná forma, navíc se objevuje dušnost, nebo postižení dolních cest dýchacích (pneumonie). Hodnota SpO₂ je ≥ 94 %, bez potřeby oxygenoterapie [4]. Doporučuje se léčba antikoagulační profylaxí LMWH (nízkomolekulární heparin), případně léčba antivirotiky např. lék Remdesivir. [8].

Závažná forma má stejné příznaky jako středně závažná forma. Navíc se vyznačuje závažným postižením dolních cest dýchacích, významnou dušností, zrychleným dýcháním více než 30 dechů za minutu, radiologickými změnami plicního parenchymu (více než z 50 %), rentgenový obraz odpovídající pneumonii, hodnota SpO₂ je <94 % [4]. V tomto případě je nutné použití vysokoprůtokové nazální oxygenoterapie (HFNO) nebo neinvazivní plicní ventilace (NIV) [8].

Kritická forma má stejné projevy jako závažná forma. Navíc se vyznačuje respiračním selháním, septickým šokem, multiorgánovým selháním, nebo alespoň jedním z uvedeného [4]. Pacienti jsou hospitalizováni na jednotce intenzivní péče (JIP) s potřebou umělé plicní ventilace (UPV) nebo mimotělní membránové oxygenace (ECMO) [8].

2.3.1 Indikace k přijetí do nemocnice

Dle doporučení infekčního lékařství je hlavním důvodem hospitalizace hypoxie s nutností oxygenoterapie nebo vyčerpání spojené s dehydratací pacienta. Musí být brány v úvahu rizikové faktory způsobující závažný průběh onemocnění. Mezi které patří vyšší věk (nad 65 let), diabetes mellitus a s ní související obezita, hypertenze, CHOPN a jiná plicní onemocnění, dysfunkce srdce či jater, imunodeficiencie, imunosupresivní léčba nebo probíhající onkologická léčba. Mezi klinické důvody k hospitalizaci řadíme dušnost, tachypnoe, SpO₂ <93 %, poruchu vědomí, horečku nad 38,3 °C, puls nad 125/minutu a také hypotenzi [4].

Doporučená hematologická laboratorní vyšetření jsou základní KO + DIFF (diferenciální rozpočet leukocytů), PT (protrombinový čas), aPTT (aktivovaný parciální tromboplastinový čas), D-dimery a fibrinogen. Doporučeným biochemickým vyšetřením krve je určení hladiny: Na (sodík), K (draslík), Cl (chloridy), urea, kreatinin, kyselina močová, bilirubin, ALT (alaninaminotransferáza), AST (aspartátaminotransferáza), GMT (gama- glutamyltransferáza), ALP (alkalická fosfatáza), AMS (alfa-amyláza), TAG (triacylglyceroly), glukóza, celková bílkovina, albumin, CK (kreatinkináza), myoglobin, TnT (troponin T), IL-6 (interleukin 6), CRP (C reaktivní protein), prokalcitonin, ferritin, LD (laktátdehydrogenáza), NT-proBNP (natriuretický peptid), vyšetření moči (chemicky + sediment). Mezi doporučená mikrobiologická vyšetření řadíme: vyloučení přítomnosti bakteriální infekce způsobené bakteriemi *Legionella* či *Streptococcus agalactiae*, kultivace a cytologie sputa a hemokultury při febrilii. Dále se doporučuje provést EKG vyšetření, rentgen hrudníku. Dle aktuálního stavu pacienta je doporučeno zvážit HRCT (CT s vysokým rozlišením) plic, ultrazvuk hrudníku, ECHO (echokardiografie) srdce nebo bronchoskopii [7].

U starších pacientů může bez varování docházet k tiché hypoxii, proto se zvažuje opakované vyšetření pacientů v průběhu hospitalizace. Následkem může být kritické zhoršení stavu pacienta, které může vyústit např. v respirační selhání [4].

Mezi doporučená opakovaná klinická vyšetření se řadí rentgen plic, pulzní oxymetrie a měření tlaku. Základní krevní obraz a diferenciální rozpočet leukocytů považujeme za opakované vyšetření automaticky. Důležitým koagulačním vyšetřením pro opakování v průběhu hospitalizace je především hladina D-dimeru. Z biochemických vyšetření se doporučuje např. CRP, ferritin, troponin a kreatinkinázu [4].

2.4 Léčba onemocnění COVID-19

Léčba onemocnění COVID-19 se nejčastěji zaměřuje na léčbu kyslíkem (oxygenoterapie). Doporučuje se začít s polomaskou, při selhání nastupuje použití HFNO (vysokoprůtoková nosní kyslíková terapie). Cílová SpO₂ je více než 90 % (těhotné ženy 92–95 %). Neinvazivní plicní ventilace (NIV) je indikovaná pouze u nemocných s hyperkapnií (zvýšení CO₂ v krvi). Upřednostňují se celoobličejové masky nebo helmy. Rozhodnutí zahájit mechanickou ventilaci by mělo být založeno na klinickém stavu

pacienta, nikoli pouze na číselných kritériích. Mechanická ventilace by však měla být využita dříve, než pacient dosáhne extrémních hodnot. Invazivní UPV by měla být indikována individuálně, pouze při selhání neinvazivních metod podpory oxygenace a ventilace [8].

Onemocnění COVID-19 navozuje hyperkoagulační stav pacienta. Všem hospitalizovaným pacientům se z důvodu hrozby hyperkoagulace, doporučuje antikoagulační profylaxe. Doporučuje se podání nízkomolekulárního heparinu (LMWH), který účinně snižuje mortalitu pacientů [8].

V časných stádiích onemocnění je vhodné použít antivirotikum Remdesivir. Optimální je zahájit terapii při počínající hypoxémii (snížený obsah kyslíku v krvi), tudíž nutnosti oxygenoterapie a současně při bilaterální (oboustranné) pneumonii. Splněním uvedených kritérií se podává Remdesivir i.v. po dobu pěti dnů (první den 200 mg, 2.–5. den 100 mg i.v.) [8].

Dexamethason se podává při hypoxémii a současných známkách zánětu (horečka, vyšší feritin a/nebo IL-6). Dávkování se uvádí 8 mg i.v. jednou denně po dobu deseti dnů. Opatrnost je na místě u pacientů s těžkou lymfopenií [8].

Jednorázové podání rekonvalescentní plazmy od dárců, kteří prodělali onemocnění COVID-19 s vysokou hladinou protilátek, se ukazuje jako další možnost léčby onemocnění COVID-19 [8]. Podává se pouze ambulantně při prvních příznacích onemocnění, u hospitalizovaných pacientů se již nepodává [9].

2.4.1 Oxygenoterapie

Oxygenoterapie je nedílnou součástí terapie pacientů s onemocněním COVID-19. Jedná se o léčebnou metodu, při níž je pacientovi ve vdechované směsi aplikována vyšší koncentrace O₂ než je 21 %. Vyšší koncentrací O₂, než je přítomna v atmosférickém vzduchu se zvyšuje nabídka kyslíku tkáním [10].

Kyslíkové brýle viz obrázek 2.1 se skládají z delší umělohmotné cévky stočené do kruhu, přerušené dvěma vstupy, jimiž se vede kyslík do nosu pacienta. Nasazují se na kraj nosních průduchů a postranní části se zasunou za uši pacienta. Přívod kyslíku do brýlí je nejčastěji 5–6 l/min. Slouží k přivedení kyslíku vycházejícího z přístroje,

v koncentraci 90–95 %, do nosu pacienta. Kyslíkové medium se přidává k běžnému dýchání pro vyšší koncentraci kyslíku, a tudíž lepší saturaci krve. Výhodou je možné využití brýlí po delší dobu. Nevýhodou je velká ztráta kyslíku a zvýšené riziko ucpaní cévky sekretem [10].



Obrázek 2.1 Kyslíkové brýle [10]

Kyslíková maska viz obrázek 2.2 se skládá z průhledného plastu opatřeného vypodložením a z gumy, která se připevňuje kolem hlavy. V masce se nachází otvory pro hadiči a výdechové otvory. Přívod kyslíku do masky je nejčastěji 7 l/min. Výhodou je snadná a rychlá manipulace, maska dobře přilne k obličeji a také možnost dosažení vysoké koncentrace kyslíku ve vdechovaném vzduchu. Zásadní nevýhodou je ztížení pozorování samotného pacienta, zvyšuje odpor dýchacích cest a nemůže se použít u pacientů v bezvědomí, u pacientů s rizikem zvracení a u neklidných pacientů [10].



Obrázek 2.2 Kyslíková maska [10]

HFNO – vysokoprůtoková nosní kyslíková terapie viz obrázek 2.3 je vhodná pro léčbu hyperkapnických, hypoxických pacientů a je efektivní u COVID-19 pacientů. HFNO je řazena mezi přístroje neinvazivní dechové podpory. Přístroj poskytuje stabilní, konstantní vysoký průtok ohřátého a zvlhčeného vzduchu během inspirace a expirace, přes nosní kanylu. Nosní kanyla je zahřívána až k nosu, tím eliminuje kondenzaci. Příměs kyslíku je volitelná až 60 l/min. Výhodou je snížení potřeby intubace, efektivní výplach CO_2 během expirace, konstantní FiO_2 [11].

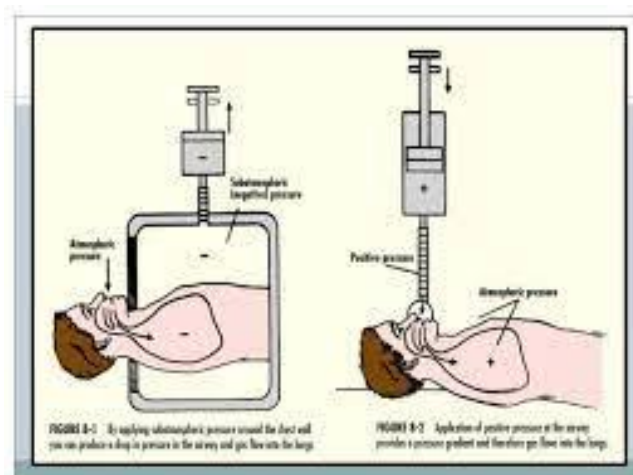


Obrázek 2.3 HFNO [11]

UPV – umělá plicní ventilace viz obrázek 2.4 a obrázek 2.5 je způsob dýchání, při kterém je průtok plynů respiračním traktem úplně nebo částečně nahrazen mechanickým přístrojem. Indikace nastává, pokud došlo ke vzniku závažné ventilační nebo oxygenační poruchy, nebo je vznikem této poruchy pacient ohrožen. UPV může být zavedena neinvazivním způsobem, který používá různé masky, nebo způsobem invazivním. Pro invazivní způsob ventilace je typický zásah do těla pacienta. Například zajištění dýchacích cest pomocí endotracheální trubice nebo použití tracheostomie. Existují různé druhy ventilace např. přetlakem, podtlakem, trysková ventilace, oscilační ventilace. Trysková a oscilační ventilace se řadí do vysokofrekvenčních ventilací tzv. high flow ventilace – HFV [12].

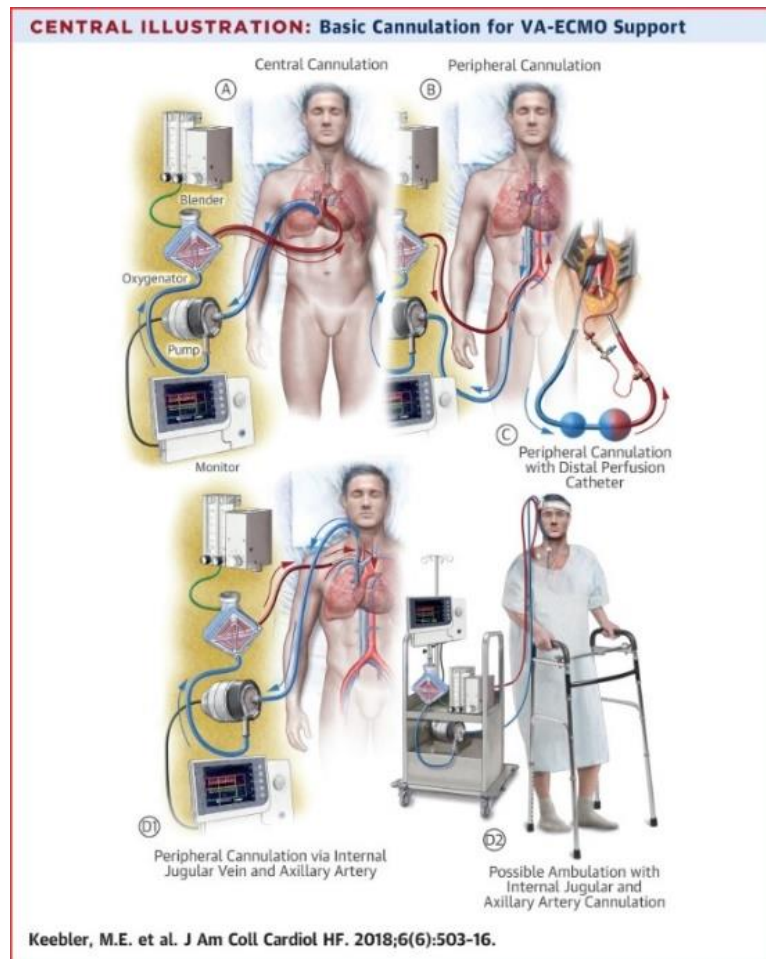


Obrázek 2.4 UPV [12]



Obrázek 2.5 UPV schéma [12]

ECMO – extrakorporální membránová oxygenace viz obrázek 2.6 je metoda využívaná v intenzivní medicíně, která je schopná dočasně nahradit funkci srdce a plic. Pomocí jednoho katetru se odebírá krev ze žilního systému, která je poté vháněna přes oxygenátor zpět do těla pomocí druhého katetru. Mimosétní membránová oxygenace tak může zajistit optimální okysličení po dobu několika dní, dokonce i několika týdnů nebo měsíců. Plíce tak mají čas na zhojení bez použití agresivní mechanické ventilace [13].



Obrázek 2.6 ECMO [13]

2.5 Změny hematologických parametrů v průběhu onemocnění COVID-19

Koronavirus COVID-19 byl v roce 2019 rozšířen z Číny do celého světa. Reakci na situaci ve světě odráží zahraniční literatura, která se zabývá nejen klinickým průběhem onemocnění, prevencí a šířením viru, ale také možnými prediktory onemocnění. Jedním ze zkoumaných prediktorů závažnosti onemocnění se stávají hematologické parametry. Pro lepší přehlednost uvádím poznatky ze zahraničních studií [1].

Článek *The critical role of laboratory medicine during coronavirus disease 2019 (COVID-19) and other viral outbreaks* [14] uvádí, že COVID-19, výrazně ovlivní budoucí vývoj onemocnění dolních cest dýchacích. Očekává se, že počet úmrtí na infekce dolních cest dýchacích vzroste během příštích 40 let o více než 50 %. Nejzávažnější vývoj onemocnění je směrem k syndromu akutní respirační tísně (ARDS), pak může následovat virová sepsa, diseminovaná intravaskulární koagulopatie (DIC) a multiorgánové selhání. Leukocytóza, neutrofilie a lymfopenie předpovídají progresy k těžkým až kritickým formám COVID-19. Z koagulačních parametrů mají největší význam zvýšené hodnoty D-dimerů a PT [14].

Popisná studie *Analyty klinické biochemie a hematologie u COVID-19* [15] na základě dostupných zdrojů literatury a doporučení k monitorování pacientů pracovní skupiny IFCC (“Task Force on COVID-19”) zjistila následující výsledky. Parametry KO jsou pro sledování onemocnění zásadní. Změny v počtech leukocytů, neutrofilů, trombocytů a poklesu eozinofilů značí možný závažný stav onemocnění. Koagulační změny, především D-dimerů, se zdají být zásadní, protože hodnoty mimo referenční meze má 100 % pacientů, přičemž autoři zdůrazňují především sjednocení jednotek měření tohoto parametru [15].

Studie *Neutrophils and COVID-19: The road so far* [16] popisuje spojitost nejvíce zastoupených leukocytů v krevním řečišti s onemocněním COVID-19. Uvádí, že tyto buňky souvisí s chronickými zánětlivými onemocněními (diabetes mellitus, kardiovaskulární onemocnění). Zvýšený poměr NRL (N/Ly) může být u těchto komorbidit fatální. V časném stádiu se obecně označuje poměr NRL jako ukazatel závažnosti onemocnění. Při zvýšení poměru NRL se aktivuje C-reaktivní protein a zvyšuje se hladina D-dimerů. Tato studie dále popisuje další funkce neutrofilů např.

tvorbu neutrofilních extracelulárních pastí (NET), které mohou působit protizánětlivě. Zvýšená hladina NET sítí je spojena s poškozením plic a také se podílí na trombóze. Z toho vyplývá, že jsou hojně zastoupeny u těžkých případů COVID-19 v plicích. U závažných případů také může nastat multiorgánové selhání a ARDS [16].

Lax a kolektiv [17] se ve Švýcarsku podíleli na pitevní studii jedenácti náhodně vybraných pacientů zemřelých na COVID-19. Všichni pacienti se nacházeli ve věku 66–91 let. Pacienti s převahou mužů, měli pozitivní nález trombů na mikroskopické i makroskopické úrovni v plicních tepnách. Úmrtí následně souvisela s akutní plicní hypertenzí a zástavou plicního oběhu [17].

Další popisná studie Coagulation and anticoagulation in COVID-19 [18] zmiňuje důležitost lymfopenie, NRL a dalších zánětlivých ukazatelů např. CRP, LDH a feritinu. Zahrnuje koagulační vyšetření aPTT, PT, fibrinogen, D-dimery, FDP a počet krevních destiček. Podle studie je potřeba zvážit trombocytopenii vyvolanou léky, jako je heparin a otestovat přítomnost protilátky proti heparinu-PF4. Protilátka proti heparinu-PF4 se vyskytla u většiny kriticky nemocných pacientů. Předpokládá se, že přítomnost této protilátky koreluje s progresivní trombocytopenií a závažností onemocnění COVID-19. Doporučuje se ověření metodou HIT (heparinem indukovaná trombocytopenie). SARS-CoV-2 přímo infikuje megakaryocyty, může tím ovlivnit počet a funkci krevních destiček. Průběžné sledování PT, především u závažných případů, se jeví jako dobrý prognostický marker mortality. Rozsáhlá mikrovaskulární trombóza v plicích, se označuje jako difuzní plicní intravaskulární koagulopatie (PIC), charakteristická zvýšením D-dimerů a FDP. D-dimer větší než 1 mg/L je předpoklad nepřežití. Hladina D-dimeru může sloužit pro výběr pacientů vhodných k podání antikoagulační léčby [18].

Proměnná	Sepse COVID-19	Konvenční seprese
aPTT	N/↑	↑↑/↑↑↑
PT	N/↑	↑↑/↑↑↑
Fibrinogen	↑↑↑/↑↑/↓	↑↑↑/↑↑/↓
Trombocytopenie	N/↓	↓↓/↓↓↓
FSP	↑/↑↑	↑↑/↑↑↑
D-dimer	↑↑/↑↑↑	↑/↑↑
Schistocyty na nátěru z periferní krve	Není přítomen	Častý

Zkratky: aPTT: aktivovaný parciální tromboplastinový čas, PT: protrombinový čas, FSP: produkty štěpení fibrinu, N: normální, ↑: mírné zvýšení, ↑↑: mírné zvýšení, ↑↑↑, výrazné zvýšení, ↓: mírné snížení, ↓↓: mírné snížení, ↓↓↓: výrazné snížení.

Obrázek 2.7 Sepse COVID-19 vs Konvenční seprese [18].

Z obrázku 2.7 je patrné, že existují výrazné rozdíly mezi indikacemi septického stavu. Při sepsi u pacientů s onemocněním COVID-19, D-dimer neúměrně převládá nad ostatními koagulačními proměnnými, hladina fibrinogenu se podobá hladině při DIC, ostatní parametry jsou nezměněné či neprůkazné [18].

S ohledem ke zvýšenému riziku makrovaskulární a mikrovaskulární trombózy u pacientů s onemocněním COVID-19, byla jako zmírňující možnost navržena antikoagulační léčba. Může blokovat nebo zpomalit progresi do DIC. U hospitalizovaných pacientů je upřednostňováno užívání heparinů, zejména LMWH. Stále se diskutuje optimální dávka antikoagulačních léčiv. Rozdílná váha populace a rozdílná závažnost onemocnění upozorňuje na individuální přístup v léčbě pacienta. Proto byla snaha o vytvoření hodnotícího systému CIC scóre (koagulopatie vyvolaná COVID-19). Tento systém vycházel z DIC scóre obohaceného o hodnotu D-dimerů a úpravy bodů pro jednotlivé sekce [18].

2.6 Analýza krevního obrazu

Moderní klinická hematologie je velmi komplexním klinicko-laboratorním medicínským oborem. Hematologie je vědním oborem, který se zabývá studiem krve a všemi jejími složkami. Studuje zejména buňky krve z hlediska jejich morfologie, počtu a funkce. V současné době je zaměřena na genetiku onkologických onemocnění. V minulých letech byla klinická hematologie velmi často spojovaná s onemocněním COVID-19 [19].

2.6.1 Referenční rozmezí KO

Pro seznámení s jednotlivými parametry krevního obrazu přikládám tabulku 2.2 s referenčním rozmezím fyziologických hodnot.

Tabulka 2.2 Referenční rozmezí KO [20]

Vyšetření	Fyziologické hodnoty		Jednotky měření
	Muži	Ženy	
WBC	4,00-10,00		10 ⁹ /L
RBC	4,00-5,80	3,80-5,20	10 ¹² /L
HGB	135-175	120-160	g/L
HCT	0,40-0,50	0,35-0,47	Ratio
MCV	82,0-98,0		fl
MCH	28,0-34,0		pg
MCHC	320-360		g/L
PLT	150,0-400,0		10 ⁹ /L
RDW	10,0-15,2		%
MPV	7,8-12,8		fl
PDW	9,0-17,0		fl
NRBC absolutní	0,000-0,015		10 ⁹ /L
NRBC relativní	0,00-0,10		/100 WBC
RET	0,5-2,5		%
RET	25-100		10 ⁹ /L

2.6.2 Buňky krve [21]

Krev je tvořena suspenzí krevních elementů (erytrocytů, leukocytů a trombocytů) rozpouštěných v krevní plazmě. Každá z těchto buněk má svůj vývoj, vzhled a funkci. Fyziologické rozložení leukocytů v periferní krvi viz tabulka 2.3.

Tabulka 2.3 Fyziologické hodnoty diferenciálního rozpočtu leukocytů v periferní krvi [20]

	Buňky	%	
Granulocyty	Neutrofilly	Segment	45–70
		Tyč	0–30
	Eozinofily	0–5	
	Bazofily	0–2	
Agranulocyty	Lymfocyt	20–45	
	Monocyt	2–12	

Leukocyty

Granulocyty – jsou buňky, které v cytoplazmě obsahují specifická granula, polymorfni granulocyty mají vícečetná jádra (polymorfonukleáry). Dělíme je podle zralosti na tyče a segmenty. Dále je dělíme podle barvitelnosti na neutrofilly, bazofily a eozinofily.

Vývoj: myeloblast → promyelocyt → myelocyt → metamyelocyt → eosinofilní/ bazofilní/ neutrofilní tyč → eosinofilní/ neutrofilní/ bazofilní segment.

- Myeloblast – kulatý, úzký lem cytoplazmy, 14-20 μm , velké jádro s jadérky, jemný chromatin, bazofilní cytoplazma bez granul, počet v kostní dřeni 0,5-2 %.
- Promyelocyt – velký, kulatý, 18-25 μm (největší z leukocytů), velké kulaté jádro s jadérky, jemný chromatin, modrá cytoplazma, hrubá azurofilní tmavá granula, v kostní dřeni 0,1-0,4 %.
- Myelocyt – kulatý, méně zralý, 16-20 μm , menší kulaté vtlačené jádro, hrubý chromatin, málo viditelná jadérka nebo bez jadérek, bazofilní/ oxyfilní cytoplazma, specifická granula (neutrofilní/eozinofilní/bazofilní), v kostní dřeni neutrofilní 1,2-2 %, eosinofilní 0,5-2 %, bazofilní 0-0,5 %.
- Metamyelocyt – kulatý nebo oválný, 10-18 μm , menší jádro, ledvinovité, při obvodu, hutný chromatin, málo viditelná jadérka nebo bez jadérek, růžová cytoplazma, jemná hustá šedorůžová až červenorůžová granula, v kostní dřeni neutrofilní 14-20 %, eosinofilní 0,5-1 %, bazofilní 0-0,2 %.

- Neutrofilní/bazofilní/eosinofilní tyč (nesegmentovaný granulocyt) – 9-15 μm , jádro tvaru tyčky, většinou zahnuté, hrubý chromatin, trámcovitý, cytoplazma růžová se specifickými granuly (neutrofilní, eozinofilní nebo bazofilní).
- Neutrofilní segment - $6,5 \cdot 10^9 /\text{l}$, 2/3 specifická granula, 1/3 azurofilní granula, schopnost fagocytózy.
- Bazofilní segment - $0-0,1 \cdot 10^9 /\text{l}$, 12-15 μm , jádro laločnaté, překryto granuly, specifická basofilní granula (modrá – hnědofialová) (heparin, histamin), akutní hypersenzitivní reakce.
- Eozinofilní segment - $0-4,5 \cdot 10^9 /\text{l}$, 10-15 μm , dvojlaločnatá jádra, bez jadérek, specifická granula (červená až oranžová), alergické reakce, parazitární infekce.

Agranulocyty – neobsahují v cytoplasmě specifická granula, mohou obsahovat pouze azurofilní granula. Nemají segmentované jádro (mononukleáry), cytoplazma je bazofilní. Řadíme sem lymfocyty a monocyty.

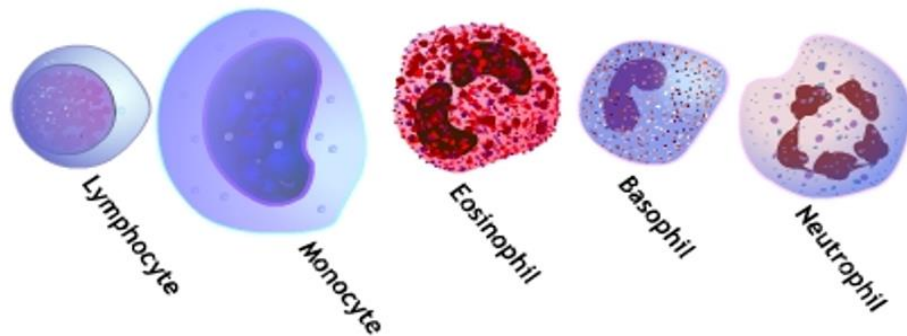
Lymfocyty – jsou druhým nejpočetnějším typem bílých krvinek, neobsahují v cytoplasmě specifická granula, ale azurofilní granula (existují výjimky – granulární lymfocyt), velikost 8-16 μm (aktivované LGL jsou větší), oválné jádro, cytoplazma modrá, fyziologicky malé kulaté buňky.

Monocyty – nepravidelný tvar, 16-22 μm , velké jádro, excentricky uložené, řídký chromatin, podkovovité, bez jadérek, cytoplazma bohatá, šedomodrá, někdy vakuoly, jemné azurofilní částice či fagocytované částice, v kostní dřeni 0,5-1 %.

Erythrocyty – průměrná velikost 7,2 μm , bikonkávní tvar, bezjaderné buňky, nemají vlastní proteosyntézu, funkcí červené krvetvorby je zajistit tvorbu erytrocytů.

Trombocyty – nejmenší částice v krvi (průměr 2-4 μm), bezjaderné formované krevní elementy, které mají nezastupitelnou úlohu při zástavě krvácení (hemostáze), počet v krvi: $150-400 \cdot 10^9 /\text{l}$, dvě třetiny trombocytů cirkulují v krvi a jedna třetina ve slezině.

2.6.3 Diferenciální rozpočet leukocytů



Obrázek 2.8 Diferenciální rozpočet leukocytů [22]

Diferenciální rozpočet leukocytů je pětipopulační dělení leukocytů podle přítomnosti granulace a barvení cytoplazmy viz obrázek 2.8. Leukocyty jsou jaderné buňky větší velikosti. Diferenciální rozpočet provádíme z panopticky obarveného nátěru z kapky plné krve viz obrázek 2.9. Na analyzátorech Sysmex měříme šestipopulační diferenciální rozpočet, který obsahuje navíc nezralé granulocyty (IG), kam řadíme promyelocyty, myelocyty a metamyelocyty [22].



Obrázek 2.9 Zorné pole leukocytů pod mikroskopem [22]

2.6.4 Morfologie [23]

Morfologické změny granulocytů

Změny v granulaci buněk

- Beze změn – nález je morfologicky ve fyziologických mezích.
- Hypergranulace/Toxická granulace – se označuje jako hrubá, tmavě modrá primární cytoplazmatická granula, vyskytující se při infekcích, popáleninách, drogové intoxikaci a zánětech.
- Agranulace – takto označujeme granulocyty zcela bez granulace, především u popisu dysplastických změn v granulocytární řadě, musí být přítomny u více než 25 % neutrofilů, eozinofilů či bazofilů.
- Změny v počtu segmentů (článků jádra granulocytů).
- Hypersegmentace granulocytů – u neutrofilů se týká buněk, kde je jádro rozděleno na více než 5 segmentů.
- Hyposegmentace/asegmentace/pelgeroidie – jedná se o buňky hypo (2 segmenty a méně) či zcela asegmentované, s abnormálně hutným, kondenzovaným (hrudkovitým) jaderným chromatinem.

Inkluze v cytoplazmě granulocytů

- Döhleho inkluze – světle modré cytoplazmatické inkluze (tělíska) kulovitěho tvaru nebo tvaru tyčinky uložené nejčastěji při okraji buňky. Nalézáme je při infekcích, lékových intoxikacích, podávání růstových faktorů, popáleninách, MDS, mohou se objevit i v těhotenství.

Vakuolizace leukocytů se může nacházet ve všech vývojových řadách

Morfologické změny monocytů

Patologické monocyty nebo promonocyty nacházíme u akutní myelomonocytární či monocytární/monoblastické leukémie, u onemocnění CMML nebo MDS musí být změny u poloviny přítomných monocytů (nelze hodnotit při monocytopenii).

- Reaktivní monocyty – obecně do této kategorie řadíme změny granulace a zbarvení cytoplazmy, četnou a výraznou vakuolizaci, změny tvaru jádra, struktury jaderného chromatinu a přítomnost jadérek. Nalézáme u aktivovaných monocytů.

- Atypické/patologické jsou monocyty s hypolobací, s perzistencí jadérka či bazofilii cytoplazmy při nukleocytoplazmatické asynchronii, ojediněle i s výraznější granulací či vakuolizací.
- Promonocyty jsou buňky větší než monocyty, mají prostornou cytoplazmu bez granulace či místy s jemnými granuly či vakuolami; nepravidelně tvarované či mírně přeložené jádro, s jemným chromatinem, s různě zřetelnými jadérky.

Morfologické změny lymfocytů

Patologické lymfocyty nacházíme především u různých druhů leukémií. Ovšem nepatrné změny můžeme pozorovat u mírných onemocnění. Pozorujeme tvar a barvu cytoplazmy, tvar jádra a strukturu chromatinu a na závěr, zda se vyskytují jadérka v jádře buňky.

- Holá jádra, jaderné stíny – všechna holá jádra přítomná v nátěru s výjimkou jader megakaryocytů a veškeré jaderné stíny včetně Gumprechtových stínů u chronické lymfatické leukemie (CLL).
- Cytoplazmatické fragmenty – přítomnost části cytoplazmy kteréhokoliv elementu.
- Vakuolizace v cytoplazmě.
- LGL/velké formy lymfocytů – středně velké až velké lymfocyty s většinou excentricky uloženým jádrem (kulaté až oválné) s vysokým poměrem cytoplazmy k jádru s azurofilními granuly v cytoplazmě. Granula jsou v cytoplazmě buď difúzně, nebo soustředěna na jedno místo. Cytoplazma bývá většinou světle modrá. Část buněk má okolo granulí prosvětlení.
- Reaktivní lymfocyty – lymfocyty reagující na infekční agens, vidáme je např. u infekční mononukleózy, ale i u řady dalších infekcí. Většinou poměrně polymorfní elementy, dochází ke zvětšení jádra i objemu cytoplazmy. Jedná se většinou o elementy velikosti 10–25 μm , jádro oválné, členité nebo podlouhlé, chromatin „rozvolněný“. Mohou být vidět jedno nebo dvě velká jadérka. Cytoplazma je často bohatá, barví se modře a přechází od světlé kolem jádra v tmavě modrou u okrajů („zapuštěné“ okraje – jako když použijete vodové barvy na vlhkou podložku). Cytoplazma může být „zubatá“ a přiléhá k okolním červeným krvinkám. V cytoplazmě můžeme nalézt i azurofilní granula a/nebo vakuoly.

- „Vlasaté“ lymfocyty – patologické lymfocyty s jemnými cytoplazmatickými výběžky po celém obvodu či na obou pólech buňky (lymfocyty klasické formy vlasatobuněčné leukémie = HCL, variantní HCL nebo splenického vilózního lymfomu = SVL).
- Atypické formy lymfocytů (kromě „vlasatých“) – jde o atypické (ve smyslu patologické) formy lymfocytů, tj. lymfocyty atypické velikostí, tvarem a konturou jádra, charakterem chromatinu, barvitelností, prostorností, či konturou cytoplazmy. Jsou přítomny v rámci hematologických B a T lymfoproliferativních onemocnění, např. CLL, prolymfocytární leukémie (PLL), Non hodgkinův lymfom (NHL), včetně patologických plazmocytů. „Vlasaté“ lymfocyty do této skupiny nezařazujte, jsou uvedeny samostatně (viz předchozí odstavec).

Změny v diferenciálním rozpočtu leukocytů

- Neutropenie, neutrofilie, posun doleva (mladší formy) - pokud se v nátěru objeví i mladší formy neutrofilní řady, zahrnujeme do těchto pojmů všechny buňky od myelocytů po segmenty (dohoda skupiny expertních pracovišť).
- Lymfocytóza, lymfocytopenie – v hodnocení celkového počtu leukocytů je nutné zohledňovat i plazmatické elementy (tj. typ B-lymfocytů).

Morfologické změny erytrocytů

Početní odchylky

- Beze změn – nález je fyziologický, to znamená: normocytóza, izocytóza (RDW <15,2 %), bez inkluzí a nápadnějších tvarových anomálií.
- Normocytóza – MCV je ve fyziologických mezích, RDW <15,2 % a jsou přítomny abnormity erytrocytů.
- Mikrocytóza, makrocytóza – obojí znamená, že MCV je mimo fyziologické meze, ne přítomnost jednotlivých malých či velkých erytrocytů.
- Anizocytóza – odlišnosti ve velikostech erytrocytů, řídí se hodnotou RDW.

Tvarové odchylky

- Poikilocytóza – směs morfologicky jasně či hůře definovaných tvarů erytrocytů (např. v rámci myelofibrózy, dyserythropoetické anémie, či těžké sideropenické anémie). Přítomnost poikilocytózy nevylučuje současně nález např. echinocytů či sférocytů či jiných tvarových odchylek. Přítomnost jedné jasně definované tvarové anomálie není poikilocytóza.
- Schistocyty (a další fragmentocyty) – útržky erytrocytů, patří sem i keratocyty a jiné mechanicky poškozené červené krvinky.
- Penízkovatění erytrocytů (rouleaux) – pravidelné delší či kratší nakupení erytrocytů (3–4 i více), vidáme je při zvýšené hladině proteinů o velké molekulové hmotnosti v plazmě (např. myelom) – hodnotíme pouze v okrajích nátěru, kde jsou erytrocyty přítomny jednotlivě.
- Pappenheimerova tělíska – malé bazofilní inkluze většinou na periferii erytrocytu, jsou to agregáty feritinu, erytrocyty s těmito inkluzemi se nazývají siderocyty.
- Aglutinace erytrocytů – nepravidelné shluky erytrocytů; zralé erytrocyty aglutinují, pokud jsou potaženy protilátkami, např. u diagnózy AIHA.

Morfologické změny trombocytů

- Beze změn – nález je fyziologický.
- Makrotrombocyty – trombocyty velikosti erytrocytu v počtu 5 a více na 1000 erytrocytů nebo nález alespoň 1 obrovského (velikost minimálně jako malý lymfocyt).
- Destičkové shluky – dva a více shluků v ploše nátěru, každý shluk obsahuje alespoň 20 trombocytů.
- Hypo/agranularita trombocytů – výrazně snížená granulace krevních destiček (alespoň u 50 % buněk), v krajním případě z trombocytů vidíme pouze jemné ohraničení.
- Části jader megakaryocytů – úlomky jader, části jader nebo holá jádra megakaryocytů, typické např. u myeloproliferativních onemocnění.

2.7 Koagulační vyšetření

Hemokoagulace slouží k vytvoření pevného trombu, pomocí koagulačních faktorů, které tvoří tzv. koagulační kaskádu. Za jeden z hlavních cílů je označována přeměna fibrinogenu na fibrin, který následně tvoří pevnou fibrinovou síť. Starý model byl tvořen tzv. vnitřní a vnější cestou. Nový model hemokoagulace vychází ze starého modelu a skládá se z těchto tří fází, iniciace, amplifikace a propagace. Pomocí koagulačních metod vyšetřujeme přítomnost a aktivitu koagulačních faktorů [21].

2.7.1 Protrombinový čas (PT)

PT je čas srážení plazmy rekombinantním lidským tromboplastinem a Ca^{2+} . Do dekalciifikované plazmy se přidá tkáňový tromboplastin spolu s přebytkem Ca^{2+} . Změří se čas do vzniku fibrinové sraženiny. Využívá se k hodnocení vnější cesty koagulace.

Interpretace výsledků je možná dvěma způsoby. Poměr času (ratio) 0,8-1,2 a INR normalizovaný poměr pomocí ISI (mezinárodní index citlivosti) rozmezí 2,0-3,0 [20].

2.7.2 Aktivovaný parciální tromboplastinový čas (APTT)

Do dekalciifikované plazmy je přidán kaolin a kefalinový komplex s přebytkem Ca^{2+} . Měří se čas do vzniku fibrinové sraženiny. Využívá se k hodnocení vnitřní cesty koagulace.

Interpretace výsledků je možná dvěma způsoby. Poměr času (ratio) 0,8-1,2 a čas v sekundách 24-36 sekund [20].

2.7.3 D-dimery

D-dimery (Ddim) jsou vysoce senzitivní metoda pro diagnostiku a vyloučení hluboké žilní trombózy, plicní embólie a diseminované intravaskulární koagulopatie. Vyšetřuje se pomocí imunoturbidimetrické latexové metody (Latex imunoturbidimetry assay "high sensitive"). Hranice referenčního intervalu uvádí ÚVN-VFN Praha 0-0,230 mg/L [20].

2.7.4 Trombinový čas (TT)

TT je koagulační test závislý na koncentraci fibrinogenu. Jedná se o sledování času po přidavku malého množství trombinu k neředěné vyšetřované plazmě. Norma 14-20,5 sekund [20].

2.7.5 Fibrinogen (Fib-C)

Koncentrace fibrinogenu se stanoví pomocí modifikovaného TT (ředěná plazma inkubována s vysokou koncentrací trombinu). Měří se čas přeměny fibrinogenu na fibrin. Norma 1,8-4,2 g/L [20].

2.7.6 Antitrombin (AT)

Hlavní přirozený inhibitor srážení. Uplatňuje se princip chromogenní metody. Heparin a trombin jsou přidány ke vzorku plazmy a všechny volný AT se váže na přidáný trombin za vzniku inaktivního komplexu. Norma 80-120 % aktivity [20].

3 Cíle práce

Cílem diplomové práce je retrospektivně zhodnotit průběh onemocnění COVID-19 dle dokumentace ÚVN-VFN Praha, u hospitalizovaných pacientů, v době od 1. 1. 2021 do 31. 12. 2021.

Hlavní cíl:

- Analyzovat vztah mezi hematologickými parametry a klinickým průběhem onemocnění COVID-19.

Dílčí cíle:

- Zjistit, zda se liší hematologické parametry dle pohlaví.
- Zjistit, zda se liší hematologické parametry dle mortality.
- Zjistit, zda se liší hematologické parametry dle potřeby UPV.
- Zjistit, zda se liší hematologické parametry dle potřeby kyslíku.
- Zjistit, zda se liší hematologické parametry dle potřeby ECMO.
- Zjistit, zda se liší hematologické parametry dle potřeby péče na JIP.
- Zjistit, zda se liší hematologické parametry dle potřeby HFNO.
- Zjistit, zda se liší hematologické parametry dle stavu pacienta.
- Hodnocení morfologických a početních změn leukocytů u pacientů s onemocněním COVID-19.

4 Metody

Následující kapitola obsahuje popis metod, které byly použity pro zpracování praktické části této diplomové práce.

4.1 Požadované souhlasy

Pro získání patientských dat z databáze ISIN (informační systém pro infekční nemoci), bylo třeba schválení žádosti s možností využití anonymizovaného zpracování těchto dat. Žádost byla schválena náměstkyní ředitele pro nelékařské zdravotnické profese a řízení kvality zdravotní péče Mgr. Lenkou Gutovou, MBA, LL. M., dne 21. 3. 2023.

4.2 Charakteristika souboru dat

Byl vytvořen soubor dat dospělých pacientů s diagnózou U07.1 (COVID-19, virus laboratorně prokázán). Pacienti byli hospitalizováni v ÚVN-VFN Praha od 1. 1. 2021 do 31. 12. 2021. Databáze dat obsahuje pohlaví, věk, laboratorní hodnoty krevního obrazu včetně diferenciálního rozpočtu leukocytů, koagulačních parametrů viz tabulka 4.1 a 4.2. Součástí je také návaznost na ID laboratorní žádanky a ID klinického testu v systému ISIN. Propojení proběhlo pomocí ID žádanek. Klinická data obsahují informace o kyslíkové léčbě pacientů, závažnosti stavu pacienta, či jejich mortalitě.

Tabulka 4.1 Sledované parametry KO

Vyšetření	Jednotky měření
WBC	$10^9/L$
RBC	$10^{12}/L$
HGB	g/L
HCT	Ratio
MCV	fl
MCH	pg
MCHC	g/L
PLT	$10^9/L$
RDW	%
MPV	fl
PDW	fl
NRBC absolutní	$10^9/L$
NRBC relativní	/100 WBC
RET	%
RET	$10^9/L$
DIFF strojový	$10^9/L$
DIFF mikroskopický	%

Tabulka 4.2 Sledované parametry koagulace

Vyšetření	Jednotky měření
PT-ratio	-
PT	S
aPTT-ratio	-
aPTT	S
Fibrinogen	g/L
Antitrombin	%
D-dimery	mg/L

4.3 Vlastní materiál a metody

Odběr žilní krve dle pokynů ČHS ČLS JEP [24] byl prováděn na lůžkových částech klinik ÚVN-VFN Praha. Vyšetření hematologických parametrů krevního obrazu a diferenciálního rozpočtu leukocytů bylo prováděno z žilní krve (zkumavka Greiner Bio – One, typ Vacuette antikoagulant K3EDTA – soli kyseliny etylendiamintetraoctové). Pro koagulační vyšetření byla použita také žilní krev (zkumavka Greiner Bio-One typ Vacuette antikoagulant citrát sodný 0,109 mol/L).

4.3.1 Vyšetření krevního obrazu včetně diferenciálního rozpočtu leukocytů

Po příjmu vzorku do hematologické laboratoře byl materiál identifikován, zadán do LIS (přiřazení identifikačního čísla do laboratorního systému). Bezprostředně před testem byl vzorek dobře promíchán na třepačce.

Vzorek byl změřen na automatickém analyzátoru Sysmex řady XN-1500 nebo XN-1000. Vzorky byly po analýze uchovány ještě 5 hodin, pro možnost opakovaného zpracování vzorku. Při patologii se hodnotil diferenciální rozpočet leukocytů pod digitálním mikroskopem CellaVision-DM-1200 nebo mikroskopem Olympus CX-41.

Změřené vzorky byly z forezních důvodů skladovány v laboratoři do druhého dne. Lze pouze zkontrolovat orientačně počet leukocytů a objemy buněk, ale morfologie buněk může být zkreslena kvůli jejich rozpadu.

4.3.2 Vyšetření koagulačních parametrů

Vzorek byl ihned po příjmu řádně označen a zadán do LIS. Poté centrifugován 15 minut při 2500G. Následná analýza byla provedena z plazmy.

Vzorek byl změřen na automatickém analyzátoru ACL 550 nebo ACL 500. Vzorky byly po analýze uchovány ještě 4-6 hodin, pro možnost opakovaného zpracování vzorku dle vyšetření. Po analýze byly změřené vzorky skladovány pouze z forezních důvodů v laboratoři do druhého dne.

Všechny automatické analyzátoři jsou v akreditované laboratoři kontinuálně kontrolovány nejen ze strany odpovědných pracovníků laboratoře (analytik, laborant) a interních auditorů, ale také pod externím akreditačním orgánem ČIA. Laboratoře se řídí mezinárodní zdravotnickou laboratorní normou ČS EN ISO 15189.

4.4 Statistické metody

Statistické vyhodnocení včetně grafického zobrazení bylo provedeno pomocí programů Statistica® 12 (Dell, StatSoft, Inc. (STATISTICA Software Ltd., Tulsa, USA) <http://www.statsoft.com>, 2002) a MedCalc® (MedCalc® Statistical Software version 20.010 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2021). U jednotlivých parametrů krevního obrazu a koagulace byla provedena základní deskriptivní statistika (průměr, medián, směrodatná odchylka, CV atd.). Pro vyhodnocení normality dat byl dle jejich počtu využit K-S (Kolmogorov–Smirnov test) a Lilieforsova varianta. Graficky byla normalita zobrazena histogramem s Gausovým rozdělením. Pro porovnání dat byl použit Mann-Whitney test pro duální rozdělení, v rámci víceskupinového rozdělení byla použita Kruskal-Walisova ANOVA (dále jen K-W ANOVA) Pro vývoj hematologických parametrů v rámci onemocnění byly použity boxploty (tzv. box-and-whisker ploty). Pravděpodobnost závisle proměnných byla testována logistickou regresí.

4.4.1 Normalita dat

Pro ověření normality byl použit Kolmogorov-Smirnov test a Lilieforsova varianta. Graficky byla normalita dat znázorněna pomocí grafů histogramů viz obrázek 5.1 a obrázek 5.2. Byla testována hypotéza, která tvrdí, že náš soubor dat je normálně rozložen na hladině významnosti 5 %.

Dle grafického znázornění a výsledků testů data nevyhovují normálnímu rozdělení. Na hladině významnosti 5 % můžeme tvrdit, že naše data nejsou normálně rozložena.

4.4.2 Statistické neparametrické testy

Byly použity neparametrické testy. U neparametrických testů se ve výpočtech počítá s pořadím dat, nikoli přímo s hodnotami.

Jednovýběrový Wilcoxonův test

Jednovýběrový Wilcoxonův test, je test symetrie kolem testovací hodnoty. Tento test je neparametrickou alternativou jednovýběrového t-testu. Lze jej použít, když nejsou data normálně rozložena.

Mann – Whitney test

Mann-Whitneyho test je dvouvýběrový test u nenormálního rozložení dat. Neparametrická verze dvouvýběrového t-testu. Používáme, pokud chceme zjistit, zda se data liší dle dvou skupin např. přeživší a nepřeživší, nebo muži a ženy. Nulová hypotéza bývá obvykle stanovena tak, že se soubory dat od sebe neliší.

Kruskal – Walisova ANOVA

Srovnání tří a více faktorů, dle jedné proměnné. Navazuje na neparametrický Wilcoxonův test. Nulová hypotéza je stanovena tak, že se ani dvě skupiny od sebe neliší. Potvrzením alternativní hypotézy můžeme říct, že se od sebe statisticky významně liší alespoň dvě skupiny.

Logistická regrese

Logistická regrese je statistická metoda pro analýzu souboru dat, ve kterém existuje jedna nebo více nezávislých proměnných, které určují výsledek. Musí být přítomna závislá proměnná ve formátu 0 nebo 1, pravda/nepravda tzv. dichotomická data. Cílem je najít, co nejvhodnější model k popisu vztahu mezi závislou (dichotomickou) hodnotou a ostatními nezávislými hodnotami. V logistické regresi odhadujeme parametry, které maximalizují pravděpodobnost pozorování hodnot vzorku.

5 Výsledky

5.1 Popisná statistika

Byla analyzována data 688 pacientů hospitalizovaných s diagnózou COVID-19. Z celkového počtu bylo 289 (42 %) žen a 397 (48 %) mužů. Průměrný věk všech pacientů byl 68 ± 15 let viz tabulka 5.3. Zemřelo 101 (14,6 %) pacientů. Průměrný věk nepřezivších byl 77 ± 11 let. Dle věku můžeme říct, že bylo 436 (63,4 %) pacientů starších než 65 let, do 25 let byli v souboru pouze 3 pacienti. Popisná statistika parametrů KO je uvedena v tabulce 5.1, pro DIFF v tabulce 5.2 a při koagulační parametry v tabulce 5.3.

Stav pacientů byl rozdělen do 4 kategorií – bez příznaků, lehký, středně těžký a těžký průběh. Bez příznaků bylo 27 (4 %) pacientů a jejich průměrný věk byl 71 ± 18 let. V lehkém stavu bylo 145 (21 %) pacientů s průměrným věkem 69 ± 16 let. Střední stav se vyznačoval průměrným věkem 69 ± 16 let, do této skupiny patřilo 342 (50 %) pacientů. Těžký stav byl nejzávažnější a postihl 174 (25 %) pacientů s průměrným věkem 67 ± 13 let.

Potřeba kyslíkové terapie a potřeba terapie na JIP, byla u pacientů COVID-19 velmi častá. Kyslík potřebovalo 453 (66 %) pacientů, HFNO 153 (22 %) pacientů, UPV 70 (10 %) pacientů, ECMO pouze 3 pacienti a na JIP bylo hospitalizováno 151 (22 %) pacientů.

Mikroskopický diferenciální rozpočet leukocytů jsme hodnotili u 157 (22,8 %) pacientů. Z toho jsme vyhodnotili morfologické změny pouze u 85 (54,1 %) pacientů. Nejvíce zastoupená změna byla hrubá granulace neutrofilů 84 (98,8 %), následovaná druhou nejpočetnější změnou, vakuolizací neutrofilů 69 (81,2 %). Méně zastoupené změny jsme hodnotili změny na lymfocytech 60 (70,6 %), hyposegmentaci neutrofilů 36 (42,4 %), změny na monocytech 15 (17,6 %) a ojediněle hypersegmentaci neutrofilů 7 (8,2 %).

Tabulka 5.1 Popisná statistika KO

Popisná statistika KO										
Proměnná	N	Průměr	Med	Min	Max	0,25	0,75	Rozptyl	Smodch	Var.koef.
HCT	686	0,4	0,4	0,2	0,6	0,3	0,4	0,0	0,1	14,6
HGB (g/L)	686	131,3	134,0	70,0	202,0	119,0	146,0	421,5	20,5	15,6
MCV (fL)	686	86,6	86,6	57,4	108,4	83,7	89,6	31,3	5,6	6,5
MCH (pg)	686	29,6	29,7	17,2	38,2	28,4	30,8	5,5	2,3	7,9
MCHC (g/L)	686	341,2	343,0	262,0	379,0	334,0	350,0	196,5	14,0	4,1
MPV (fl)	686	10,4	10,4	0,0	13,6	9,9	11,2	2,4	1,5	14,8
PDW (%)	686	12,0	11,9	0,0	22,7	10,5	13,5	7,0	2,6	22,0
RDW (%)	686	13,5	13,2	11,1	27,4	12,4	14,2	3,0	1,7	12,8
PLT (x10 ⁹ /L)	686	224,5	202,0	10,0	737,0	155,0	271,0	10591,6	102,9	45,8
RBC (x10 ¹² /L)	686	4,5	4,5	1,9	6,9	4,0	4,9	0,5	0,7	15,8
WBC (x10 ⁹ /L)	686	7,9	6,8	1,1	116,0	5,0	9,2	37,2	6,1	76,8

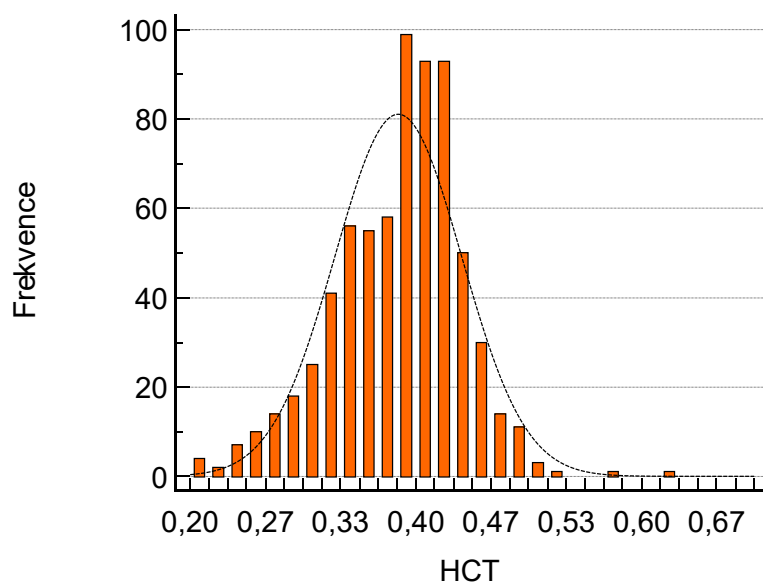
Tabulka 5.2 Popisná statistika DIFF

Popisná statistika DIFF										
Proměnná	N	Průměr	Med	Min	Max	0,25	0,75	Rozptyl	Smodch	Var.koef.
IG %	660,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	134,3
IG	660,0	0,1	0,0	0,0	3,9	0,0	0,1	0,1	0,2	242,9
Neut AS (x10 ⁹ /L)	661,0	5,8	5,0	0,0	24,0	3,4	7,1	12,7	3,6	61,3
Mono AS (x10 ⁹ /L)	661,0	0,6	0,5	0,0	9,6	0,3	0,7	0,3	0,5	93,5
EO AS (x10 ⁹ /L)	654,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,1	201,4
Baso AS (x10 ⁹ /L)	661,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	105,6
EO S	652,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	200,3
Baso S	661,0	0,0	0,0	0,0	1,6	0,0	0,0	0,0	0,1	1207,3
Lymfo AS (x10 ⁹ /L)	661,0	1,4	1,0	0,0	101,2	0,7	1,4	19,9	4,5	323,6
N/Ly	661,0	7,0	5,2	0,0	80,2	3,0	8,4	53,5	7,3	103,8
Mono S	661,0	0,1	0,1	0,0	0,7	0,0	0,1	0,0	0,0	63,3
Lymfo S	661,0	0,2	0,1	0,0	0,9	0,1	0,2	0,0	0,1	66,1
NEU S	661,0	0,7	0,8	0,0	1,0	0,7	0,8	0,0	0,1	19,9

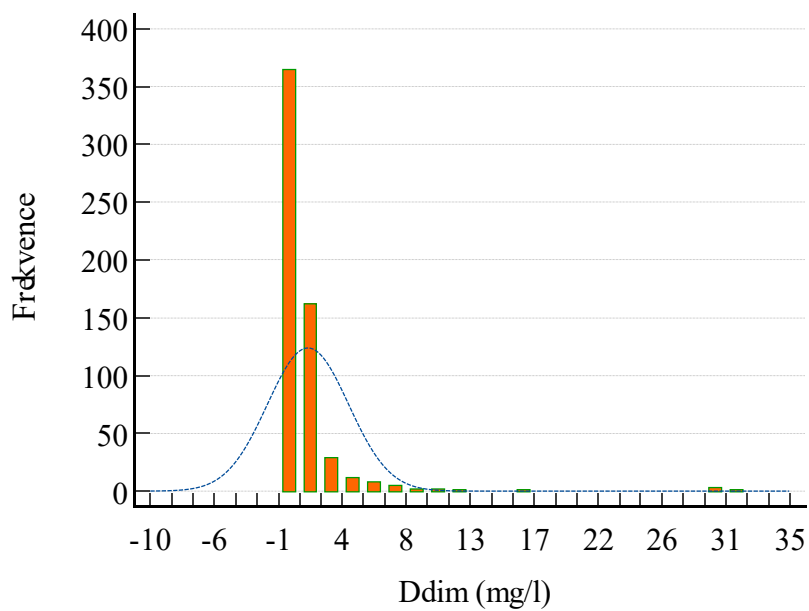
Tabulka 5.3 Popisná statistika KOAG

Popisná statistika KOAG										
Proměnná	N	Průměr	Med	Min	Max	0,25	0,75	Rozptyl	Smodch	Var.koef.
AT (%)	20,0	93,1	91,3	59,2	115,8	81,2	108,3	249,5	15,8	17,0
FIB C (g/L)	32,0	4,5	4,1	2,4	8,9	3,5	4,8	2,5	1,6	35,4
APTT ratio	352,0	1,2	1,1	0,6	2,7	1,0	1,3	0,1	0,3	24,7
APTT (s)	352,0	35,3	33,4	19,0	79,4	29,7	38,3	75,9	8,7	24,7
PT ratio	363,0	1,4	1,1	0,8	10,7	1,1	1,3	0,9	0,9	69,4
PT (s)	363,0	15,4	12,9	9,4	120,7	11,9	14,3	113,6	10,7	69,4
Ddim (mg/L)	591,0	1,1	0,4	0,0	30,6	0,3	0,7	8,2	2,9	261,6
Věk	688,0	68,4	71,0	23,0	100,0	58,0	80,0	237,1	15,4	22,5

5.2 Normalita dat



Obrázek 5.1 Graf normality dat HCT



Obrázek 5.2 Graf normality dat D-dimery

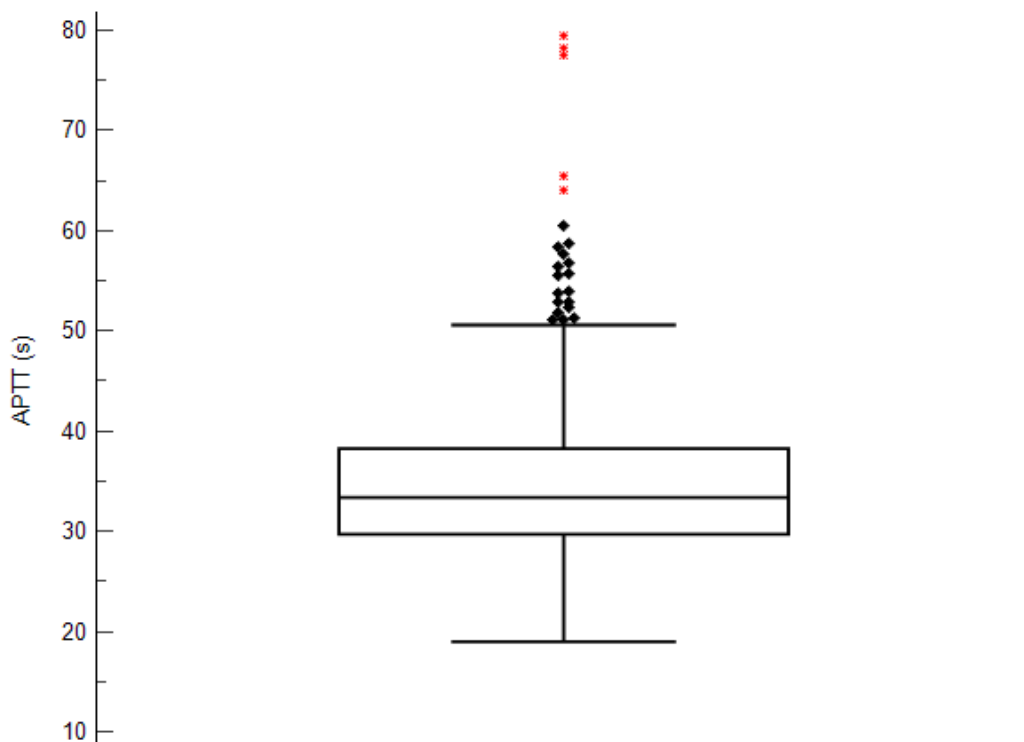
5.3 Použité grafy ve statistice

5.3.1 Krabicové grafy

Box-and-whisker graph: představuje centrální pole hodnoty od dolního do horního kvartilu (25 až 75 percentil). Střední čára představuje medián. Vodorovná čára se táhne od minimální po maximální hodnotu, přičemž vylučuje vnější a vzdálené hodnoty, které jsou zobrazeny jako samostatné body viz obrázek 5.3.

Vnější hodnota je definována jako hodnota, která je menší než dolní kvartil minus 1,5násobek mezikvartilového rozpětí nebo větší než horní kvartil plus 1,5násobek mezikvartilového rozpětí (vnitřní ohraničení) – černý kosočtverec.

Vzdálená hodnota je definována jako hodnota, která je menší než dolní kvartil minus trojnásobek mezikvartilového rozpětí nebo větší než horní kvartil plus trojnásobek mezikvartilového rozpětí (vnější ohrady). Tyto hodnoty jsou vykresleny pomocí jiné značky ve výstražné barvě grafu – červená hvězdička.



Obrázek 5.3 Graf rozložení dat APTT

5.4 Jednovýběrový Wilcoxonův test

H₀: Hladina D-dimerů se neliší od hodnoty 0,230 mg/l.

H_A: Hladina D-dimerů je větší než 0,230 mg/l.

p-hodnota <0,001

Na hladině významnosti 5 %, můžeme tvrdit, že je hladina D-dimerů statisticky významně větší. Potvrzujeme alternativní hypotézu.

H₀: Poměr lymfocytů se neliší od hodnoty 0,20.

H_A: Poměr lymfocytů jsou nižší než 0,20.

p-hodnota <0,001

Na hladině významnosti 5 %, můžeme tvrdit, že poměr lymfocytů je statisticky významně nižší než 0,20. Potvrzujeme alternativní hypotézu.

H₀: Poměr neutrofilů se neliší od hodnoty 0,70.

H_A: Poměr neutrofilů jsou vyšší než 0,70.

p-hodnota <0,001

Na hladině významnosti 5 %, můžeme tvrdit, že poměr neutrofilů je statisticky významně vyšší než 0,70. Potvrzujeme alternativní hypotézu.

Ostatní hematologické parametry nejsou dle (hraničních) fyziologických hodnot statisticky významné.

5.5 Mann-Whitney test

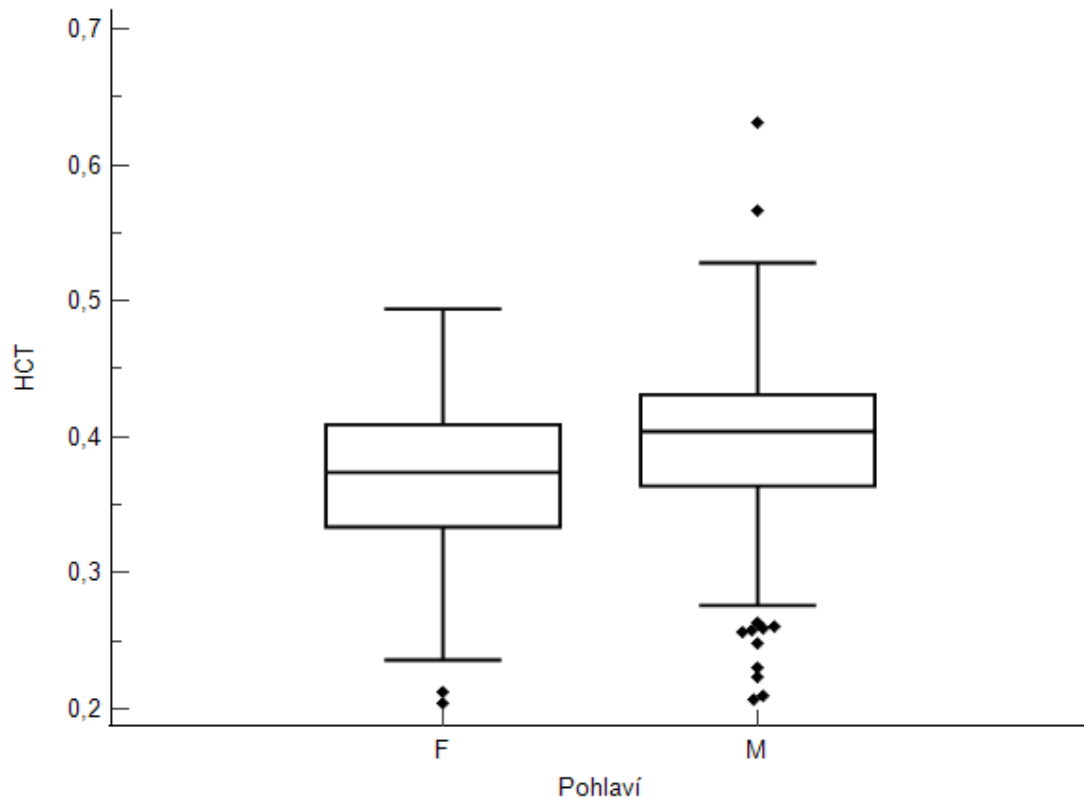
H₀: Neliší se parametry KO dle pohlaví.

H_A: Liší se parametry KO dle pohlaví.

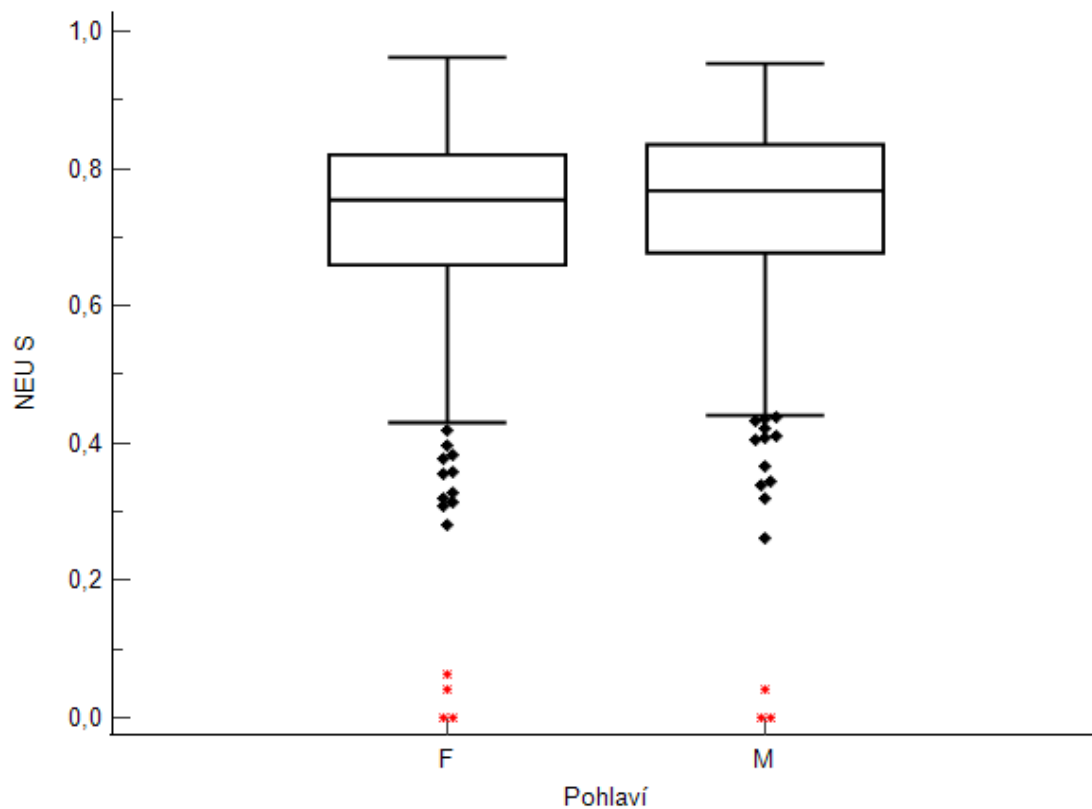
Tabulka 5.4 M-W test KO dle pohlaví

Mann-Whitney test KO dle pohlaví			
Proměnná	p-hodnota	N platné M	N platné F
WBC (x10 ⁹ /L)	0,014	397	289
RBC (x10 ¹² /L)	<0,001	397	289
HGB (g/L)	<0,001	397	289
HCT	<0,001	397	289
MCH (pg)	<0,001	397	289
MCHC (g/L)	<0,001	397	289
RDW (%)	<0,001	397	289
NEU S	0,026	387	274
N/Ly	0,035	387	274
Mono S	0,017	387	274
Neut AS (x10 ⁹ /L)	0,005	387	274
IG	0,015	386	274

Statisticky významné jsou parametry, které mají hodnotu $p < 0,05$. V tabulce 5.4 jsou uvedeny jen statisticky významné proměnné, pro tyto parametry platí alternativní hypotéza. Můžeme říci, že na hladině významnosti 5 % se liší parametry krevního obrazu dle pohlaví. Obrázek 5.4 znázorňuje pro ukázkou závislost HCT na pohlaví pacienta. Obrázek 5.5 znázorňuje pro ukázkou závislost NEU S na pohlaví pacienta.



Obrázek 5.4 M-W graf závislosti HCT na pohlaví



Obrázek 5.5 M-W graf závislosti NEU S na pohlaví

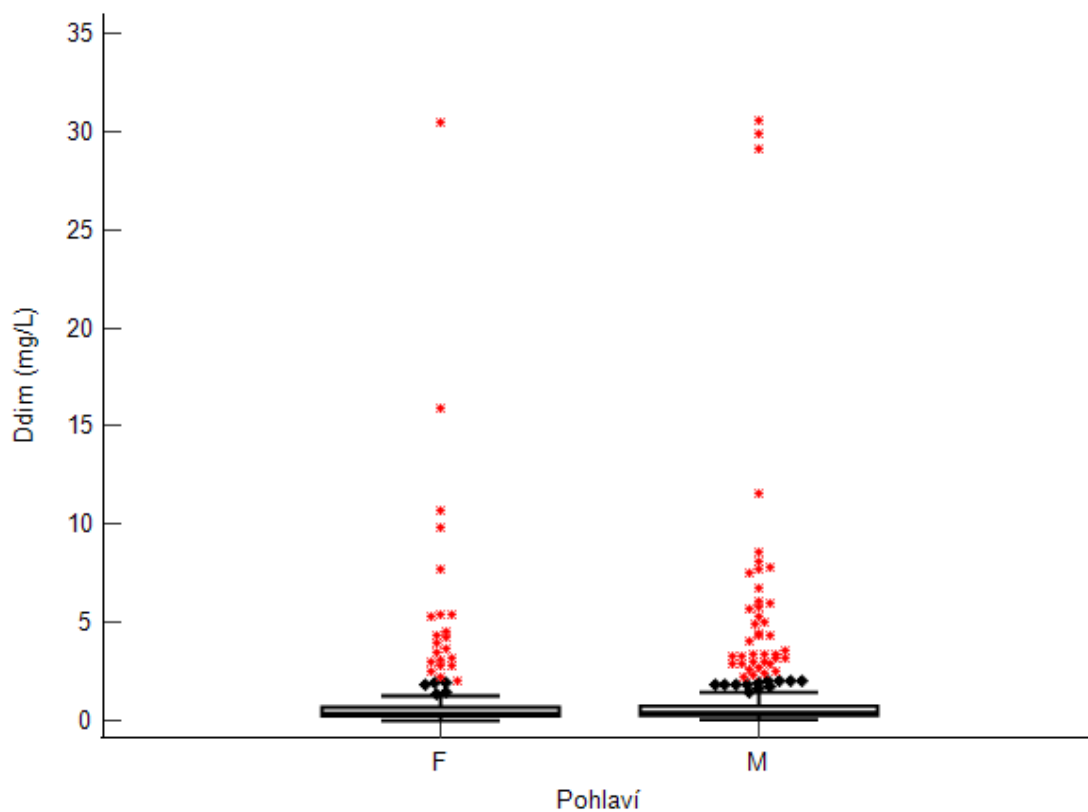
H0: Neliší se parametry KOAG dle pohlaví.

HA: Liší se parametry KOAG dle pohlaví.

Tabulka 5.5 M-W test KOAG dle pohlaví

Mann-Whitney test KOAG dle pohlaví			
Proměnná	p-hodnota	N platné 0	N platné 1
Ddim (mg/L)	0,032	350	241
PT (s)	<0,001	220	143
PT ratio	<0,001	220	143

Statisticky významné jsou parametry, které mají hodnotu $p < 0,05$. V tabulce 5.6 vidíme jen statisticky významné proměnné, pro tyto parametry platí alternativní hypotéza. Můžeme říci, že na hladině významnosti 5 % se liší parametry koagulace dle pohlaví. Obrázek 5.5 znázorňuje pro ukázkou závislost D-dimeru na pohlaví pacienta.



Obrázek 5.6 Graf závislosti D-dimerů na pohlaví

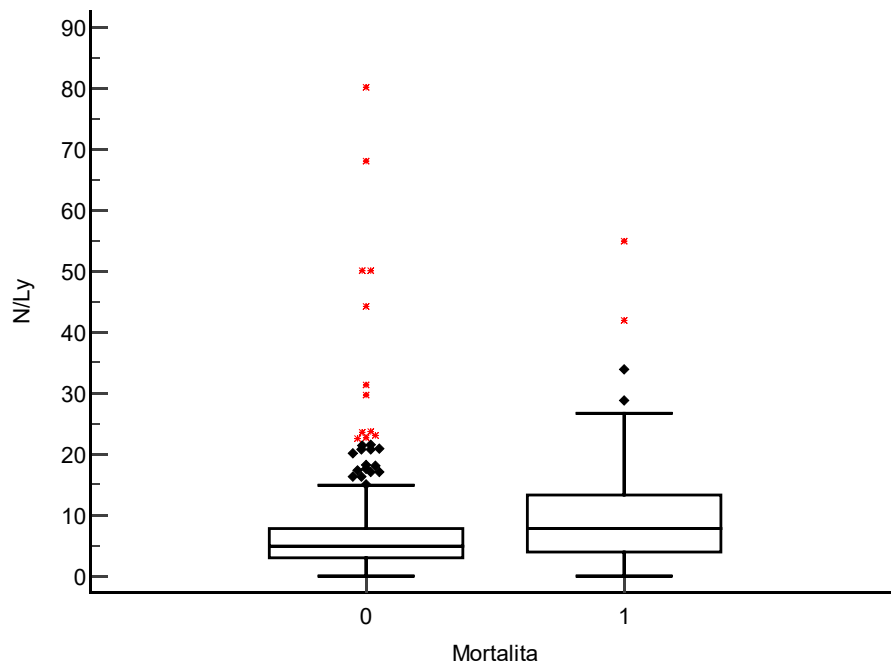
H₀: Neliší se parametry KO dle mortality.

H_A: Liší se parametry KO dle mortality.

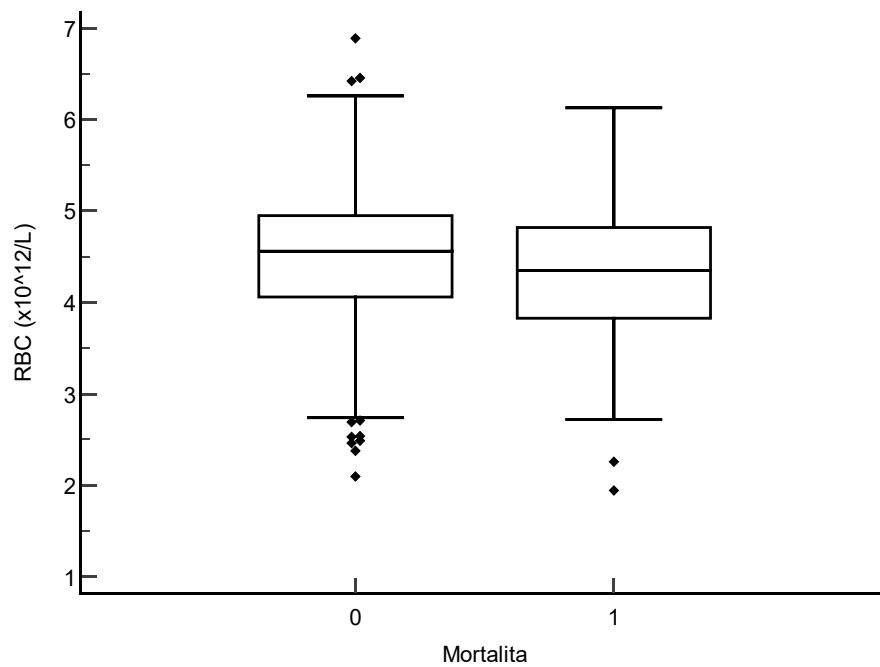
Tabulka 5.6 M-W test KO dle mortalita

Mann-Whitney test KO dle mortality			
Proměnná	p-hodnota	N platné 1	N platné 0
WBC (x10 ⁹ /L)	0,002	101	585
RBC (x10 ¹² /L)	0,012	101	585
MCV (fL)	0,042	101	585
MCH (pg)	0,019	101	585
RDW (%)	0,004	101	585
MPV (fl)	0,004	101	585
PDW (%)	0,033	101	585
NEU S	<0,001	96	565
Lymfo S	<0,001	96	565
N/Ly	<0,001	96	565
Mono S	<0,001	96	565
EO S	<0,001	93	559
Baso S	<0,001	96	565
Lymfo AS (x10 ⁹ /L)	0,002	96	565
EO AS (x10 ⁹ /L)	<0,001	95	559
Neut AS (x10 ⁹ /L)	0,001	96	565
IG	<0,001	96	564
IG %	0,001	96	564

Statisticky významné jsou parametry, které mají hodnotu $p < 0,05$. V tabulce 5.6 jsou uvedeny jen statisticky významné proměnné, pro tyto parametry platí alternativní hypotéza. Můžeme říci, že na hladině významnosti 5 % se liší parametry krevního obrazu dle mortality. Obrázky 5.7 a 5.8 znázorňují pro ukázkou závislost N/Ly a RBC na mortalitě pacienta.



Obrázek 5.7 Graf závislosti N/Ly na mortalitě



Obrázek 5.8 Graf závislosti RBC na mortalitě

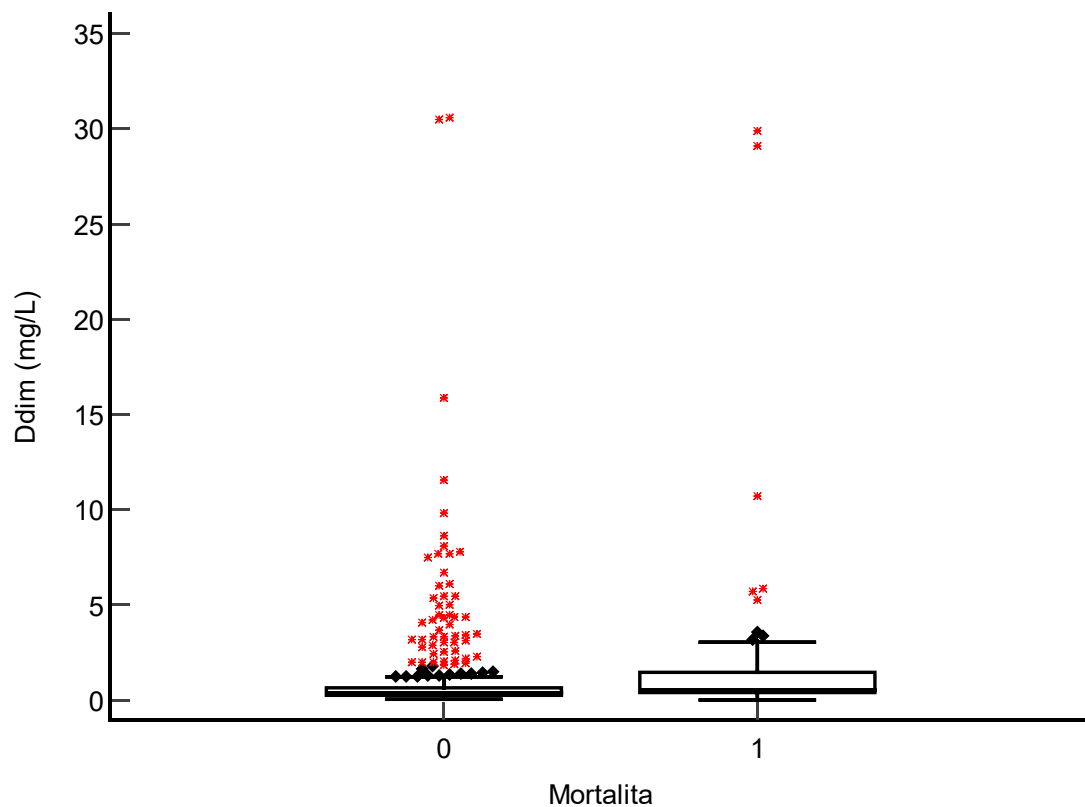
H0: Neliší se parametry KOAG dle mortality.

HA: Liší se parametry KOAG dle mortality.

Tabulka 5.7 M-W test KOAG dle mortality

Mann-Whitney test KOAG dle mortality			
Proměnná	p-hodnota	N platné 1	N platné 0
Ddim (mg/L)	<0,001	90	501
PT (s)	0,010	50	313
PT ratio	0,010	50	313
FIB C (g/L)	0,047	2	30

Statisticky významné jsou parametry, které mají hodnotu $p < 0,05$. V tabulce 5.7 jsou uvedeny jen statisticky významné proměnné, pro tyto parametry platí alternativní hypotéza. Můžeme říci, že na hladině významnosti 5 % se liší parametry koagulace dle mortality. Obrázek 5.9 znázorňuje pro ukázkou závislost D-dimerů na mortalitě pacienta.



Obrázek 5.9 Graf závislosti D-dimerů na mortalitě

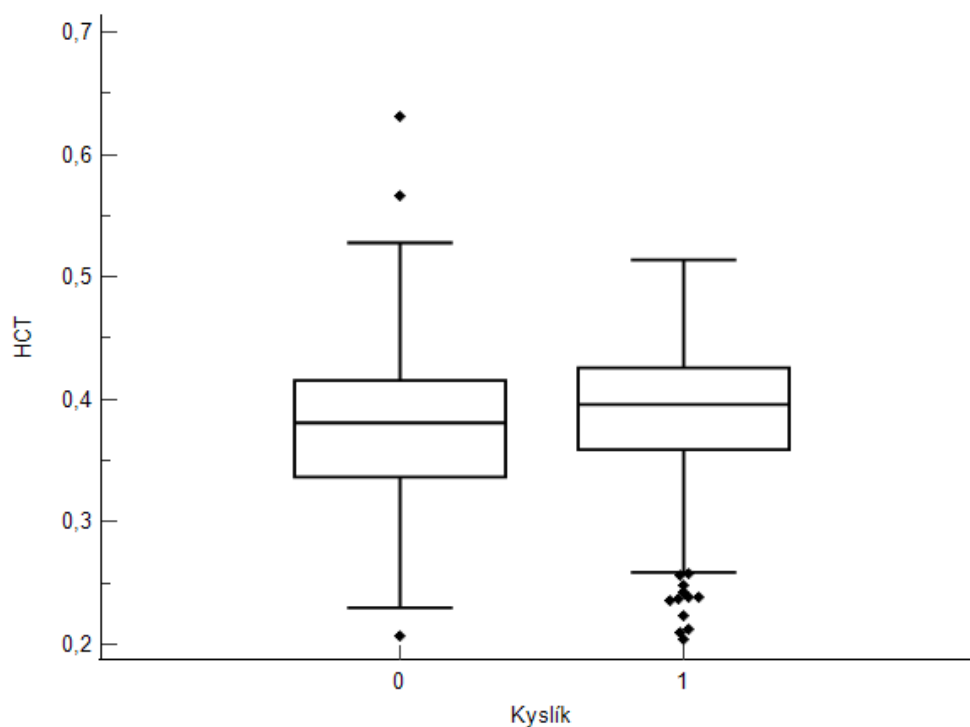
H0: Neliší se parametry KO dle potřeby kyslíku.

HA: Liší se parametry KO dle potřeby kyslíku.

Tabulka 5.8 M-W test KO dle kyslík

Mann-Whitney test KO dle kyslík			
Proměnná	p-hodnota	N platné 1	N platné 0
NEU S	<0,001	439	222
Lymfo S	0,016	439	222
N/Ly	0,006	439	222
Mono S	0,001	439	222
EO S	<0,001	433	219
Baso S	0,005	439	222
Lymfo AS (x10 ⁹ /L)	<0,001	439	222
Baso AS (x10 ⁹ /L)	0,003	439	222
EO AS (x10 ⁹ /L)	<0,001	435	219
Mono AS (x10 ⁹ /L)	0,001	439	222

Statisticky významné jsou parametry, které mají hodnotu $p < 0,05$. V tabulce 5.8 jsou uvedeny jen statisticky významné proměnné, pro tyto parametry platí alternativní hypotéza. Můžeme říci, že na hladině významnosti 5 % se liší parametry krevního obrazu dle potřeby kyslíku. Obrázek 5.10 znázorňuje pro ukázkou závislost HCT na potřebě kyslíku pro pacienta.



Obrázek 5.10 Graf závislosti HCT na kyslíku

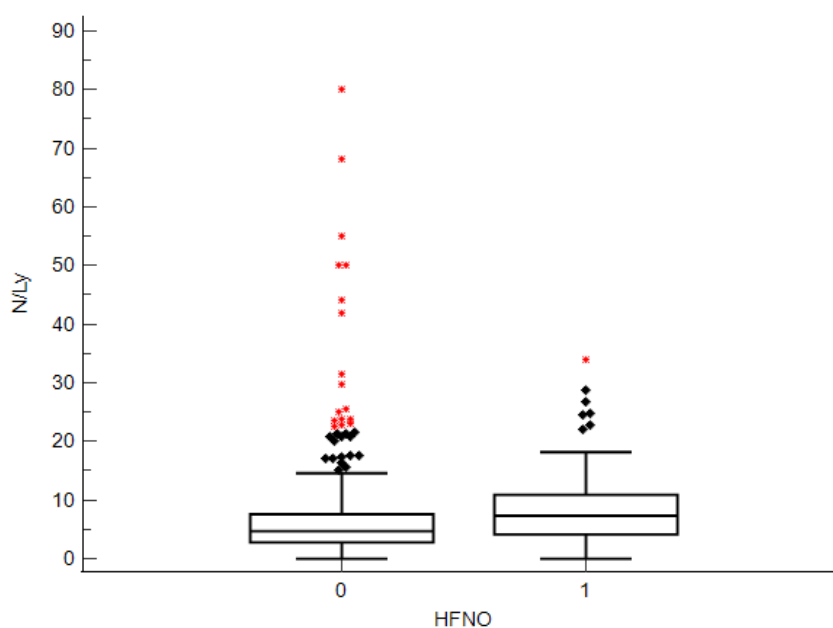
H0: Neliší se parametry KO dle potřeby HFNO.

HA: Liší se parametry KO dle potřeby HFNO.

Tabulka 5.9 M-W test KO dle HFNO

Mann-Whitney test KO dle HFNO			
Proměnná	p-hodnota.	N platné 1	N platné 0
NEU S	<0,001	152	509
Lymfo S	<0,001	152	509
N/Ly	<0,001	152	509
Mono S	<0,001	152	509
EO S	<0,001	151	501
Baso S	<0,001	152	509
Lymfo AS (x10 ⁹ /L)	<0,001	152	509
EO AS (x10 ⁹ /L)	<0,001	151	503
Mono AS (x10 ⁹ /L)	<0,001	152	509
Neut AS (x10 ⁹ /L)	<0,001	152	509
IG	<0,001	152	508
IG %	<0,001	152	508

Statisticky významné jsou parametry, které mají hodnotu $p < 0,05$. V tabulce 5.9 jsou uvedeny jen statisticky významné proměnné, pro tyto parametry platí alternativní hypotéza. Můžeme říci, že na hladině významnosti 5 % se liší parametry krevního obrazu dle potřeby HFNO. Obrázek 5.11 znázorňuje pro ukázkou závislost N/Ly na potřebě HFNO pro pacienta.



Obrázek 5.11 Graf závislosti N/Ly na potřebě HFNO

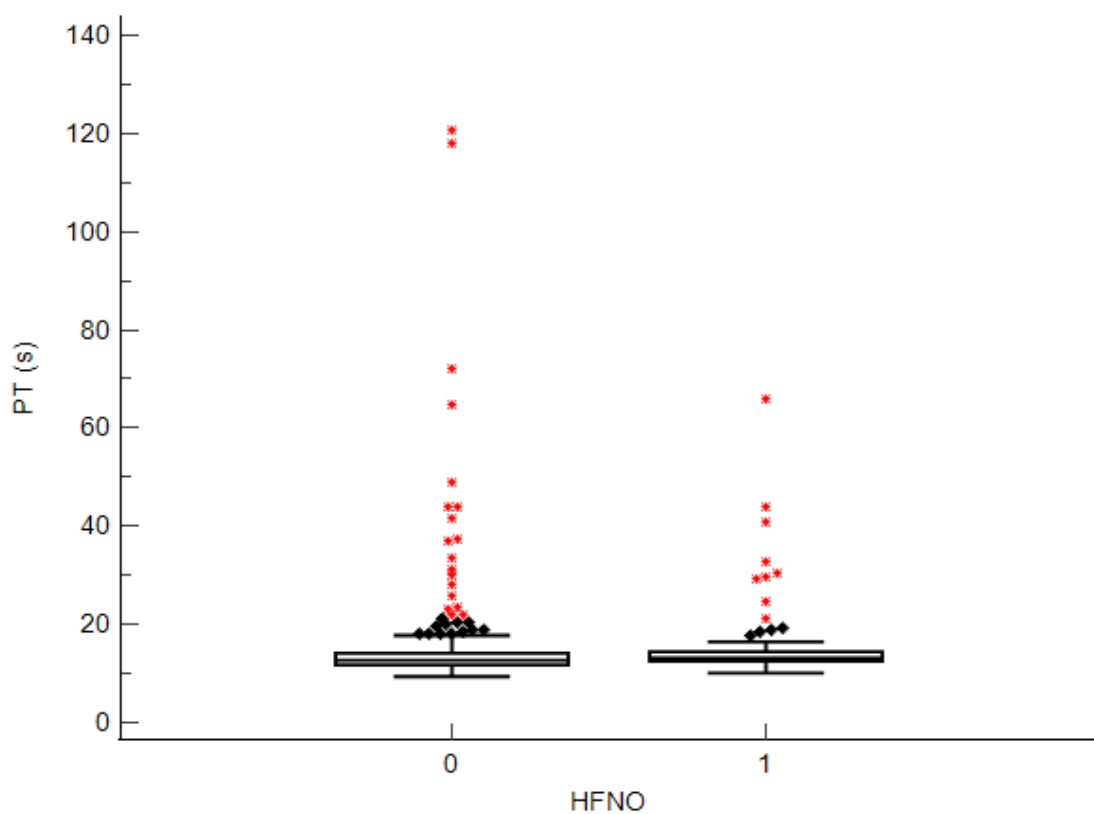
H0: Neliší se parametry KOAG dle potřeby HFNO.

HA: Liší se parametry KOAG dle potřeby HFNO.

Tabulka 5.10 M-W test KOAG dle HFNO

Mann-Whitney test KOAG dle HFNO			
Proměnná	p-hodnota	N platné 1	N platné 0
PT (s)	0,013	91	272
PT ratio	0,012	91	272

Statisticky významné jsou parametry, které mají hodnotu $p < 0,05$. V tabulce 5.10 jsou uvedeny jen statisticky významné proměnné, pro tyto parametry platí alternativní hypotéza. Můžeme říci, že na hladině významnosti 5 % se liší parametry koagulace dle potřeby HFNO. Obrázek 5.12 znázorňuje pro ukázkou závislost PT (s) na potřebě HFNO pro pacienta.



Obrázek 5.12 Graf závislosti PT (s) na potřebě HFNO

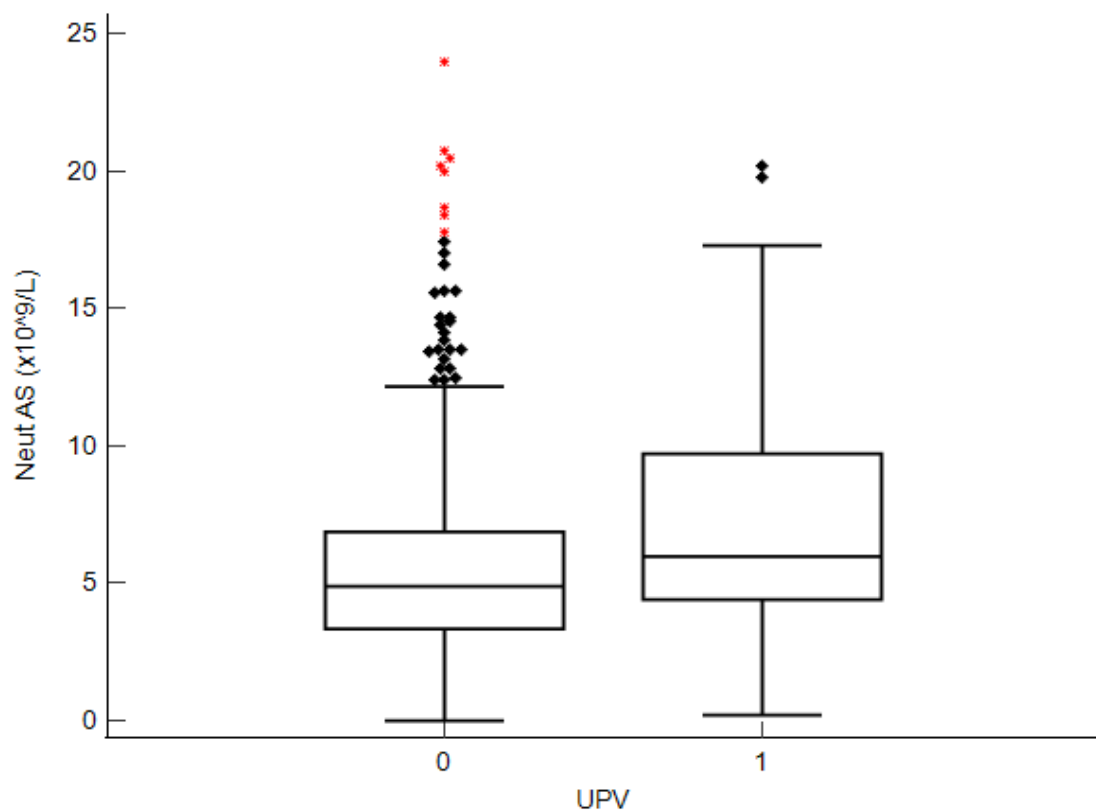
H0: Neliší se parametry KO dle potřeby UPV.

HA: Liší se parametry KO dle potřeby UPV.

Tabulka 5.11 M-W test KO dle UPV

Mann-Whitney test KO dle UPV			
Proměnná	p-hodnota	N platné 0	N platné 1
EO S	0,007	583	69
Baso S	0,030	592	69
Neut AS ($\times 10^9/L$)	<0,001	592	69
IG	0,001	591	69
IG %	0,035	591	69

Statisticky významné jsou parametry, které mají hodnotu $p < 0,05$. V tabulce 5.11 jsou uvedeny jen statisticky významné proměnné, pro tyto parametry platí alternativní hypotéza. Můžeme říci, že na hladině významnosti 5 % se liší parametry krevního obrazu dle potřeby UPV. Obrázek 5.13 znázorňuje pro ukázkou závislost Neut AS na potřebě UPV pro pacienta.



Obrázek 5.13 Graf závislosti Neut AS na potřebě UPV

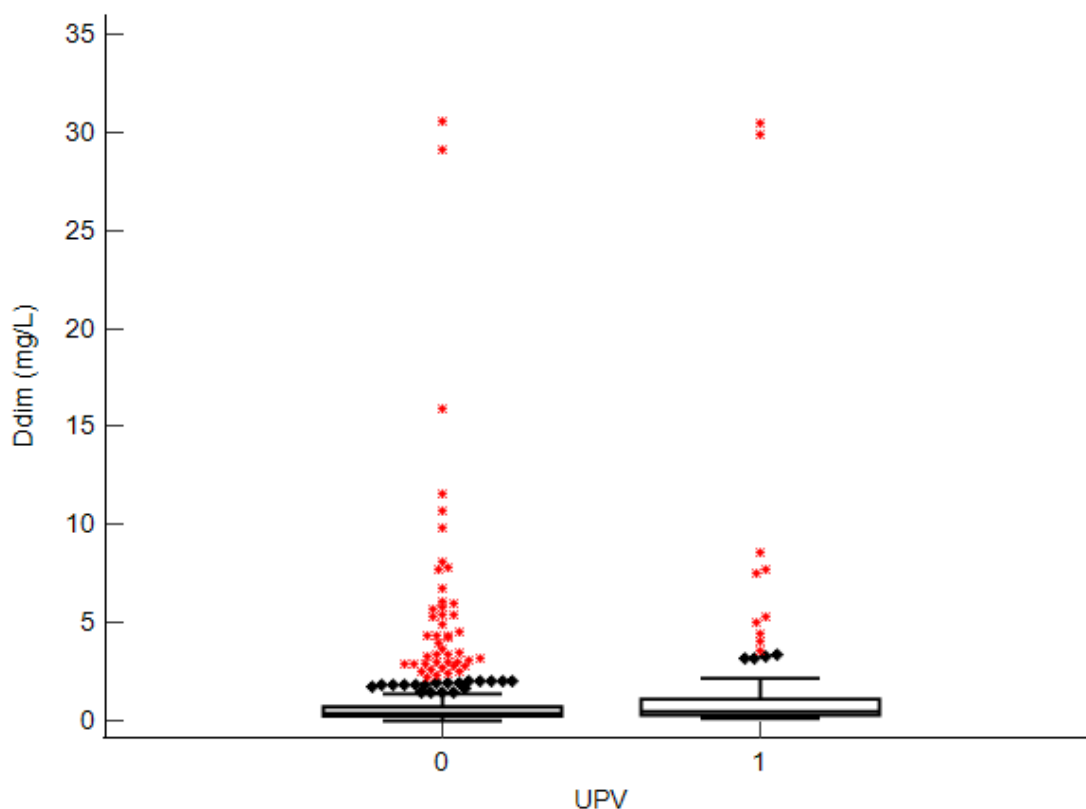
H0: Neliší se parametry KOAG dle potřeby UPV.

HA: Liší se parametry KOAG dle potřeby UPV.

Tabulka 5.12 M-W test KOAG dle UPV

Mann-Whitney test KOAG dle UPV			
Proměnná	p-hodnota	N platné 0	N platné 1
Ddim (mg/L)	0,024	526	65

Statisticky významné jsou parametry, které mají hodnotu $p < 0,05$. V tabulce 5.12 jsou uvedeny jen statisticky významné proměnné, pro tyto parametry platí alternativní hypotéza. Můžeme říci, že na hladině významnosti 5 % se liší parametry koagulace dle potřeby UPV. Obrázek 5.14 znázorňuje závislost D-dimerů na potřebě UPV pro pacienta.



Obrázek 5.14 Graf závislosti D-dimerů na potřebě UPV

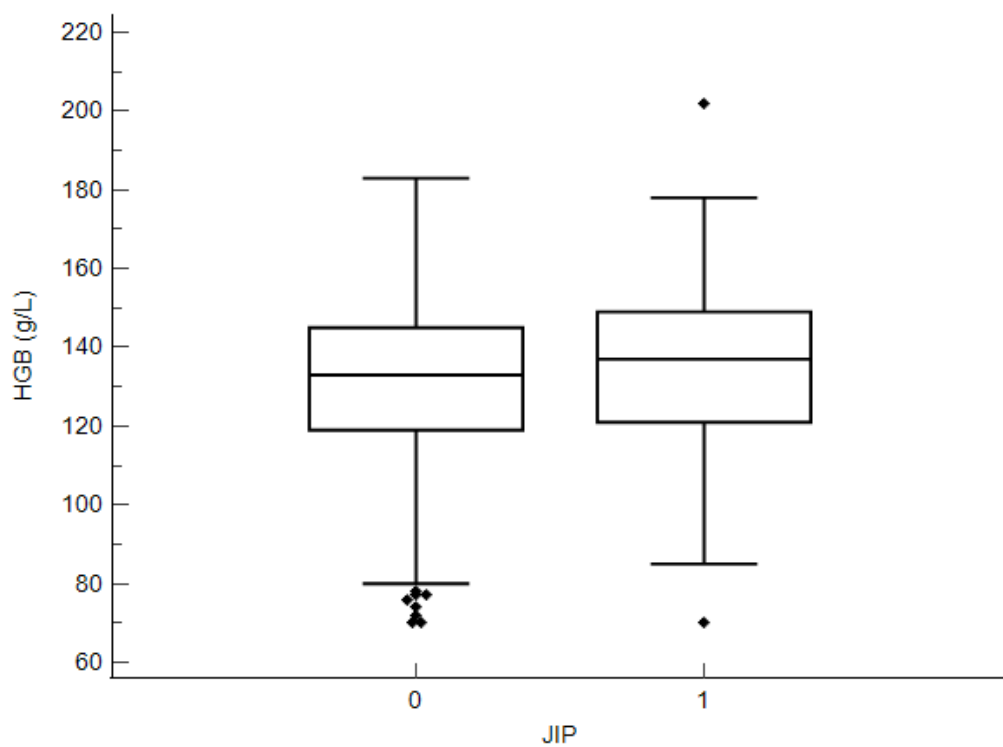
H0: Neliší se parametry KO dle JIP.

HA: Liší se parametry KO dle JIP.

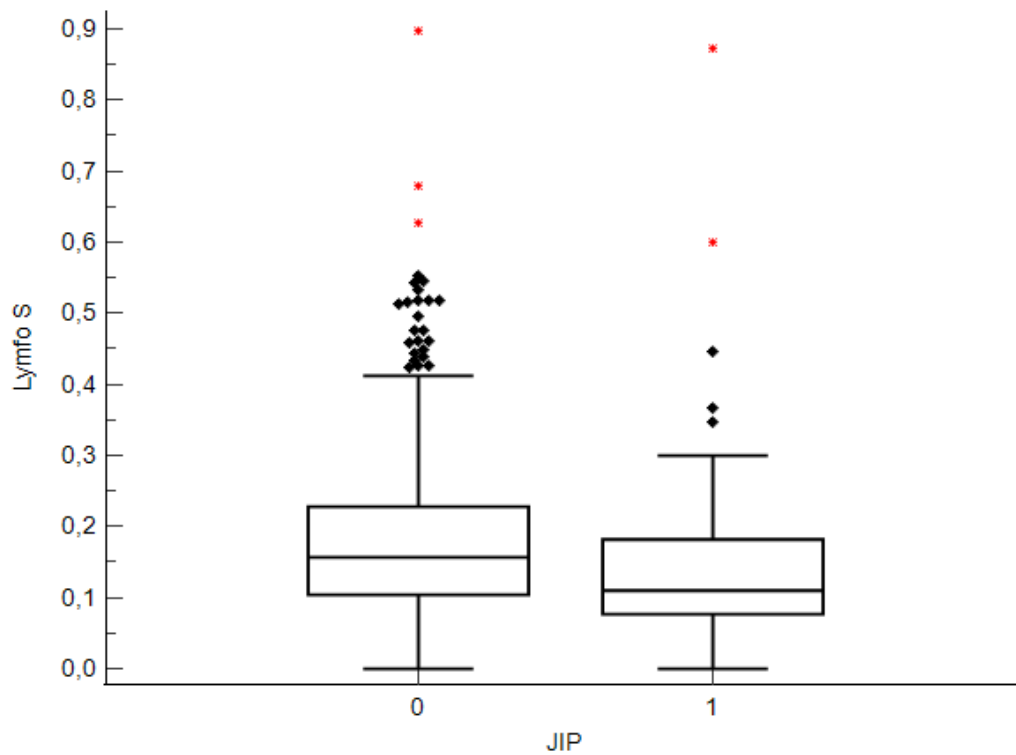
Tabulka 5.13 M-W test KO dle JIP

Mann-Whitney test KO dle JIP			
Proměnná	p-hodnota	N platné 0	N platné 1
WBC (x10 ⁹ /L)	0,003	535	151
RBC (x10 ¹² /L)	0,037	535	151
HGB (g/L)	0,012	535	151
MCHC (g/L)	0,015	535	151
PDW (%)	0,018	535	151
NEU S	<0,001	512	149
Lymfo S	<0,001	512	149
N/Ly	<0,001	512	149
Mono S	<0,001	512	149
EO S	<0,001	504	148
Baso S	<0,001	512	149
Lymfo AS (x10 ⁹ /L)	0,001	512	149
EO AS (x10 ⁹ /L)	<0,001	506	148
Mono AS (x10 ⁹ /L)	<0,001	512	149
Neut AS (x10 ⁹ /L)	<0,001	512	149
IG	<0,001	511	149
IG %	<0,001	511	149

Statisticky významné jsou parametry, které mají hodnotu $p < 0,05$. V tabulce 5.13 jsou uvedeny jen statisticky významné proměnné, pro tyto parametry platí alternativní hypotéza. Můžeme říci, že na hladině významnosti 5 % se liší parametry krevního obrazu dle JIP. Obrázek 5.15 a 5.16 znázorňuje pro ukázkou závislost HGB a Lymfo S na potřebě péče na JIP.



Obrázek 5.15 Graf závislosti HGB na potřebě JIP



Obrázek 5.16 Graf závislosti Lymfo S na potřebě JIP

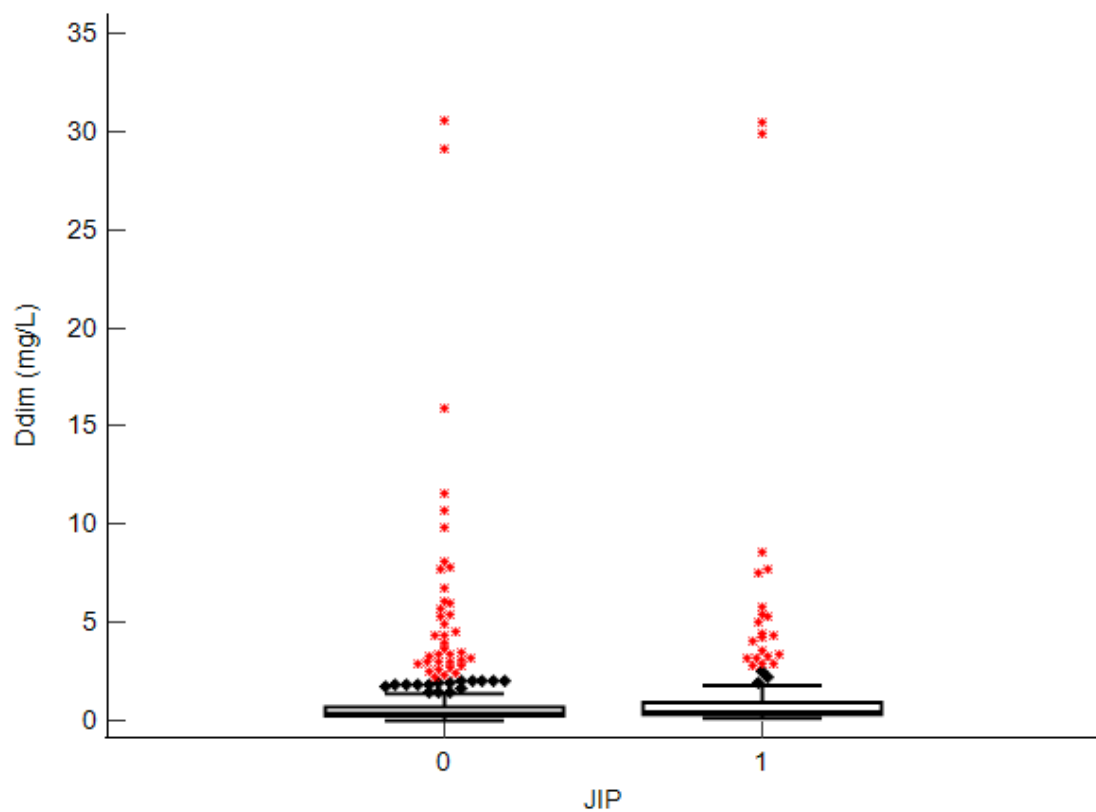
H0: Neliší se parametry KOAG dle JIP.

HA: Liší se parametry KOAG dle JIP.

Tabulka 5.14 M-W test KOAG dle JIP

Mann-Whitney test KOAG dle JIP			
Proměnná	p-hodnota	N platné 0	N platné 1
Ddim (mg/L)	0,005	453	138

Statisticky významné jsou parametry, které mají hodnotu $p < 0,05$. V tabulce 5.14 jsou uvedeny jen statisticky významné proměnné, pro tyto parametry platí alternativní hypotéza. Můžeme říci, že na hladině významnosti 5 % se liší parametry koagulace dle JIP. Obrázek 5.17 znázorňuje závislost D-dimerů na potřebě UPV pro pacienta.



Obrázek 5.17 Graf závislosti D-dimerů na potřebě JIP

H0: Neliší se parametry KO dle potřeby ECMO.

HA: Liší se parametry KO dle potřeby ECMO.

Tabulka 5.15 M-W test KO dle ECMO

Mann-Whitney test KO dle ECMO			
Proměnná	p-hodnota	N platné 0	N platné 1
Mono S	0,034	658	3
Mono AS (x10 ⁹ /L)	0,014	658	3

Statisticky významné jsou parametry, které mají hodnotu $p < 0,05$. V tabulce 5.15 jsou uvedeny jen statisticky významné proměnné, pro tyto parametry platí alternativní hypotéza. Můžeme říci, že na hladině významnosti 5 % se liší parametry krevního obrazu dle potřeby ECMO. Graf neuvádíme z důvodu zkrácení malým počtem pacientů.

H0: Neliší se parametry KOAG dle potřeby ECMO.

HA: Liší se parametry KOAG dle potřeby ECMO.

Tabulka 5.16 M-W test KOAG dle ECMO

Mann-Whitney test KOAG dle ECMO			
Proměnná	p-hodnota	N platné 0	N platné 1
Ddim (mg/L)	0,576	588	3

Statisticky významné jsou parametry, které mají hodnotu $p < 0,05$. V tabulce 5.16 je uvedeno jediné koagulační vyšetření, které měli všichni pacienti, kteří potřebovali ECMO. Můžeme říci, že na hladině významnosti 5 % se neliší hodnoty D-dimerů dle potřeby ECMO. Ostatní vyšetření KOAG byly velmi málo zastoupené, zde nelze M-W test provést. Graf neuvádíme z důvodu zkrácení malým počtem pacientů.

5.6 Kruskal-Wallisova ANOVA

Pro vyhodnocení zda se liší hematologické parametry dle závažnosti stavu pacienta. Zároveň tedy dle potřeby kyslíku, jsme použili Kruskal-Wallisovu ANOVU. Na hladině významnosti 5 % můžeme tvdit, že se alespoň mezi dvěma skupinami liší. Statisticky významné parametry jsou uvedeny v tabulce 5.17.

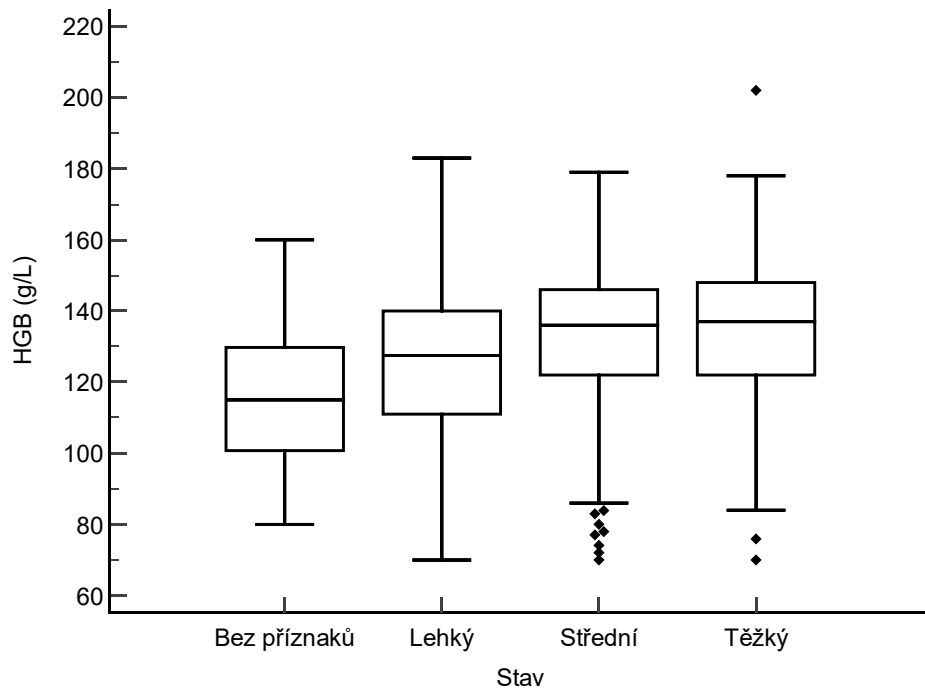
H₀: Parametry KO se neliší dle stavu pacienta.

H_A: Parametry KO se liší alespoň mezi dvěma skupinami.

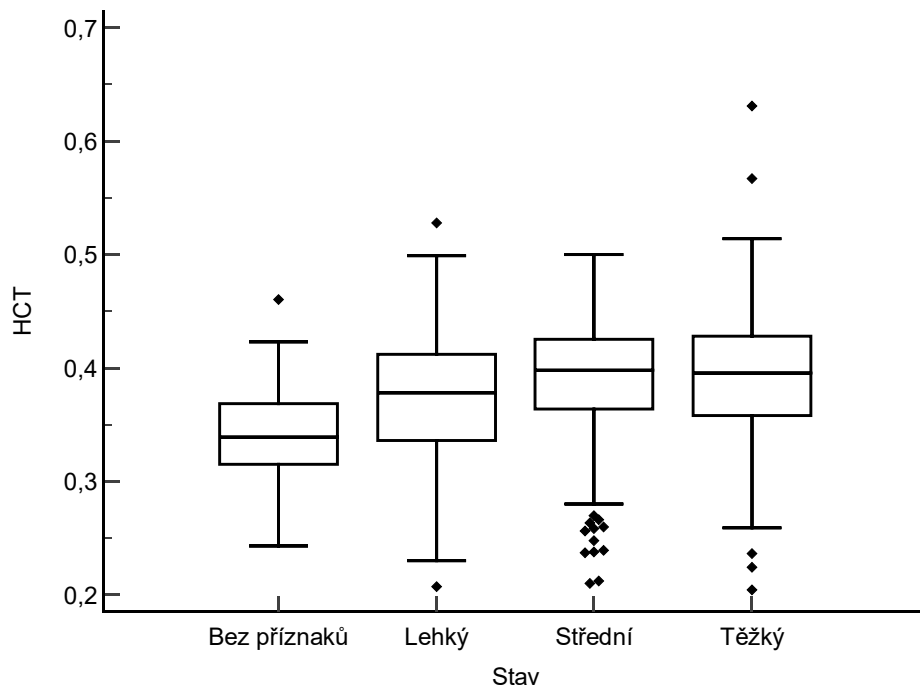
Tabulka 5.17 Kruskal-Wallisova ANOVA založ. na pořadí KO

Kruskal-Wallisova ANOVA založ. na pořadí KO		
Závislá proměnná:	Stav	p-hodnota
WBC (x10 ⁹ /L)	Těžký	0,013
	Střední	
	Lehký	
	Bez příznaků	
HCT	Těžký	<0,001
	Střední	
	Lehký	
	Bez příznaků	
MCV	Těžký	0,001
	Střední	
	Lehký	
	Bez příznaků	
MCH	Těžký	0,019
	Střední	
	Lehký	
	Bez příznaků	
MCHC	Těžký	0,025
	Střední	
	Lehký	
	Bez příznaků	
HGB	Těžký	<0,001
	Střední	
	Lehký	
	Bez příznaků	

Obrázky 5.18 a 5.19 graficky znázorňují pro ukázkou rozdíl HCT a HGB dle závažnosti stavu pacienta. Z grafů lze odvodit, mezi kterými skupinami byl rozdíl.



Obrázek 5.18 Graf závislosti HGB na stavu pacienta



Obrázek 5.19 Graf závislosti HCT na stavu pacienta

H0: Parametry DIFF se neliší dle stavu pacienta.

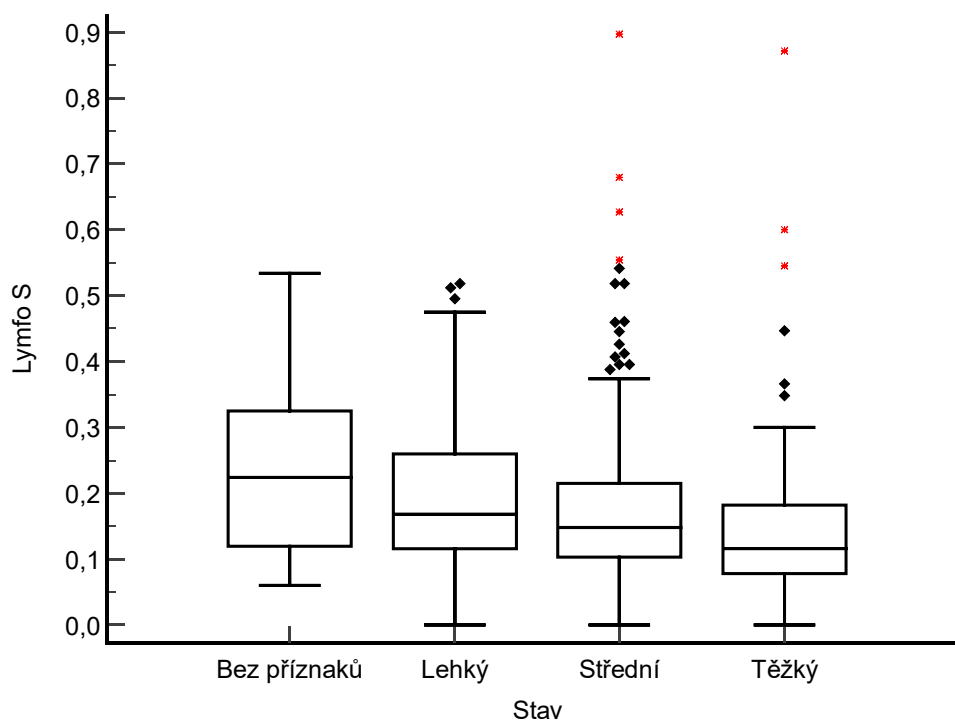
HA: Parametry DIFF se liší alespoň mezi dvěma skupinami.

Tabulka 5.18 Kruskal-Wallisova ANOVA založ. na pořadí DIFF

Kruskal-Wallisova ANOVA založ. na pořadí DIFF		
Závislá proměnná:	Stav	p-hodnota
NEU S	Těžký	<0,001
	Střední	
	Bez příznaků	
	Lehký	
LYMFO S	Těžký	<0,001
	Střední	
	Bez příznaků	
	Lehký	
N/Ly	Těžký	<0,001
	Střední	
	Bez příznaků	
	Lehký	
MONO S	Těžký	<0,001
	Střední	
	Bez příznaků	
	Lehký	
EO S	Těžký	<0,001
	Střední	
	Bez příznaků	
	Lehký	
BASO S	Těžký	<0,001
	Střední	
	Bez příznaků	
	Lehký	
LYMFO AS	Těžký	<0,001
	Střední	
	Bez příznaků	
	Lehký	
BASO AS	Těžký	<0,001
	Střední	
	Bez příznaků	
	Lehký	
EO AS	Těžký	<0,001
	Střední	
	Bez příznaků	
	Lehký	

MONO AS	Těžký	<0,001
	Střední	
	Bez příznaků	
	Lehký	
NEU AS	Těžký	<0,001
	Střední	
	Bez příznaků	
	Lehký	
IG	Těžký	<0,001
	Střední	
	Bez příznaků	
	Lehký	
IG %	Těžký	<0,001
	Střední	
	Bez příznaků	
	Lehký	

Obrázek 5.20 nám graficky znázorňuje pro ukázkou rozdíl mezi hodnotami Lymfo S dle závažnosti stavu pacienta. Z grafu lze odvodit, mezi kterými skupinami byl rozdíl.



Obrázek 5.20 Graf závislosti Lymfo S na stavu pacienta

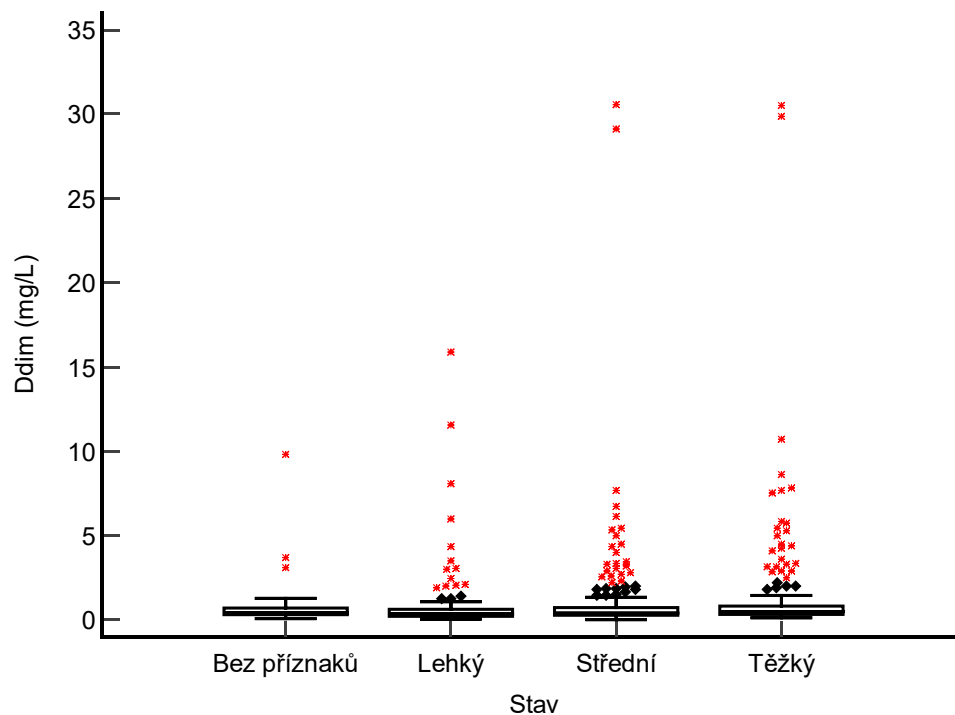
H0: Parametry KOAG se neliší dle stavu pacienta.

HA: Parametry KOAG se liší alespoň mezi dvěma skupinami.

Tabulka 5.19 Kruskal-Wallisova ANOVA založ. na pořadí KOAG

Kruskal-Wallisova ANOVA založ. na pořadí KOAG		
Závislá proměnná:	Stav	p-hodnota
Ddim	Těžký	0,002
	Střední	
	Bez příznaků	
	Lehký	
PT	Těžký	0,002
	Střední	
	Bez příznaků	
	Lehký	
PT-R	Těžký	0,002
	Střední	
	Bez příznaků	
	Lehký	

Obrázek 5.21 nám graficky znázorňuje pro ukázkou rozdílné hladiny D-dimerů dle závažnosti stavu pacienta. Z grafu lze odvodit, mezi kterými skupinami byl rozdíl.



Obrázek 5.21 Graf závislosti D-dimerů na stavu pacienta

5.7 Logistická regrese

Cílem logistické regrese bylo najít, co nejvhodnější model pro charakteristiku vztahu závislé proměnné (mortalita) a nezávislých proměnných (hematologické parametry). Na hladině významnosti 5 %, můžeme tvrdit, že existuje vztah mezi mortalitou a těmito proměnnými (Baso S, IG %, pohlaví, věk, Lymfo AS a NEU S) viz tabulka 5.20.

Tabulka 5.20 Logistická regrese

Logistická regrese		
Proměnná	OR	p hodnota
Baso S	8,33e-88	0,013
IG %	4,08	0,002
Pohlaví	2,94	<0,001
Věk	1,08	<0,001
Lymfo AS	1,07	0,035
NEU S	43,4	0,002

Poměr šancí (OR):

Baso S: Pokud se Baso S zvýší o jednu buňku, sníží se šance na úmrtí pacienta o 8,33e- 88krát. Hodnota OR je tak malá, že klinicky nemá význam.

IG %: Pokud se IG % pacienta zvětší o jednotku, šance na úmrtí na COVID-19 se zvýší 4,08krát.

Pohlaví: Pokud bude pacient muž, šance na úmrtí na COVID-19 se zvýší 2,94krát.

Věk: Pokud se Lymfo AS pacienta zvětší o rok, šance na úmrtí na COVID-19 se zvýší 1,08krát.

Lymfo AS: Pokud se Lymfo AS pacienta zvětší o jednotku, šance na úmrtí na COVID-19 se zvýší 1,07krát.

NEU S: Pokud se Neut AS pacienta zvětší o jednotku, šance na úmrtí na COVID-19 se zvýší 43,4krát.

6 Diskuse

Hlavním cílem předkládané diplomové práce bylo nalézt vztah mezi hematologickými parametry a klinickým průběhem onemocnění. Vztah byl nalezen pomocí logistické regrese mezi mortalitou, věkem, pohlavím a hematologickými parametry (Baso S, NEU S, Lymfo AS a IG %) viz tabulka 5.20. Vztah stavu pacienta s nízkým počtem lymfocytů a s nezralými buňkami popisuje také studie Clinical Significance of CBC and WBC Morphology in the Diagnosis and Clinical Course of COVID-19 Infection [25]. Výskyt nezralých buněk ve spojení se zvýšeným počtem bazofilů poukazuje na závažný stav pacienta. Tyto zvýšené hodnoty se vyskytují u pacientů s akutní leukémií.

Dílčím cílem diplomové práce bylo zjistit, zda se statisticky významně liší hematologické parametry dle vybraných skupin, na hladině významnosti 5 %. Pomocí M-W testu byly zjištěny následující výsledky. Signifikantní rozdíl mezi pohlavími byl prokázán u parametrů: WBC, RBC, HGB, MCH, MCHC, RDW, NEU S, N/Ly, Mono S, Neut AS a IG. Dle mortality se statisticky významně liší WBC, RBC, MCV, MCH, RDW, MPV, PDW, NEU S, Lymfo S, N/Ly, Mono S, EO S, Baso S, Lymfo AS, EO AS, Neut AS, IG, IG %. U pacientů, kteří zemřeli s diagnózou COVID-19 byl významný celý strojový diferenciál včetně IG hodnot. Dle mortality se statisticky významně liší koagulační parametry D-dimery, PT i PT-ratio, FIB C, stejně jako ve studii Clinical characteristics of 3062 COVID-19 patients [26]. Parametry krevního obrazu NEU S, Lymfo S, N/Ly, Mono S, EO S, Baso S, Lymfo AS, Baso AS, EO AS a Mono AS se také liší dle potřeby kyslíku. U pacientů s HFNO byly statisticky významné hodnoty NEU S, Lymfo S, N/Ly, Mono S, EO S, Baso S, Lymfo AS, Baso AS, EO AS a Mono AS, Neut AS, IG, IG %, PT a PT-ratio. Dle potřeby UPV se liší následující parametry EO S, Baso S, Neut AS, IG, IG % a D-dimery. Podle potřeby přesunu pacientů na JIP se liší následující parametry WBC, RBC, HGB, MCHC, PDW, NEU S, Lymfo S, N/Ly, Mono S, EO S, Baso S, Lymfo AS a D-dimery. Pacienti, kteří potřebovali ECMO se liší pouze v hodnotě monocytů Mono S, Mono AS a D-dimerů. Zde ovšem nastalo zkreslení v důsledku malého počtu pacientů viz kapitola 5.5. Studie Clinical Significance of CBC and WBC Morphology in the Diagnosis and Clinical Course of COVID-19 Infection [25] popisuje rozdíly dle JIP, kde uvádí také vyšší hladiny D-dimerů u pacientů, kteří zemřeli.

Rozdíly mezi skupinami závažnosti stavu onemocnění COVID-19 jsme hodnotili pomocí Kruskal-Wallisova testu. Nulovou hypotézu jsme si určili tak, že nejsou rozdíly mezi skupinami. Alternativní hypotézu, tedy hypotézu, kterou jsme chtěli potvrdit, jsme zvolili tak, že alespoň mezi dvěma skupinami je statisticky významný rozdíl. Hladinu významnosti jsme zvolili 5 %. Je v metodice Statisticky významně se liší základní parametry KO (WBC, HCT, MCV, MCH, MCHC a HGB) viz tabulka 5.17 a celý diferenciální rozpočet leukocytů viz tabulka 5.18. Statisticky významné parametry KOAG jsou hodnoty PT-R, PT-s a hladina D-dimerů viz tabulka 5.19. V zahraničních studiích dělili pacienti pouze dle potřeby kyslíku a bez potřeby kyslíku, tudíž nelze porovnat naše výsledky s uvedenými studii.

N/Ly je parametr dříve používaný jako prognostický parametr u pacientů v septickém stavu. N/Ly je časným indikátorem zvýšeného systémového zánětu. V brazilské studii Lymphocyte Ratios Progressively Worsen in Non-Survivors of COVID-19 [27] autoři uváděli, že se zvýšená hodnota vyskytuje u pacientů s těžkým COVID-19 ve srovnání s pacienty s nezávažným onemocněním. Přežkoumali lékařské záznamy 320 dospělých hospitalizovaných pacientů s onemocněním COVID-19 potvrzeným PCR v klinické nemocnici UNICAMP od března 2020 do března 2021. Přeživších pacientů bylo ($n = 257$) a nepřeživších pacientů bylo ($n = 63$). K laboratornímu vyhodnocení použili Sysmex XN 9000. Ke statistickému vyhodnocení pro nepárová data použili Mann-Whitneyho test v systému SPSS (verze 22). Opakovaná měření byla porovnávána mezi skupinami pomocí jednorozměrných a vícerozměrných testů v obecných lineárních modelech. Všechny výsledky byly považovány za významné, pokud bylo $p < 0,05$. Statisticky významné rozdíly hodnot během týdne se ukázaly u NLR (N/Ly), MLR (poměr monocytů a lymfocytů) a PLR (poměr trombocytů a lymfocytů). Potvrdili tak, že N/Ly je významný parametr pro predikci mortality v těžkých případech. Pravděpodobně odráží poruchu imunitního systému [27].

Významné rozdíly hodnot N/Ly jsme pozorovali u pacientů na JIP viz tabulka 5.13, u nepřeživších pacientů viz tabulka 5.6, u pacientů s potřebou kyslíku viz tabulka 5.8 a s potřebou HFNO viz tabulka 5.9. Můžeme vidět, že zvýšený parametr N/Ly se vyskytoval u pacientů v těžkém stavu s potřebou kyslíku a potřebou odborné péče na JIP. Z logistické regrese vyplývá, že se při zvýšení NEU S o jednotku zvětší šance na úmrtí 43,4krát. Z logistické regrese vidíme, že se s rostoucím počtem buněk neutrofilů pravděpodobnost úmrtí zvyšuje. Můžeme říct, že parametr N/Ly a parametry, které s ním

souvisí (NEU S a Lymfo S) se jeví, jako významné prediktory závažnosti tohoto onemocnění. Výsledky potvrdila studie Lymphocyte Ratios Progressively Worsen in Non-Survivors of COVID-19 [27].

Výzkumný článek Neutrophil-to-lymphocyte ratio and D-dimer are biomarkers of death risk in severe COVID-19: A retrospective observational study [28] se zabývá možností využití D-dimerů společně s NRL (N/Ly), jako možných prognostických markerů. Studie zahrnovala pacienty starší osmnácti let s těžkým průběhem COVID-19 přijaté na JIP od dubna 2020 do listopadu 2020. Byli vyloučeni pacienti s komorbiditami, aby nezkreslovali výsledky. Z celkových 3599 hospitalizovaných pacientů kvůli podezření na onemocnění COVID-19, splnilo kritéria pro zařazení do studie pouhých 119 pacientů. Sběr dat byl hodnocen dvěma lékaři. Invazivní mechanická ventilace byla nutná u 104 pacientů (87,4 %) během nemocniční péče a 39 (32,8 %) ze 119 pacientů zemřelo během hospitalizace. Všichni byli během pobytu na JIP léčeni kortikosteroidy. Skupina nepřeživších byla starší a měla vyšší míru hypertenze. V periferní krvi vykazovala vyšší poměr neutrofilů k lymfocytům a vyšší hodnoty D-dimerů, ale nižší koncentraci fibrinogenu. Porovnání kvantitativních proměnných mezi oběma skupinami bylo provedeno pomocí Studentova t testu, pokud proměnné měly Gaussovo rozdělení. Pokud proměnné neměly normální rozdělení, byl použit Mann-Whitneyho test. Statistické srovnání skupin pro kategoriální proměnné bylo provedeno pomocí Chí-kvadrát testu nebo Fisherova exaktního testu. Po jednorozměrné analýze byla provedena vícerozměrná analýza, pomocí statistického softwaru GraphPAD Prism verze 14. V multivariační analýze (logistického regresního modelu) bylo zjištěno, že $NLR \geq 10$ a $D\text{-dimery} \geq 2 \mu\text{g/ml}$ byly spojeny s vyšší úmrtností. Zejména v kombinaci, jsou tyto ukazatele silnými prediktory rizika úmrtí u pacientů s těžkým onemocněním COVID-19. Dle studie by měly být začleněny do obecného hodnocení rizika úmrtí u pacientů s těžkým onemocněním COVID-19, vzhledem k jejich klinickému významu. Na závěr je důležité zdůraznit, že pacienti měli extrémně závažný klinický stav, přibližně 90 % z nich bylo na mechanické ventilaci a jedna třetina zemřela v nemocnici. [28].

Ve studii Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China [29] získali data týkající se 1099 pacientů z 552 nemocnic ve 30 provinciích, autonomních oblastech a obcích v pevninské Číně od 11. prosince 2019 do 29. ledna 2020 s laboratorně potvrzeným onemocněním COVID-19. Podmínkou pro zapojení do studie bylo přijetí na jednotku intenzivní péče (JIP), použití mechanické ventilace nebo úmrtí pacienta. Do

analýzy byly zahrnuty pouze laboratorně potvrzené případy. Laboratorní vyšetření se skládalo z kompletního krevního obrazu, chemického rozboru krve, koagulačních testů, hodnocení jaterních a ledvinových funkcí a měření elektrolytů, CRP, prokalcitoninu, LDH a kreatinkinázy. Nejčastějším projevem onemocnění při přijetí byla horečka, která byla prokázána u 43,8 % pacientů, a v průběhu hospitalizace se počet navýšil na 88,7 %. Při přijetí byla identifikována lymfopenie u 83,2 % pacientů, trombocytopenie u 36,2 % a leukopenie u 33,7 %. Většina pacientů měla zvýšené hladiny CRP; méně časté byly zvýšené hladiny ALT, AST, kreatinkinázy a D-dimerů. Pacienti se závažným onemocněním měli horší laboratorní výsledky (včetně lymfocytopenie a leukopenie) než pacienti s lehkým průběhem onemocnění. Kohorta pacientů v této studii nebyla odvozena z náhodného výběru, proto jsou všechny statistiky považovány pouze za popisné. Všechny analýzy byly provedeny s použitím softwaru R, verze 3.6.2. Pro vykreslení počtu pacientů s potvrzenými případy na mapě použili program ArcGIS, verze 10.2.2 [29].

Studie COVID-19 associated coagulopathy and disseminated intravascular coagulation [30] spekuluje o možnosti využití samotného D-dimeru, jako prognostického prvku závažnosti onemocnění. Může se s jistotou říct, že se onemocnění COVID-19 ve spojení s DIC vyskytovalo u nepřeživších pacientů. Koagulopatiím je třeba se věnovat nejen při přijetí do nemocnice, ale také v průběhu hospitalizace. Uvádí se nejlépe 10–14. den od přijetí. Hlavní výkyvy se vyskytly u zkoumaných parametrů FDP, PT a AT (antitrombin). Přesné posouzení prognózy nelze určit pouze z údajů uvedených při přijetí. Hladina fibrinogenu klesla ze 7. na 10. den o 300 mg/dl, hladina D-dimerů vzrostla již třetí den hospitalizace. Doporučuje se hlídat hodnoty pravidelně každé 2–3 dny, především kvůli možnému krvácení nebo vzniku trombu. Z důvodu nastavení léčby je nutno sledovat hodnoty koagulačních markerů. Při pitvě byly zaznamenány nejen tromby, ale také značné krvácení, ukazuje to na možnost dvou typů DIC. Doporučená vyšetření koagulace při onemocnění COVID-19 jsou krevní destičky, aPTT, PT, fibrinogen, D-dimer/FDP, AT, TAT (hodnocení aktivace koagulace) a PIC (hodnocení aktivace fibrinolýzy) také vWF. Prodloužené aPTT bylo často pozorováno při lupus antikogulans, nebo při podání heparinu [30].

Těžký případ onemocnění COVID-19 je spojen především s hyperkoagulačními stavy, chová se obdobně jak HIT (heparinem indukovaná trombocytopenie). HIT je v hematologii jednou z nejzávažnějších diagnóz. Důležitá je především včasná

diagnostika, kvůli možnému vzniku trombózy u pacienta v rádech dnů. Onemocnění COVID-19 spojuje více trombotických příhod, zahrnuje in situ plicní trombózu, hlubokou žilní trombózu a přidruženou plicní embolii a také arteriální trombotické příhody (mrtvice, infarkt myokardu, trombóza končetinových tepen). Článek COVID-19 versus HIT hypercoagulability [31] také upozorňuje na hematologické abnormality lymfopenii, neutrofilii, trombocytopenii a zvýšené D-dimery. Uvádí, že mortalita pacientů s onemocněním COVID-19 je pravděpodobně sekundární k plicní embolii a in situ plicním trombózám. HIT i onemocnění COVID-19 se dále projevují pancytopenií krevních buněk (monocyty, neutrofilie, trombocyty). Neutrofilie a s ní spojená lymfopenie, může doprovázet HIT po podání heparinu. Neutrofilie poté tvoří tzv. NET síť v plicích pacienta [31].

Z hlediska koagulace jsou nejdůležitějším vyšetřením D-dimery a fibrinogen při příchodu do nemocnice. Při přijetí do nemocnice měla zvýšené hodnoty D-dimerů nad kritickou mez (0,5 mg/l) většina pacientů, kteří nepřežili. Zvýšené hodnoty pozorovali také u zánětlivého fibrinogenu, dále byly zvýšené také další zánětlivé markery CRP, feritin a prokalcitonin [31]. S trombózou a koagulačními stavy souvisí také zvýšené hodnoty von Willebrandova faktoru (vWF). Možné příčiny úmrtí při COVID-19 jsou trombózy především mozkových tepen, plicní embolie, infarkt myokardu, cévní mozková příhoda. HIT může být komplikací, někteří pacienti s HIT či plicní embolií již nastupovali do nemocnice. Rizikovými faktory pro rozvinutí HIT jsou D-dimery a počet trombocytů.

Metaanalýza Clinical characteristics of 3062 COVID-19 patients [26] zahrnovala 38 studií zahrnujících 3062 pacientů s onemocněním COVID-19. Bylo prohledáno sedm databází, aby se shromáždily studie o klinických charakteristikách onemocnění COVID-19 od 1. ledna 2020 do 28. února 2020. Co se týče počtu leukocytů, většina pacientů měla normální počet leukocytů (69,7 %), následovala leukopenie (25,9 %) a leukocytóza (12,6 %). Nejčastějšími klinickými projevy byly horečka (80,4 %), únava (46 %), kašel (63,1 %) a vykašlávání (41,8 %). Poté byla provedena metaanalýza pomocí softwaru Stata12.0. Metaanalýza ukázala, že vyšší podíl infikovaných pacientů byli muži (56,9 %). Incidence respiračního selhání nebo syndromu akutní respirační tísně byla 19,5 % a úmrtnost 5,5 %. Také se zabývá onemocněním COVID-19 a DIC (diseminovaná intravaskulární koagulace) ve vztahu k trombózám a cytokinové bouři. Dále se zabývá koagulačními a fibrinolytickými markery např. D-dimery, fibrin degradační produkty, fibrinogenem. Popisuje, že onemocnění COVID-19 se projevuje makro

i mikrotrombózou. Makrotrombóza zahrnuje mozkový infarkt, infarkt myokardu a trombózu končetinových tepen. Žilní trombóza zahrnuje především hlubokou žilní trombózu a plicní tromboembolismus. Plicní tromboembolismus je nejčastěji spojován s onemocněním COVID-19. Snížení počtu lymfocytů a zvýšení neutrofilů v periferní krvi jsou typické pro pacienty COVID-19 [26].

Z uvedených studií Neutrophil-to-lymphocyte ratio and D-dimer are biomarkers of death risk in severe COVID-19: A retrospective observational study [28], COVID-19 associated coagulopathy and disseminated intravascular coagulation [30] a COVID-19 versus HIT hypercoagulability [31] můžeme vyzorovat, že se nejčastěji objevují nálezy lymfopenie, neutrofile, změny počtu leukocytů, snížení počtu eozinofilů, zvýšený poměr NRL (N/Ly) a trombocytopenii při závažných stavech onemocnění. Z koagulačních parametrů se nejvíce zmiňují zvýšená hladina D-dimerů a FDP, zvýšená hodnota PT, snížená hladina fibrinogenu. Ve spojení s nízkým počtem trombocytů a současném podání heparinu je nutné vyšetření krve pacienta metodou HIT. V žádné studii ovšem nezmiňují dílčí parametry jako je např. MCHC, MCV, RDW a další.

V našem statistickém souboru se vyskytovalo 68 % pacientů s neutrofilii, 70 % pacientů s lymfopenií a 78 % pacientů s hladinou D-dimerů větší než 0,230 mg/L. Trombocytopenii, méně než $100 \times 10^9/L$, mělo pouze 5 % pacientů. Zvýšenou hodnotu PT-ratio mělo 34 % pacientů. U pacientů v těžkém stavu se procenta zastoupení lehce zvyšovala, 79 % pacientů měla hladinu D-dimeru větší než 0,230, 80 % pacientů mělo neutrofilii a 82 % pacientů lymfopenií. Výskyt zvýšeného PT-ratio se zvětšil na 42 %. Trombocytopenii vykazovalo u těžkého stavu též pouze 7 % pacientů. Statisticky významně oproti fyziologickým hodnotám byl zvýšený počet neutrofilů nad 70 %, snížený počet lymfocytů pod 20 % a zvýšená hladina D-dimerů nad 0,230 mg/L kapitola 5.4. Počítáme také s dílčími parametry erytrocytů a trombocytů, které se liší u pacientů např. dle pohlaví viz tabulka 5.4, dle mortality viz tabulka 5.6 a dle JIP viz tabulka 5.13. Dílčí parametry erytrocytu MCH, MCHC, MCV se statisticky významně liší také mezi skupinami závažnosti onemocnění viz tabulka 5.17. Pomocí analýzy M-W testu a K-W testu můžeme říct, že jsou tyto parametry erytrocytů a trombocytů, opravdu statisticky významné. Lymfocytopenie 83,2 % a trombocytopenie 36,2 % odpovídá studii Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China [29], v této studii se trombocytopenie vyskytuje u pacientů s onemocněním COVID-19 častěji než v našem souboru dat. Vyšší výskyt trombocytopenie odpovídá podmínkám přijetí do studie (pobyt

na JIP, mechanická ventilace nebo úmrtí pacienta). Ve studii Coagulation and anticoagulation in COVID-19 [18] určili pravděpodobnou hranici hladiny D-dimerů pro nepřeživší pacienty 1 mg/L, v ÚVN-VFN Praha je stanovená kritická mez hladiny D-dimerů nižší 0,230 mg/L.

Dále byly pozorovány morfologické změny leukocytů u 157 pacientů. Mikroskopický diferenciální rozpočet leukocytů odpovídal početně strojovému rozpočtu leukocytů. Téměř všichni pacienti 98,8 % vykazovali hrubou až toxickou granulaci neutrofilů, také výraznou vakuolizaci neutrofilů vykazovalo 81,2 % podobně jako ve studii Clinical Significance of CBC and WBC Morphology in the Diagnosis and Clinical Course of COVID-19 Infection [25]. Méně zastoupené byly změny na lymfocytech a hypo nebo hypersegmentace neutrofilů viz kapitola 5.1.

Studie Clinical Significance of CBC and WBC Morphology in the Diagnosis and Clinical Course of COVID-19 Infection [25] jako jeden z mála článků, popisuje nejen číselné hodnoty krevního obrazu, ale také popisuje morfologické změny bílých krvinek. Laboratorní analýza probíhala na Sysmex XN-9000. Šestipopulační diferenciální rozpočet leukocytů byl nezávisle hodnocen dvěma hematologi. Zahrnoval absolutní počet lymfocytů, monocytů, neutrofilů, eozinofilů, bazofilů a nezralých granulocytů. Nezralé granulocyty zahrnují počet promyelocytů, myelocytů a metamyelocytů, případně blastů v periferní krvi. Studie zahrnovala 90 pacientů pozitivních na onemocnění COVID-19 z čehož bylo 51 pacientů umístěných na JIP a 39 pacientů bez nutnosti umístění na JIP. Kontrolní skupina byla složena z 30 pacientů negativních na COVID-19. Studie probíhala v období od 14. března 2020 až do 14. dubna 2020. Dále byly do studie zahrnuty markery zánětlivých stavů, hladina feritinu a CRP. Tyto markery byly měřeny na analyzátoru Cobas 8000. Všechny laboratorní analyty byly změřeny do 48 hodin od přijetí pacienta. Celkově zkoumali 19 laboratorních a morfologických parametrů spojených se stavem na JIP. Porovnávali mezi sebou skupiny na JIP mimo JIP, pozitivní na COVID-19 a negativní, také pacienty s onemocněním COVID-19, kteří zemřeli, a kteří přežili. Vyhodnocení pomocí statistické metody Studentův t-test, bylo využito u pacientů pozitivních na COVID-19, pro význam výzkumných parametrů CBC mezi JIP a mimo JIP. Studentův t-test byl také využit pro vyhodnocení významu CBC parametrů mezi COVID-19 pozitivními a COVID-19 negativními pacienty. Statistické vyhodnocení bylo zpracováno v softwaru GraphPad 2018. Dopad každého parametru na stav onemocnění byl odhadnut pomocí jednorozměrného logistického regresního modelu.

Zjednorozměrné analýzy pak byla vybrána skupina významných morfoloogických prediktorů, upravených dle pohlaví pro následnou multivariační logistickou regresi v softwaru R verze 4.0.0. Abnormální morfoloogické rysy byly nalezeny u 100 % pozitivních pacientů na jednotce JIP. Neutrofilů u 97 % vykazovaly toxickou granulaci a 83 % výraznou vakuolizaci cytoplazmy. Pacienti na JIP (71 %) také vykazovali výraznou vakuolizaci monocytů. Změny na lymfocytech nebyly tak jednoznačné, nejčastěji se vyskytovaly LGL (velké granulární lymfocyty) a atypické formy lymfocytů, zhruba u poloviny pacientů. Myeloidní posun směrem k nezralým buňkám byl prokázán především u pacientů na JIP. U zemřelých a přeživších na JIP nebyly tak výrazné rozdíly, významný rozdíl byl v lymfopénii a nezralých granulocytech vyšetřených morfoloogicky (60 % u zemřelých ku 6 % u přeživších), v parametru IG nebyl téměř žádný rozdíl. Důvodem může být rozdílný počet hodnocených buněk. Jednorozměrná analýza morfoloogických znaků WBC ukázala, že většina parametrů byla podobná u pacientů na JIP s COVID-19 i bez něj. Závěrem by doporučili denní kontrolu krevního obrazu a při přijetí kontrolu diferenciálního rozpočtu leukocytů včetně morfoloogických změn [25].

Při porovnání se zahraniční literaturou jsme narazili na některé limitace práce. Většina studií byla geograficky a časově omezená a byla zpracována na relativně malém množství dat. Už ve studii Coagulation and anticoagulation in COVID-19 [18] zmiňují důležitost sjednocení jednotek a vyšetření daných parametrů. Např. u hladiny D-dimerů můžeme mít rozdílné jednotky a tím ovlivnit celou statistickou analýzu. Dále se klade důraz na průběžné sledování hematologických hodnot. Hodnoty při přijetí pacienta ukazují, v jakém stavu byl přijat, ovšem neukazují stav pacienta v průběhu celé hospitalizace.

Sporná je interpretace výsledků vzhledem ke komorbiditám pacientů. Nemůžeme s jistotou říct, zda by nemohly ovlivnit stav pacienta. Např. CLL zvyšuje hodnoty WBC, dále víme ze studie COVID-19 versus HIT hypercoagulability [31], že náchylnější k závažnějšímu průběhu byli pacienti s vysokým krevním tlakem a diabetem mellitem. Stejně tak mohly stav pacienta ovlivnit jiné přidružené nemoci, nebo potíže v oblasti metabolismu a jiných biochemických parametrů. Ovšem při zaměření čistě na hematologické parametry, jsme přišli k velkému zjištění zajímavých vztahů dílčích parametrů, které mohou predikovat stav pacienta.

Vysoké hodnoty D-dimerů jsou nejčastěji zmiňované ve studiích ve světě z roku 2020. Spojované především se vznikem mikro a makro trombóz [28]. V roce 2021 již byla doporučena antikoagulační léčba pro lůžkovou péči. Používala se jako preventivní, aby se zabránilo vzniku trombu. [32]. Tímto by mohly být ovlivněny hodnoty D-dimerů v roce 2021. Doporučuje se hodnoty sledovat průběžně a pro porovnání dat se zahraničními studiemi sjednotit jednotky používané v praxi [18].

Dle retrospektivní studie A novel haemocytometric COVID-19 prognostic score developed and validated in an observational multicentre European hospital-based study [33] se vybralo 6 proměnných vstupujících do výsledného covid scóre: NLR, IGLR (poměr nezralých leukocytů k lymfocytům), RE-MONO%/M (reaktivní monocyty), AS-LYMPH%/L (lymfocyty produkující protilátky), Delta-He (rozdíl hemoglobinu ve zralých a nezralých erytrocytech) a počet NRBC. NRBC a jejich přítomnost bez retikulocytózy v těžkých případech COVID-19 indikuje hematopoetický stres, pravděpodobně v důsledku dlouhodobé hypoxie nebo zánětu. Také se vyskytují v těžkých případech u pacientů s ARDS [33]. Vývoj prognostického skóre od 21. února do 6. dubna 2020, s následným sledováním za účelem dokumentování klinického výsledku do 9. června 2020, ze sedmi nemocnic v Nizozemsku a po jedné v Itálii a Belgii. Covid scóre jsme bohužel v době pandemie onemocnění COVID-19 v hematologické laboratoři neměli ještě k dispozici. Byl by to jistě velmi podpůrný nástroj pro včasnou identifikaci kritických pacientů. Mohl by pomoci snížit mortalitu a zahájit včasnou intervenci, pokud by pacient přišel do nemocnice včas.

Diplomovou práci by bylo možné dále rozšířit a vytvořit pravděpodobnostní model, který by byl schopný odhadnout zátěž pacienta, potřebu některého přístroje pro kyslíkovou terapii, nebo například předpoklad potřeby péče na JIP. Využití by model našel především v malých nemocnicích, které nemají dostatečný finanční kapitál, pro pořízení přístrojů firmy Sysmex, které již dnes disponují tzv. covid scóre [33].

Pro budoucí účely prognózy bychom navrhli zařadit do analýzy biochemické ukazatele pro komplexnost laboratorních testů. Byly zjištěny zvýšené hodnoty LDH, AST, ALT, celkového bilirubinu, kreatininu, srdečních troponinů, prokalcitoninu a CRP spolu se sníženými hodnotami sérového albuminu [14]. Zánětlivé markery např. CRP a IL-6, společně se zvýšeným počtem neutrofilů mohou značit přítomnost cytokinové bouře. Dalším důležitým ukazatelem závažného průběhu je acidobazická rovnováha,

metabolické poruchy a hypoxie pacienta [15]. Studie [29] uvádí, že většina pacientů měla zvýšené hladiny CRP; méně často byly zvýšené hladiny ALT, AST, kreatinkinázy a také D-dimerů. Pacienti se závažným onemocněním měli horší laboratorní výsledky (včetně lymfocytopenie a leukopenie). Také nesmíme zapomenout na zásobní bílkovinu železa, feritin [18]. Studie [25] poukazuje na zánětlivé biochemické markery feritin a CRP. U pozitivních pacientů na COVID-19 na JIP byla prokazatelně vyšší hladina feritinu než u pacientů negativních na JIP (2 359,22 vs 549,70, $p = 0,0040$), také hladina CRP byla odlišná (205,05 vs 100,40, $p = 0,0002$). Z uvedených studií můžeme doporučit při pokračování v pravděpodobnostním modelu tyto parametry: CRP, ALT, AST, feritin, LDH, případně kreatinkinázu a další metabolické parametry.

7 Závěr

Cílem diplomové práce bylo vyhodnotit retrospektivně data pacientů s onemocněním COVID-19 za rok 2021 a nalézt vztah mezi hematologickými parametry a klinickým průběhem onemocnění. Dílčím cílem bylo vyhodnotit rozdíly mezi hematologickými hodnotami dle vybraných skupin a zjistit, zda jsou statisticky významné.

U pacientů jsme pozorovali neutrofilii, lymfopenii, zvýšený poměr N/Ly. Dále jsme pozorovali zvýšenou hladinu D-dimerů a PT. Statisticky významně oproti fyziologickým hodnotám byl zvýšený počet neutrofilů nad 70 %, snížený počet lymfocytů pod 20 % a zvýšená hladina D-dimerů nad 0,230 mg/L. Zaznamenali jsme také morfologické změny charakteristické pro pacienty s onemocněním COVID-19, především hrubou granulaci neutrofilů a vakuolizaci neutrofilů.

Můžeme říct, na hladině významnosti 5 %, že se hematologické parametry opravdu liší dle vybraných skupin (mortalita, UPV, ECMO, JIP, HFNO, kyslík a pohlaví). Důležité je zmínit, že ve všech skupinách se liší minimálně v jednom parametru diferenciálního rozpočtu leukocytů. Na hladině 5 % můžeme také tvrdit, že se hematologické parametry liší dle stavu pacienta.

Nalézt vztah se nám podařilo mezi mortalitou pacientů a vybranými statisticky významnými parametry logistické regrese. Mezi vybrané parametry patří: Baso S, IG %, pohlaví, věk, Lymfo AS a NEU S.

Pro komplexní zhodnocení stavu pacienta by bylo vhodné zahrnout biochemické parametry do regresního modelu. U těžce nemocných pacientů, především s vážnou primární diagnózou bychom doporučili zvážit vyšetření hematologem, včetně vyšetření diferenciálního rozpočtu leukocytů a mikroskopické kontroly. Z toho vyplývá nutnost zabezpečení kvalifikovaného personálu a kvalitního přístrojového vybavení laboratoří.

Seznam použité literatury

- [1] SOHRABI, Catrin, Zaid ALSAFI, Niamh O'NEILL, Mehdi KHAN, Ahmed KERWAN, Ahmed AL-JABIR, Christos IOSIFIDIS a Riaz AGHA. World Health Organization declares global emergency: A review of the 2019 novel coronavirus (COVID-19). *International Journal of Surgery* [online]. 2020, **76**, 71-76 [cit. 2023-05-08]. ISSN 17439191. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijso.2020.02.034
- [2] ALSOBAIE, Sarah. Understanding the Molecular Biology of SARS-CoV-2 and the COVID-19 Pandemic: A Review. *Infection and Drug Resistance* [online]. 2021, **14**(34163190), 2259-2268 [cit. 2023-02-25]. ISSN 1178-6973. Dostupné z: doi:10.2147/IDR.S306441
- [3] *World Health Organization: Pandemie koronavirového onemocnění (COVID-19)* [online]. In: . [cit. 2023-05-10]. Dostupné z: <https://www.who.int/europe/emergencies/situations/covid-19>
- [4] *Covid-19: diagnostika a léčba: Doporučený postup Společnosti infekčního lékařství ČLS JEP* [online]. In: . [cit. 2023-04-23]. Dostupné z: https://www.infekce.cz/Covid2019/DPcovid-19_SIL_0421.pdf
- [5] SAHU, Kamal Kant a Jan CERNY. A review on how to do hematology consults during COVID-19 pandemic. *Blood Reviews* [online]. 2021, **2020**(47), - [cit. 2023-02-27]. ISSN 0268960X. Dostupné z: doi:10.1016/j.blre.2020.100777
- [6] GAO, Zhiru, Yinghui XU, Chao SUN, Xu WANG, Ye GUO, Shi QIU a Kewei MA. A systematic review of asymptomatic infections with COVID-19. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* [online]. 2021, **54**(1), 12-16 [cit. 2023-05-08]. ISSN 16841182. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmii.2020.05.001
- [7] Doporučený postup péče o pacienty s onemocněním COVID-19 a jejich následné sledování. In: *Prolekare.cz* [online]. 2020 [cit. 2023-04-13]. Dostupné z: <https://infektologie.cz/DPCovid21/DP5-covid-DP-podrobny-05-22.pdf>
- [8] Covid-19: diagnostika a léčba: Doporučený postup Společnosti infekčního lékařství ČLS JEP. *SPOLEČNOST INFEKČNÍHO LÉKAŘSTVÍ SOCIETY FOR INFECTIOUS DISEASES* [online]. 2022, **2022**(30052022), 1-69 [cit. 2022-06-22]. Dostupné z: <https://infektologie.cz/DPCovid21/DP5-covid-DP-podrobny-05-22.pdf>
- [9] WHO recommends against the use of convalescent plasma to treat COVID-19. In: *WHO* [online]. 2021 [cit. 2023-05-06]. Dostupné z: <https://www.who.int/news/item/07-12-2021-who-recommends-against-the-use-of-convalescent-plasma-to-treat-covid-19>
- [10] *Multimediální тренаžér plánování ošetrovatelské péče: Oxygenoterapie* [online]. [cit. 2023-04-14]. Dostupné z: <https://ose.zshk.cz/vyuka/terapie.aspx?tid=101>

- [11] *High Flow kyslíková terapie (HFNO) TNI SoftFlow 50* [online]. [cit. 2023-04-14]. Dostupné z: <https://www.lhlsro.cz/ventilacni-technika.php>
- [12] *Overview of Mechanical Ventilation* [online]. University of Chicago, 2022 [cit. 2023-04-14]. Dostupné z: <https://www.msmanuals.com/professional/critical-care-medicine/respiratory-failure-and-mechanical-ventilation/overview-of-mechanical-ventilation>
- [13] KEEBLER, Mary E., Elias V. HADDAD, Chun W. CHOI et al. Venoarterial Extracorporeal Membrane Oxygenation in Cardiogenic Shock. *JACC: Heart Failure* [online]. 2018, **6**(6), 503-516 [cit. 2023-04-14]. ISSN 22131779. Dostupné z: doi:10.1016/j.jchf.2017.11.017
- [14] LIPPI, Giuseppe a Mario PLEBANI. The critical role of laboratory medicine during coronavirus disease 2019 (COVID-19) and other viral outbreaks. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* [online]. 2020, **58**(7), 1063-1069 [cit. 2023-02-28]. ISSN 1437-4331. Dostupné z: doi:10.1515/cclm-2020-0240
- [15] FRIEDECKÝ, B a J KRATOCHVÍLA. Analyty klinické biochemie a hematologie u COVID-19. *Klinická biochemie a metabolismus* [online]. **2021**(1), 25-30 [cit. 2022-06-22]. Dostupné z: https://www.cskb.cz/wp-content/uploads/2021/04/KBM-1_2021_Friedecky.pdf
- [16] CAVALCANTE-SILVA, Luiz Henrique Agra, Deyse Cristina Madruga CARVALHO, Éssia de Almeida LIMA, José G.F.M. GALVÃO, Juliane S. de França DA SILVA, José Marreiro de SALES-NETO a Sandra RODRIGUES-MASCARENHAS. Neutrophils and COVID-19: The road so far. *International Immunopharmacology* [online]. 2021, **2020**(90) [cit. 2023-02-28]. ISSN 15675769. Dostupné z: doi:10.1016/j.intimp.2020.107233
- [17] LAX, Sigurd F., Kristijan SKOK, Peter ZECHNER et al. Pulmonary Arterial Thrombosis in COVID-19 With Fatal Outcome. *Annals of Internal Medicine* [online]. 2020, **173**(5), 350-361 [cit. 2023-02-28]. ISSN 0003-4819. Dostupné z: doi:10.7326/M20-2566
- [18] HADID, Tarik, Ziyad KAFRI a Ayad AL-KATIB. Coagulation and anticoagulation in COVID-19. *Blood Reviews* [online]. 2021, **2020**(47) [cit. 2023-02-28]. ISSN 0268960X. Dostupné z: doi:10.1016/j.blre.2020.100761
- [19] PECKA, M., I. HRACHOVINOVÁ a J. CHARVÁT. *ČHS ČLS JEP: Stabilita a transport primárních vzorků biologického materiálu do hematologické laboratoře* [online]. 2019 [cit. 2023-04-23]. Dostupné z: http://www.hematology.cz/doporuceni/laboratorni_sekce/files/obecna/Doporuceni_LS_CHS_CLS_JEP-Transport_a_stabilita_vzorku_v01_rev01.pdf
- [20] *Laboratorní příručka UVN* [online]. [cit. 2023-04-23]. Dostupné z: <https://www.uvn.cz/cs/laboratorni-prirucky-a-referencni-rozmezi-laboratori>

- [21] PENKA, Miroslav a Alena BULIKOVÁ. *Neonkologická hematologie*. 2., dopl. a zcela přeprac. vyd. Praha: Grada, 2009. ISBN isbn978-80-247-2299-3.
- [22] ČHS ČLS JEP: *Obecná doporučení pro hematologickou laboratoř*. Česká hematologická společnost [online]. [cit. 2023-04-23]. Dostupné z: http://www.hematology.cz/doporuzeni/laboratorni_sekce/obecna.php
- [23] SEKK: *DIF - Hodnocení nátěru periferní krve Pokyny pro zápis výsledků* [online]. In: . [cit. 2022-06-22]. Dostupné z: https://www.sekk.cz/infoservis/DIF_pokyny.pdf
- [24] ČHS ČLS JEP: *Preanalytika v hematologické laboratoři* [online]. 13 [cit. 2023-05-06]. Dostupné z: https://labsekce.hematology.cz/wp-content/uploads/2021/08/Doporuzeni_LS_CHS_CLS_JEP-Preanalytika_v_hematologicke_laboratori_v01.pdf
- [25] POZDNYAKOVA, Olga, Nathan T CONNELL, Elisabeth M BATTINELLI, Jean M CONNORS, Geoffrey FELL a Annette S KIM. Clinical Significance of CBC and WBC Morphology in the Diagnosis and Clinical Course of COVID-19 Infection. *American Journal of Clinical Pathology* [online]. 2021, **155**(3), 364-375 [cit. 2023-02-28]. ISSN 0002-9173. Dostupné z: doi:10.1093/ajcp/aqaa231
- [26] ZHU, Jieyun, Pan JI, Jielong PANG, Zhimei ZHONG, Hongyuan LI, Cuiying HE, Jianfeng ZHANG a Chunling ZHAO. Clinical characteristics of 3062 COVID-19 patients: A meta-analysis. *Journal of Medical Virology* [online]. 2020, **92**(10), 1902-1914 [cit. 2023-02-28]. ISSN 0146-6615. Dostupné z: doi:10.1002/jmv.25884
- [27] ALAGBE, Adekunle Emmanuel, Gisele Audrei PEDROSO, Beatriz Benedetti de OLIVEIRA et al. Lymphocyte Ratios Progressively Worsen in Non-Survivors of COVID-19. *Blood* [online]. 2021, **138**(1), 4196-4196 [cit. 2023-02-28]. ISSN 0006-4971. Dostupné z: doi:10.1182/blood-2021-149237
- [28] TERRA, Patrícia Oliveira Cunha, Camila Dermínio DONADEL, Luciana Correa OLIVEIRA, Mayra Gonçalves MENEGUETI, Maria AUXILIADORA-MARTINS, Rodrigo Tocantins CALADO a Gil Cunha DE SANTIS. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and D-dimer are biomarkers of death risk in severe COVID-19: A retrospective observational study. *Health Science Reports* [online]. 2022, **5**(2) [cit. 2023-04-14]. ISSN 2398-8835. Dostupné z: doi:10.1002/hsr2.514
- [29] GUAN, Wei-jie, Zheng-yi NI, Yu HU et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *New England Journal of Medicine* [online]. 2020, **382**(18), 1708-1720 [cit. 2023-02-28]. ISSN 0028-4793. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa2002032
- [30] ASAKURA, Hidesaku a Haruhiko OGAWA. COVID-19-associated coagulopathy and disseminated intravascular coagulation. *International Journal*

of Hematology [online]. 2021, **113**(1), 45-57 [cit. 2023-02-28]. ISSN 0925-5710. Dostupné z: doi:10.1007/s12185-020-03029-y

- [31] WARKENTIN, Theodore E. a Scott KAATZ. COVID-19 versus HIT hypercoagulability. *Thrombosis Research* [online]. 2020, **2020**(196), 38-51 [cit. 2023-02-28]. ISSN 00493848. Dostupné z: doi:10.1016/j.thromres.2020.08.017
- [32] *Doporučený postup České společnosti pro trombózu a hemostázu ČLS JEP* [online]. 1-3 [cit. 2023-05-07]. Dostupné z: <https://www.cls.cz/media/document/55d693037038dc2ec59ad0b553fa44d6.pdf>
- [33] LINSSEN, Joachim, Anthony ERMENS, Marvin BERREVOETS et al. A novel haemocytometric COVID-19 prognostic score developed and validated in an observational multicentre European hospital-based study. *ELife* [online]. 2020, **9** [cit. 2023-05-07]. ISSN 2050-084X. Dostupné z: doi:10.7554/eLife.63195

