

**ČESKÉ VYSOKÉ
UČENÍ TECHNICKÉ
V PRAZE**

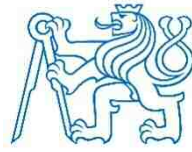
**FAKULTA
BIOMEDICÍNSKÉHO
INŽENÝRSTVÍ**



**BAKALÁŘSKÁ
PRÁCE**

2019

**VERONIKA
ROŠKOVÁ**



ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE

Fakulta biomedicínského inženýrství

Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva

Morfologické změny periferní krve u nedonošených novorozenců

Morphological changes of peripheral blood in preterm newborn

Bakalářská práce

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví

Studijní obor: Zdravotní laborant

Vedoucí práce: Mgr. Martin Matějček

Veronika Rošková

Kladno, květen 2019



ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Rošková** Jméno: **Veronika** Osobní číslo: **465284**
Fakulta: **Fakulta biomedicínského inženýrství**
Garantující katedra: **Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva**
Studijní program: **Specializace ve zdravotnictví**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**

II. ÚDAJE K BAKALÁŘSKÉ PRÁCI

Název bakalářské práce:

Morfologické změny periferní krve u nedonošených novorozenců

Název bakalářské práce anglicky

Morphological Changes of Peripheral Blood in Preterm Newborn

Pokyny pro vypracování

Předmětem bakalářské práce bude hodnocení morfologického nálezu krevních elementů v periferní krvi u předčasně narozených a fyziologických novorozenců. Obecná část práce bude zaměřena na vývoj hematopoézy v prenatálním a postnatálním stádiu života člověka. Popíše vývoj krevních buněk s fyziologickou morfologií. Nedílnou součástí obecné části budou fyziologické hodnoty krevního obrazu a diferenciálního rozpočtu rozlišené podle věku. Praktická část práce se zaměří na laboratorní nálezy v krevním obrazu a diferenciálním rozpočtu leukocytů u předčasně narozených a fyziologických novorozenců. Praktická část bude obsahovat postup přípravy nátěrů periferní krve, odečítání diferenciálního rozpočtu leukocytů s následným hodnocením morfologie krevních buněk a digitalizaci morfologických nálezu. Praktickou část studentka doplní o vybrané kazuistiky s laboratorními nálezy, které u pacienta vyšetřil.

Seznam doporučené literatury:

- [1] Paramanatham P., Maharaja P., A Study of Peripheral Blood Smear in Neonates. Mod Appl Bioequiv Availab, číslo 3(4), 2018, ISSN: 2577-2856
- [2] Adewoyin A., Nwogoh B., PERIPHERAL BLOOD FILM - A REVIEW. Annals of Ibadan Postgraduate Medicine, číslo 12(2):71-79, 2014, ISSN 1597-1627
- [3] HAFERLACH, Torsten, Kapesní atlas hematologie, Praha: Grada, 2014, ISBN 978-80-247-4787-3
- [4] VYDRA, Jan a Petr CETKOVSKÝ, Hematologie v kostce, Praha: Mladá fronta, 2015, ISBN 978-80-204-3698-6

Jméno a příjmení vedoucí(ho) bakalářské práce


Mgr. Martin Matějček


Jméno a příjmení konzultanta(ky) bakalářské práce:

Lukáš Kolařík DiS.

Datum zadání bakalářské práce **28.09.2018**

Platnost zadání bakalářské práce: **18.09.2020**


prof. MUDr. Leoš Navrátil, CSc., MBA, dr.h.c.
podpis vedoucího katedry


prof. MUDr. Ivan Dylevský, DrSc.
podpis děkana(ky)

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci s názvem Morfologické změny periferní krve u nedonošených novorozenců vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů, které uvádím v seznamu bibliografických odkazů.

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 16.05.2019

.....
podpis

Na tomto místě bych ráda poděkovala svému vedoucímu práce Mgr. Martinovi Matějčkovi za cenné rady, co mi dal a za veškerý čas, který mi věnoval. Dále patří můj obrovský dík konzultantovi Lukášovi Kolaříkovi Dis. za nesmírnou trpělivost, ochotu a odhodlání dovést mou práci do zdárného konce. Ráda bych zde také poděkovala svým rodičům, za všechnu podporu a oporu, kterou mi celé roky studia poskytují.

Abstrakt

Bakalářská práce na téma Morfologické změny periferní krve nedonošených novorozenců se zabývá krevním nálezem u novorozenců vzhledem ke gestačnímu týdnu v době narození.

V teoretické části je uvedeno seznámení s jednotlivými krevními elementy a jejich vývojovými stádii od vzniku v kostní dřeni až po výkon funkce v periférii. Popsány jsou také jednotlivé patologické změny elementů. Je poukázáno na rozdíly fyziologických hodnot novorozenců a dospělých. Také je zde nastíněna problematika nedonošených novorozenců, a to nejprve z klinického a následně z hematologického úhlu pohledu.

Praktická část obsahuje metodologii zpracování vzorku v hematologické laboratoři od manuální práce, tedy zhotovení krevního nátěru, jeho obarvení a následné vyšetřování v mikroskopu, až po úkony automatizované, a to konkrétně na analyzátorech Sysmex (XE-5000, XN-1000 a XN-3000). Hlavním bodem této části je zpracování nálezu u deseti kazuistik novorozenců, a to jak z hlediska morfologických změn (zvláště u erytrocytů a leukocytů), tak i z hlediska odchylek v počtu jednotlivých elementů. Jednotlivé kazuistiky jsou charakterizovány gestačním týdnem v době narození a porodní hmotností, díky těmto parametrům jsou rozřazeny do kategorií. Následuje jejich komparace s výsledky očekávanými dle literatury a odborných článků.

Klíčová slova

Hematologie; morfologie; morfologické změny nedonošení novorozenci, periferní krev.

Abstract

In this thesis „Morphological changes of peripheral blood in preterm newborn“, I will outline the blood findings of newborns with regards to their gestational age at the time of birth.

The theoretical section will cover an introduction to stages of differentiation, from the creation in blood marrow to the functional stage in peripheral blood, including the possible pathological changes. The differences of physiological blood count will be pointed out for newborns as well as adults. Another outlined topic will be the issue of premature newborns from the clinical as well as the haematological point of view.

The practical part will contain the methodology of sample processing in the haematological laboratory from manual work (blood smear, staining of blood smear and microscopic analysis) to automated tasks done by Sysmex analyzers (XE-5000, XN-1000 and XN-3000). The main point of this section will be the morphologically changed forms of elements found in a blood of ten newborns as well as their counts and other measured parameters. The cases will be classified to categories according to their gestational age and birth weight. Then will follow their comparison with the expected results according to literature and scientific articles.

Keywords

Haematology, morphology, morphological changes preterm newborn, peripheral blood.

Obsah

1	Úvod.....	10
2	Současný stav	11
2.1	Krev a její složení.....	11
2.1.1	Trombocyty	11
2.1.2	Erytrocyty.....	12
2.1.3	Leukocyty.....	12
2.2	Hemopoéza	15
2.3	Vývojová stadia	16
2.3.1	Trombopoéza.....	17
2.3.2	Erytropoéza	19
2.3.3	Monocytopoéza	22
2.3.4	Granulopoéza	23
2.3.5	Lymfopoéza.....	26
2.4	Morfologické změny krevních elementů.....	29
2.4.1	Trombocyty	29
2.4.2	Erytrocyty.....	29
2.4.3	Leukocyty.....	31
2.4.4	Lymfocyty	32
2.5	Nedonošení novorozenci	32
2.5.1	Rozdělení a charakteristika	32
2.5.2	Důvody nedonošenosti.....	34
2.5.3	Krevní obraz novorozenců	34
3	Cíl práce.....	37
4	Metodika	38
4.1	Odběr krve	38
4.2	Krevní nátěr.....	38

4.2.1	Provedení.....	39
4.2.2	Barvení.....	39
4.2.3	Hodnocení.....	40
4.3	Automatizace.....	41
4.4	Charakteristika analyzovaných dat.....	46
5	Výsledky.....	47
6	Diskuze.....	69
7	Závěr.....	72
8	Seznam použitých zkratk.....	73
9	Seznam použité literatury.....	76
10	Seznam použitých obrázků.....	80
11	Seznamu použitých tabulek.....	82

1 ÚVOD

Morfologie je biologickou vědní disciplínou zabývající se formou, tvarem a stavbou organismu. V této bakalářské práci se budu zabývat morfologií krevních elementů, která se hodnotí v mikroskopu a má vysokou informační hodnotu.

Nález morfologicky změněných krevních elementů nejčastěji poukazuje na hematologická onemocnění typu leukemie či anémie. U novorozenců, na které je tato práce zaměřena, tento nález ale nemusí vypovídat o žádném závažném problému.

Kromě zralých morfologicky pozměněných buněk v periferní krvi u novorozenců nacházíme mladší vývojová stadia jednotlivých elementů, která nejsou schopna plně vykonávat svoji funkci. Jejich vyplavení do periferie poukazuje na kompenzaci nějakého problému.

Pokud už je krev novorozence do hematologické laboratoře zaslána, jde vždy o novorozence nedonošeného či jinak patologického. Vyšetřuje se tedy kompletní krevní obraz a diferenciální rozpočet leukocytů. Veškeré tyto informace nám dávají ucelený obraz o stavu krve pacienta. Proto je i zde budu studovat pohromadě.

2 SOUČASNÝ STAV

2.1 Krev a její složení

Krev je tělní tekutina, proudící v uzavřeném krevním řečišti, skládající se z tekuté části (plazma) a části buněčné (krevními elementy). Společně s tkáňovým mokem a lymfou propojuje všechny tkáně organismu a zajišťuje jeho stálost (homeostázu). Krev se pohybuje kontinuálně na základě podnětů srdce. Zajišťuje přívod potřebných látek tkáním a eliminuje látky odpadní. Dále nesmíme opomenout funkci termoregulační a imunitní. U dospělého člověka odpovídá objem krve 8 % celkové tělesné hmotnosti [1,3].

Krevní plazma tvoří 43-67 % krevního objemu a je až z 92 % tvořena vodou. Získává se zcentrifugováním nesrážlivé krve a najdeme v ní tedy i srážecí faktory jako je např. fibrinogen. Dále obsahuje bílkoviny, lipidy, sacharidy, dusíkaté látky, ionty anorganických solí, vitamíny a hormony. Plazma je fyziologicky světle žlutá a průhledná.

Zbytek krve tvoří z 33-57 % červené krvinky a poslední procento zbývá krvinkám bílým s krevními destičkami. Erytrocyty a trombocyty se někdy nazývají buňkami neúplnými, jelikož nemají jádro a některé další organely [1,2,3].

2.1.1 Trombocyty

Trombocyty neboli krevní destičky jsou bezjaderné buňky, jejichž hlavní funkcí je účast při zástavě krvácení. Shlukováním trombocytů se vytváří primární krevní zátka. Jejich největší pool najdeme ve slezině, kde se nachází až 1/3 z celkového počtu. Slezina je taky hlavním místem zániku poškozených a starých trombocytů. K destrukci ale napomáhají i játra a kostní dřen. Trombocyty mají životnost 7-10 dní [2].

Jejich fyziologické hodnoty viz tabulka č. 1.

2.1.2 Erytrocyty

Erytrocyty, tedy červené krvinky, jsou bezjaderné krevní elementy. Jejich funkce je transport krevních plynů, a to především kyslíku z plic do tkání a oxidu uhličitého z tkání do plic. Na povrchu erytrocytu je membrána, která je elastická, ale pevná. Propouští vodu a anionty dovnitř buňky, ale zabraňuje úniku kationtů a bílkovin z buňky ven. Erytrocyt až z 90 % zaplňuje krevní barvivo – hemoglobin, obsahující dva páry globinových řetězců, 4 tetrapyrolové prstence a 4 atomy dvoumocného železa Fe^{2+} . Plyny se váží právě na centrální atom železa. V prenatálním vývoji zaznamenáváme 2 typy hemoglobinu: embryonální (do 10. týdne vývoje) a fetální (od 10. týdne do porodu). Tyto dva typy se od sebe liší globinovými řetězci a jsou charakteristické vyšší afinitou ke kyslíku než hemoglobiny dospělých. Fetální hemoglobin přetrvává v krvinkách novorozence do 5. - 7. měsíce, kdy klesá pod 2 % a je nahrazen hemoglobinem dospělých. Ten je z 97 % tvořen tetramerem HbA_1 a ze zbývajících 3 % typem HbA_2 . Erytrocyt má životnost 120 dní, po této době je zničen a většina obsahu je recyklována. Smrt buňky je způsobena vyčerpáním enzymů potřebných pro správné fungování. V důsledku toho ztrácí buňka svou flexibilitu a tvar, a tím je rozeznána fagocytujícími buňkami. Tento proces destrukce erytrocytu se nazývá hemolýza a dělí se na intravaskulární a extravaskulární. U erytrocytů se měří značné množství parametrů. Hematokrit (HCT) udává poměr počtu erytrocytů na celkové množství krve, šíře distribuce erytrocytů (RDW) zase variabilitu jejich velikosti. Dále se měří střední objem erytrocytu (MCV). Všechny tyto parametry se měří při zjišťování krevního obrazu a pomáhají odhalit patologické stavy [2,3,4].

Fyziologické hodnoty všech parametrů i počtu erytrocytů jsou obsaženy v tabulce č. 1.

2.1.3 Leukocyty

Leukocyty, tedy bílé krvinky, jsou jaderné buňky, jejichž hlavním úkolem je boj proti cizorodým agens. Zajišťují jak imunitu specifickou (tvorba protilátek), tak nespecifickou (fagocytóza). Dle počtu jader dělíme leukocyty na polynukleáry (granulocyty) a mononukleáry (agranulocyty). Polynukleáry obsahují v cytoplazmě granula (membránové váčky s enzymy, zajišťující fagocytózu), specificky se barvící

různými typy barviv. Dle toho je dělíme na neutrofilní, bazofilní a eozinofilní. Agranulocyty obsahují pouze granula nespecifická, azurofilní. Řadíme mezi ně monocyty a lymfocyty. U leukocytů se provádí takzvaný diferenciální rozpočet leukocytů, kdy se měří zastoupení jednotlivých typů v krvi. Toto vyšetření napomáhá k diagnostice onemocnění. Kromě výskytu v krvi se vyskytují v rezervním poolu v cytoplazmě a v marginálním poolu ve slezině [1,6,7].

Celkový počet leukocytů viz tabulka č. 1. Diferenciální rozpočet leukocytů tabulka č. 2.

Neutrofilny se z krve přesouvají do poškozených tkání a míst infekce, kde tvoří první obrannou linii. Jejich zvýšená hodnota poukazuje na bakteriální infekce, záněty a tumory organismu. Jsou schopny fagocytovat patologické mikroorganismy. Zralé neutrofilní granulocyty obsahují 500–1 000 specifických granul, ve kterých najdeme myeloperoxidázu, esterázu, lipidy, popřípadě alkalickou fosfatázu a lysozym [4, 5].

Zvýšená hodnota eozinofilních granulocytů se vyskytuje při parazitární infekci, virové infekci, alergiích, či vrozených chorobách. Obsahují kolem 200 granul, která jsou plná myeloperoxidázy, lipidů, histaminu a plazminogenu. Díky látkám, které v sobě obsahují, jsou schopni fagocytovat bakterie, kvasinky a prvoky [5].

Bazofilní granulocyty se vyskytují v podobných případech jako eozinofily. Jejich hodnoty jsou také zvýšeny při obraně proti parazitům, ale zvláště při stavech hypersenzitivity, jako jsou alergie, anafylaktické šoky, infekce a záněty. Jejich granula obsahují histamin, heparin, serotonin, leukotrieny a cytokiny. Tyto granulocyty nejsou schopny fagocytózy [4,5]. Bazofily vyplavené do tkání nazýváme mastocyty.

Monocyty vyplavené do tkáně nazýváme makrofágy. Ve tkáních mají funkci fagocytózy mikroorganismů, eliminaci a prezentaci antigenů. Účastní se destrukce nefunkčních erytrocytů a remodelace tkání, jsou totiž schopny produkovat více jak 50 proteinů. S makrofágy kooperují buňky dendritické, které prezentují antigen T lymfocytům.

Lymfocyty se diferencují v B lymfocyty, T lymfocyty a NK buňky. B lymfocyty dozrávají na místě svého vzniku, tedy v kostní dřeni. Poté se dostávají do lymfatických uzlin a čekají na setkání s antigenem. Ve chvíli setkání se přemění na plazmocyty, které produkují protilátky, a tedy zajišťují humorální imunitu v krvi. T lymfocyty maturují v thymu, zajišťují imunitu buněčnou, a dle jejich CD znaku na povrchu je rozdělujeme na dvě základní skupiny. Pomocné T buňky (CD4+) a cytotoxické T buňky (CD8+). Po opuštění primárních lymfatických orgánů, až do setkání s antigenem označujeme lymfocyty za naivní, po setkání jde o paměťové/efektorové lymfocyty. NK buňky poznávají nádorové a virem napadené buňky, které okamžitě zabíjí [2,3].

Tabulka 1- Parametry KO [8]

Věk nad 15 let			
Parametry KO - analyzátor	Jednotky	Ženy	Muži
Leukocyty - počet (WBC)	$10^9/l$	4,0 - 10,0	4,0 - 10,0
Erytrocyty - počet (RBC)	$10^{12}/l$	3,80 - 5,20	4,00 - 5,80
Hemoglobin - koncentrace (HGB)	g/l	120 - 160	135-175
Hematokrit (HCT)	l/l	0,350 - 0,470	0,400 - 0,500
Střední objem erytrocytů (MCV)	fl	82,0 - 98,0	82,0 - 98,0
Střední množství hemoglobinu v erytrocytu (MCH)	pg	28 - 34	28 - 34
Střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytech (MCHC)	g/l	320 - 360	320 - 360
Šíře distribuce erytrocytů - směrodatná odchylka (RDW-SD)	fl	37,0 - 54,0	37,0 - 54,0
Šíře distribuce erytrocytů - variační koeficient (RDW-CV)	%	10,0 - 15,2	10,0 - 15,2
Trombocyty - počet (PLT)	$10^9/l$	150 - 400	150 - 400
Střední objem trombocytů (MPV)	fl	7,8 - 11,0	7,8 - 11,0
Šíře distribuce trombocytů - směrodatná odchylka (PDW-SD)	fl	9,0 - 17,0	9,0 - 17,0
Šíře distribuce trombocytů - variační koeficient (PDW-CV)	%	12,0-18,0	12,0-18,0
Šíře distribuce trombocytů - variační koeficient - ADVIA (PDW-CV)	%	25,0 - 65,0	25,0 - 65,0
Destičkový hematokrit (PCT)	ml/l	1,2 - 3,5	1,2 - 3,5
Retikulocyty - relativní počet (RET)	%	0,5 - 2,5	0,5 - 2,5
Retikulocyty - absolutní počet (RET#)	$10^9/l$	25 - 100	25 - 100
Normoblasty - relativní počet (NRBC%)	%	0	0
Normoblasty - absolutní počet (NRBC#)	$10^9/l$	0	0

Tabulka 2 - Diferenciální rozpočet leukocytů (mikroskop) [8]

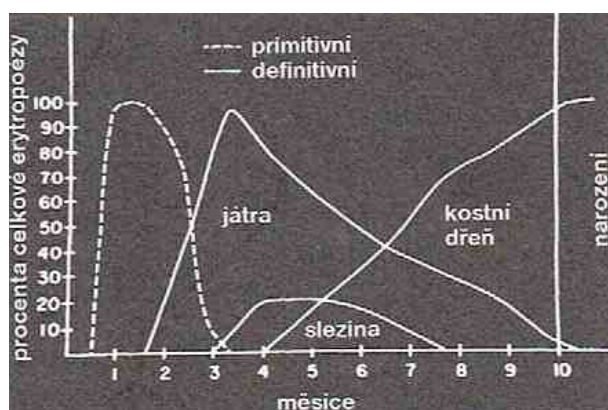
Parametry DIF - mikroskop	Jednotky	Ženy	Muži
Neutrofilní segmenty	%	47 - 70	47 - 70
Neutrofilní tyče	%	0 - 4	0 - 4
Lymfocyty	%	20 - 45	20 - 45
Monocyty	%	2 - 10	2 - 10
Eozinofily	%	0 - 5	0 - 5
Bazofily	%	0 - 1	0 - 1

2.2 Hemopoéza

Krvetvorba je proces vývoje všech krevních elementů. Začínající mezi 14. - 19. dnem embryonálního života.

Před narozením dělíme krvetvorbu do tří stádií. Mezoblastového, hepatolienálního a medulárního. V mezoblastovém období (3. -10. týden nitroděložního života) se první buňky vyvíjí ve žloutkovém vaku. Jde převážně o vývoj erytroidní. Hepatolienální období trvá od 6. týdne, kdy se začínají tvořit buňky v mezenchymu mezi jaterními buňkami.

Ve 12. týdnu se k tvorbě přidávají i základy sleziny. Toto období přetrvává až do narození, a od 20. týdne je podpořeno krvetvorbou v kostní dřeni, a tedy obdobím medulárním [3].



Obrázek 1 - Prenatální Hemopoéza [3]

Ve 2. -3. týdnu po narození jedince se přestává projevovat veškerá extramedulární krvetvorba a za fyziologických podmínek vytváří všechny krevní elementy kostní dřeň sama. Kostní dřeň dělíme na aktivní a tukovou. Aktivní je dřeň červená, která vytváří krevní elementy a po narození je ve všech kostech. Od 4. roku věku se nahrazuje inaktivní tukovou a se stářím zůstává aktivní forma už jen v obratlích, hrudní kosti a horní části dlouhých kostí (kost pažní či kost stehenní). Červená kostní dřeň za den vytvoří 200 miliard erytrocytů, 70 miliard leukocytů a 100 miliard trombocytů [1, 3].

Kostní dřev společně s thymem se označují za centrální lymfatické orgány. Periferní lymfatické orgány jsou lymfatické uzliny, slezina a lymfatická tkáň asociovaná se sliznicemi [6].

Krvetvorbu ovlivňují hormony. Stimulační účinek má hormon růstový, kortikosteroidy, hormony štítné žlázy a mužské pohlavní hormony. Ženskými pohlavními hormony se krvetvorba naopak utlumuje. Celý proces je také ovlivňován nervovým systémem. Zapotřebí jsou i vitamíny: B6, který zabudovává železo do hemoglobinu, B12 a kyselina listová, které podporují syntézu nukleových kyselin a vitamín C, který ovlivňuje využívání železa organismem. I minerály mají při krvetvorbě nezastupitelnou úlohu. Železo je účinná složka hemoglobinu, měď ovlivňuje správné vstřebávání železa a kobalt, je součástí vitamínu B12 [3].

2.3 Vývojová stadia

Prvním vývojovým stadiem všech typů krevních elementů je pluripotentní (z latinského plus=více, potens=schopný) kmenová buňka (dále jen HSC = Hematopoietic Stem Cell), vznikající právě v kostní dřev (dále jen KD). Tato buňka byla poprvé popsána roku 1909 v článku profesora A. Maximova. Z buňky mezenchymu vzniká buňka retikulární a ta se přeměňuje na funkční HSC. Kmenové buňky jsou schopné sebeobnovy. Při každém dělení totiž vzniká jedna buňka identická s mateřskou HSC, která zůstává v poolu (zásobním prostoru v KD) a jedna buňka, co se dále diferencuje do zralejších stadií krvetvorby. Tomuto dělení se říká asymetrické. Z pluripotentní buňky se dále diferencují základy dvou řad v podobě takzvaných CFU (colony forming unit). Pro lymfoidní řadu (CFU-L) a pro řadu myeloidní (CFU-GEMM), ze které se dále formují granulocyty, erytrocyty, monocyty a megakaryocyty [2,3,6].

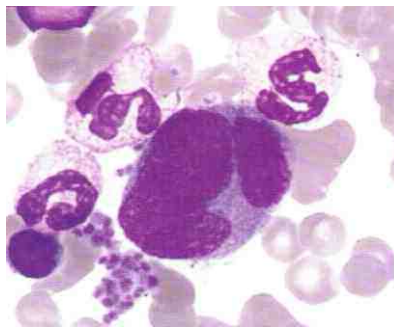
Další diferenciací CFU-GEMM je na E/Meg progenitor – tedy prekurzor pro erytrocyty a megakaryocyty a CFU-GM – prekurzor pro vývojové řady granulocytární a monocytární.

CFU-L se diferencuje na prekurzor pro B-lymfocyty a prekurzor pro T a NK lymfocyty [2].

2.3.1 Trombopoéza

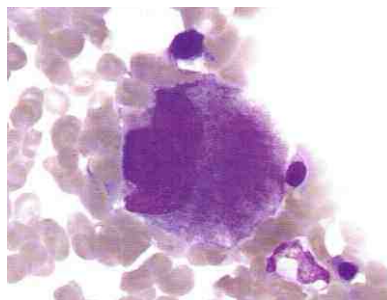
Z již zmíněného E/Meg progenitoru se tedy vyvíjí megakaryocytární řada. Začínající BFU-Meg (Burst forming unit), které se přeměňují na CFU-Meg. Funkční megakaryocyt získáváme ve 3 vývojových stádiích.

První buňkou viditelnou ve světelném mikroskopu je megakaryoblast. Megakaryoblast je 6-20 μm velká buňka s jádrem a modrými jadérky. Cytoplazma představuje jen úzký lem, je středně bazofilní a bez granulace [2].



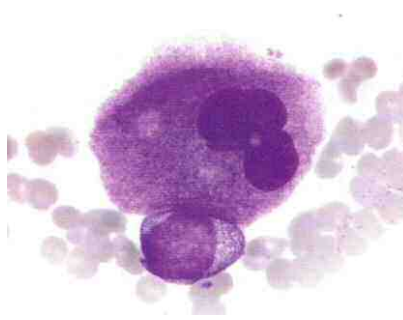
Obrázek 2 – Megakaryoblast ^[2]

Promegakaryocyt je 15-20 μm velký, se značně hrubším chromatinem a bohatší, méně bazofilní cytoplazmou, v které začínáme pozorovat granula [2].



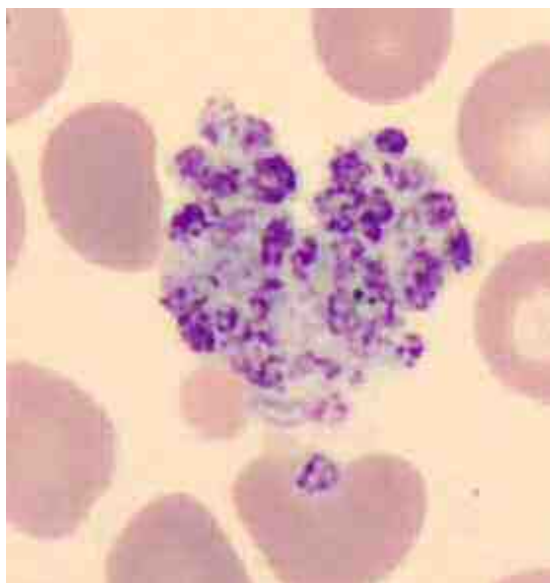
Obrázek 3 – Promegakaryocyt ^[2]

Megakaryocyt dosahuje 40-60 μm a je tak největší buňkou ve fyziologické kostní dřeni. Má vícelaločnaté jádro s hutným chromatinem a růžovofialovou cytoplazmou s azurofilními granuly [2].



Obrázek 4 – Megakaryocyt ^[2]

Z megakaryocytu se odštěpují funkční trombocyty, které jsou velké 1-4 μm a mají modrošedou cytoplazmu s azurofilními granuly [2].



Obrázek 5 - Shluk trombocytů

Trombopoéza je stimulována hlavně trombopoetinem, IL-3, IL-6, IL-11 a G-CSF. Vývoj jednoho megakaryocytu trvá 5-10 dní a vnikne z něj 1 000-5 000 destiček. Fyziologicky máme hodnoty trombocytů v krvi: $150-400 \times 10^9/l$. Muži i ženy mají standardně destiček stejně. Ženám se může počet trombocytů lehce snížit na začátku menstruačního cyklu. U novorozenců je fyziologické rozmezí také stejné. Hodnoty bývají ale většinou vyšší a postupně klesají až do 16. roku života, kdy se hodnota stabilizuje [2,5].

2.3.2 Erytropoéza

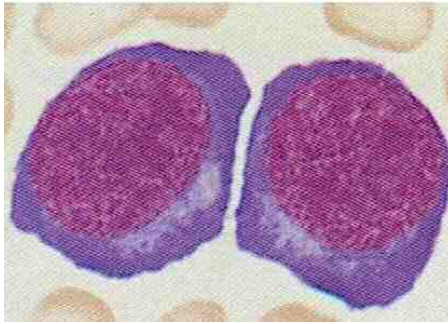
Buňka funkčního erytrocytu vzniká postupnými mitózami a celý proces se nazývá erytropoéza. Ze stádia společné buňky s megakaryocyty (= E/Meg progenitor) vzniká erytroidní burst-forming unit (BFU-E), vytvářející velké kolonie, za stimulace IL-3, ke kterému se postupně přidává erythropoetin (EPO), tyreoidální peroxidáza (TPO), kolonie stimulující faktory (GM-CSF) a stem cell faktor. Z BFU-E se vyvíjí, dle stejné posloupnosti jako u trombocytů, colony forming unit erytrocytů (CFU-E), které proliferují díky stimulaci EPO. Od této chvíle vede k vývoji funkčního erytrocytu šest stadií. Erythropoetin je nejvýznamnějším stimulátorem erytropoézy. Jde o hormon tvořící se téměř pouze v ledvinách, dojde-li tedy k jejich poškození, může se projevit anémie. Dalším stimulátorem je testosteron, který je důvodem vyšších hodnot hemoglobinu a erytrocytů u mužů [2,4].

Prvním stádiem, viditelným ve světelném mikroskopu, je proerytroblast. Buňka oválného tvaru, velikosti 14-20 μm , na povrchu s hrbolkovitými výběžky. Velké jádro obsahuje jadérka a je uloženo centricky. Cytoplazma je hrudkovitá a bazofilní s perinukleárním projasněním [2,3].



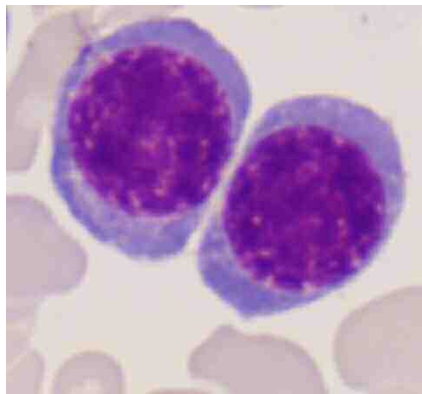
Obrázek 6 – Proerytroblast ^[9]

Dělením proerytroblastu získáváme bazofilní erytroblast, který je celkově o něco menší (12-17 μm) s menším jádrem a bez jasných jadérek. Cytoplazma je stále bazofilní bohatá na polyribosomy a mitochondrie. Také se zde začíná syntetizovat hemoglobin [2].



Obrázek 7 - Bazofilní erytroblast ^[9]

Bazofilní erytroblast se přeměňuje na polychromatofilní erytroblast. Při této přeměně znovu dochází ke zmenšení celé buňky (12-15 μm) a přírůstkem hemoglobinu se snižuje bazofilita plazmy [2].



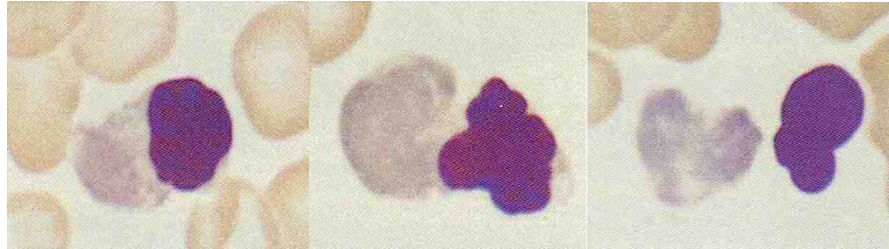
Obrázek 8 - Polychromatofilní erytroblast

Čtvrtým stadiem je ortochromní erytroblast, který už není schopen dělení. Je velký 8-12 μm a dochází u něj pouze k vypuzení jádra, které fagocytují makrofágy [2].



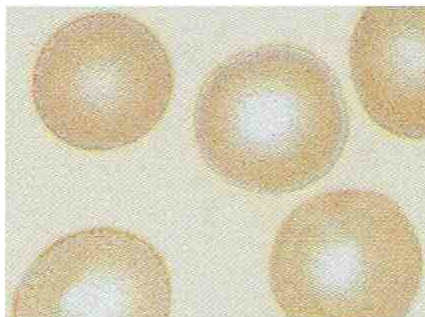
Obrázek 9 - Ortochromní erytroblast ^[9]

V tuto chvíli už jde o retikulocyt, o velikosti 7-9 μm . Cytoplazma začíná být stejně acidofilní (růžová) jako u zralého erytrocytu s obsahem ribozomů a zachovanými některými metabolickými procesy. Postupnou ztrátou organel se z něj během 24-48 h vyvíjí finální buňka [2].



Obrázek 10 - Uvolnění jádra normoblastu^[9]

Výsledný erytrocyt je bikonkávní, bezjaderný a o velikosti 6,7-7,7 μm . Celá erythropoéza trvá 7 dní a pro její správný chod je zapotřebí nejen na začátku zmíněných hormonů ale také aminokyselin, železa, vitamínu B6, B12 a kyseliny listové. Při nedostatku těchto látek (malnutrice, malabsorpce) vznikají morfologické odchylky. Nedostatek železa se projevuje mikrocytózou, nedostatek B12 a kyseliny listové zase makrocytózou. Časté zvýšení se objevuje u parametru RDW, které poukazuje na neefektivní produkci červených krvinek, a to většinou z důvodu nedostatku železa. Každý den tímto procesem vzniká zhruba 5×10^{10} erytrocytů. V periferní krvi je celkové množství erytrocytů u muže: $4,0-5,8 \times 10^{12} /\text{l}$, u ženy: $3,8-5,2 \times 10^{12} /\text{l}$. U novorozeného dítěte je celkový počet erytrocytů vyšší, a to kolem $5 \times 10^{12} /\text{l}$, od momentu narození až do 3. měsíce věku tato hodnota klesá [3,4,5,8,10].

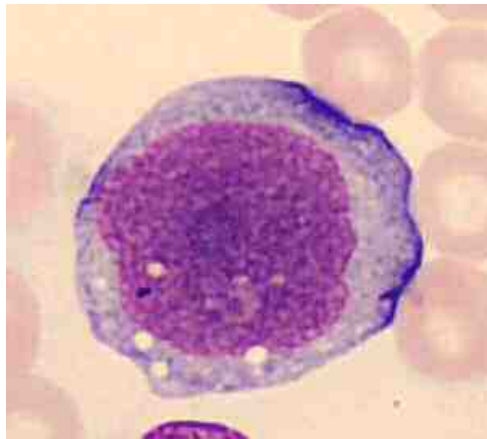


Obrázek 11- Erytrocyt^[9]

2.3.3 Monocytopoéza

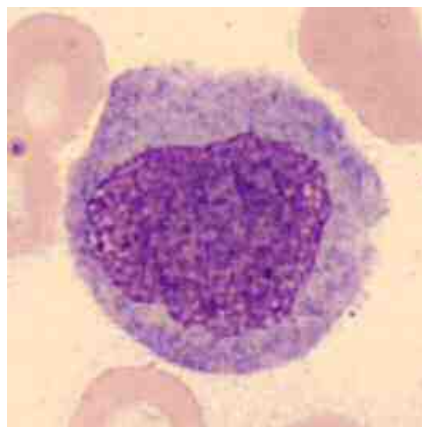
Z CFU-GM vzniká samostatná colony forming unit pouze pro monocyto-makrofágovou řadu: CFU-M, z níž pokračují dvě „větve“. Jedna pro monocyty a druhá pro nezralé elementy dendritické řady. Monocyty mají vývojová stadia tři.

Monoblast je těžké odlišit od myeloblastu. Jde o 14-22 μm velkou, kulatou jadernou buňku s jemným chromatinem a jadérky. Mírně bazofilní a většinou bez granulace [2].



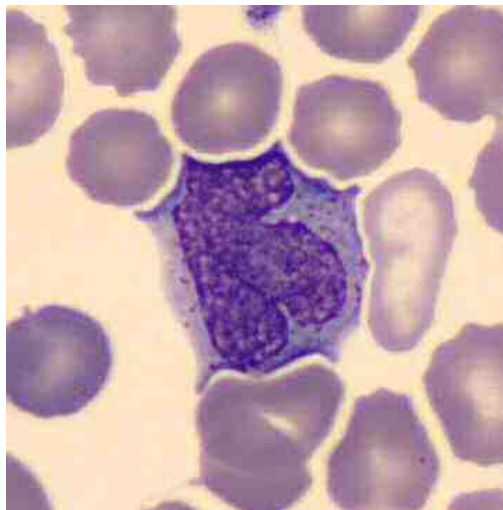
Obrázek 12 – Monoblast

Promonocyt je 14-20 μm velká buňka, nepravidelného tvaru a bez viditelných jadérek [2].



Obrázek 13 – Promonocyt

Monocyt je 14-22 μm , nepravidelného tvaru s podkovitým/ledvinovitým/laločnatým jádrem. Můžeme pozorovat azurofilní granulaci a občasný výskyt vakuol [2].



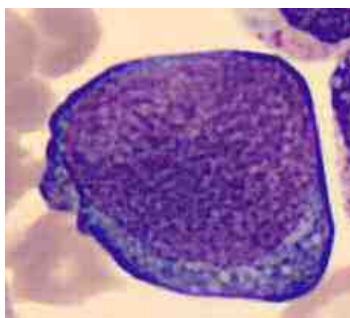
Obrázek 14 – Monocyt

V krvi monocyt přežívá několik dní, a jakmile vycestuje do okolních tkání, označuje se za makrofág (histiocyt) a plní svou funkci [5].

2.3.4 Granulopoéza

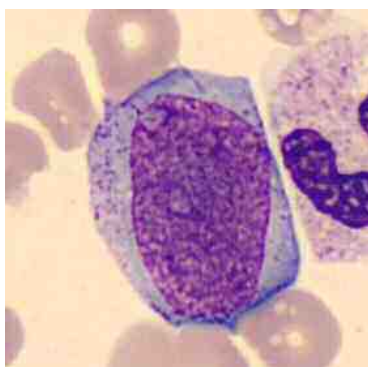
Druhou dceřinou buňkou vznikající z CFU-GM je CFU-G, což je buňka základní pro granulopoézu. Tato buňka dává vzniknout neutrofilnímu granulocyту. Ostatní granulocyty – eozinofilní a bazofilní vznikají samostatně přímo z HSC, nicméně stádia tvorby mají všechny tři typy stejné. Leukopoéza je stimulována G-CSF a GM-CSF, interleukiny (IL-3, IL-4, IL-6, IL7) [2,5].

Nejmladším vývojovým stadiem pozorovatelným ve světelném mikroskopu je myeloblast. Jde o 10-18 μm velkou, kulovitou buňku s velkým jádrem (zabírá až -buňky), které obsahuje 2-4 jádérka, barvící se světleji než chromatin jádra. Cytoplazma je o něco méně bazofilní než u proerytroblastu [2].



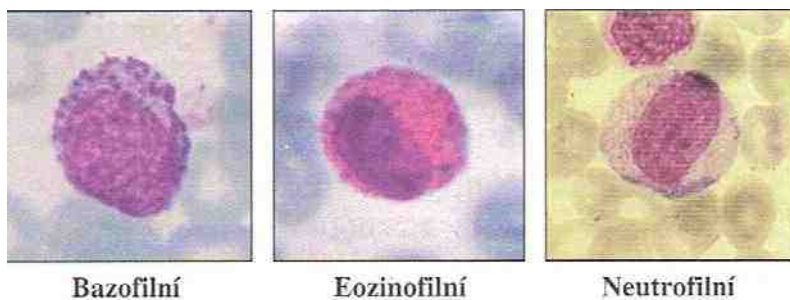
Obrázek 15 – Myeloblast

Druhým stadiem je promyelocyt. Buňka velká 12-20 μm s hrubším jádrem, než měl myeloblast, které zabírá polovinu buňky. Se zvyšujícím se počtem azurofilních granul v plazmě. Chromatin je hrubší než u předchozího stadia. V cytoplazmě jsou modro-fialová azurofilní granula [2].



Obrázek 16 – Promyelocyt

Myelocyt má průměr 12-18 μm . Zmenšilo se jádro a jadérka jsou až neviditelná, také je viditelný ještě hrubší chromatin. Od tohoto stadia lze rozeznávat specifické granulace. Dle barvy granul rozeznáváme eozinofilní (oranžová), bazofilní (tmavě modrofialová) a neutrofilní (růžová) granulocyt. Čím zralejší je myelocyt tím méně bazofilní má cytoplazmu a méně viditelná jadérka [2].



Obrázek 17 – Myelocyt^[3]

Myelocyty se zmenšují na 10-18 μm velké metamyelocyty, s menším excentricky uloženým jádrem ve tvaru ledviny a hutnějším chromatinem. Opět nacházíme tři typy dle barvitelnosti granul [2].



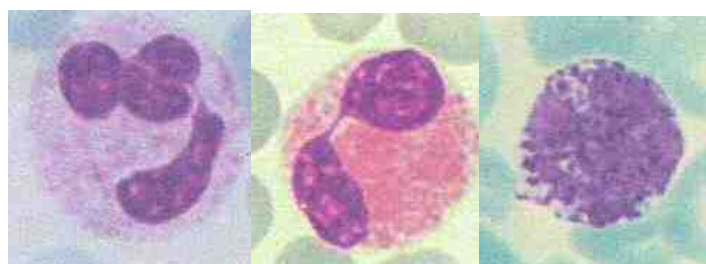
Obrázek 18 – Metamyelocyt^[3]

Jádro se postupně protahuje do tvaru oválu až tyče až vznikne stádium nesegmentovaného granulocytu, kterému se říká tyč. Toto stádium následně své jádro segmentuje. Segmentované a nesegmentované granulocyty jsou jediná stadia granulocytů, která se za fyziologických okolností objevují v periferní krvi [2].



Obrázek 19 – Nesegmentovaný granulocyt-Tyč^[3]

U jednotlivých typů segmentů jsou markantní vizuální rozdíly, a proto je zde popíši odděleně.



Obrázek 20 - Segmenty neutrofilní, eozinofilní, bazofilní (zleva)^[3]

Neutrofilní segment je velký 9-15 μm . Jeho jádro má 2-5 segmentů a spoje mezi segmenty nepřesahují šířkou polovinu nejširšího místa v jádře. Chromatin je hrudkovitý. Cytoplazma je růžová s neutrofilními granuly. Ze všech leukocytů je 75 % neutrofilních a jejich tvorba trvá 6–10 dnů. V periferní krvi se vyskytují 6-12 hodin, poté pokračují do tkání, kde žijí ještě 2-4 dny [2, 4, 7].

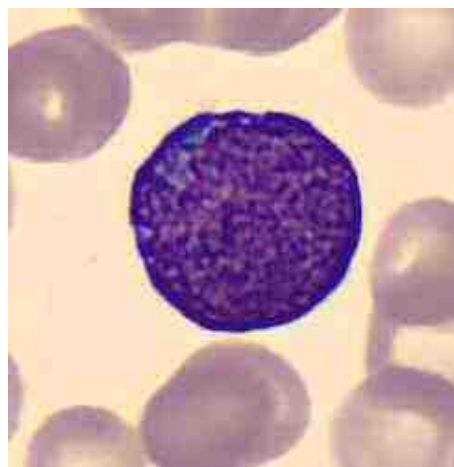
Eozinofilní segment o velikosti 9-16 μm má většinou dvou segmentové jádro s hrudkovitým chromatinem. Cytoplazma je světlá s eozinofilními granuly. Zralé segmenty v krvi přežívají 12-24 hodin a poté se dostávají mimo oběh.

Bazofilní segment je nejmenší. Dosahuje 9-12 μm a laločnaté jádro bývá překryto bazofilními granuly (tmavě fialovými). Cytoplazma je růžová až bezbarvá. V periferní krvi přežívají 4-7 dnů. Ve chvíli, kdy z cirkulace vyplouvají do tkáně, nazýváme je mastocyty [2,4, 5].

Leukocytů mají v krvi fyziologicky muži i ženy $4-10 \times 10^9/\text{l}$, novorozenci mají standardně hodnoty až v rozmezí $9-30 \times 10^9/\text{l}$ [8].

2.3.5 Lymfopoéza

Z lymfoidního progenitoru vznikají lymfoblasty, 10-18 μm velké, obsahující kulaté jádro s 1-2 jadérky a jemným chromatinem. Cytoplazma je bazofilní, bez granulace. Mají rychlejší syntézu RNA a proteinů.



Obrázek 21 - Lymfoblast

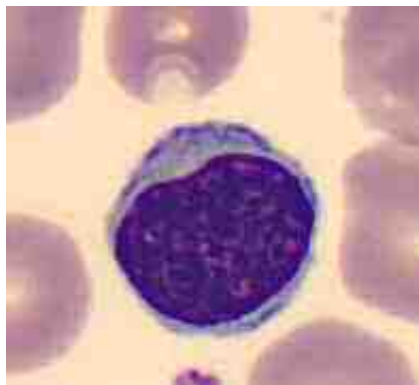
Druhým stadiem je prolymfocyt, 10-18 μm velký, s kulatým jádrem a dobře viditelným centrálním jadérkem. Chromatin je hrubší než u předchozího stadia, cytoplazma zůstává stejná.



Obrázek 22- Prolymfocyt

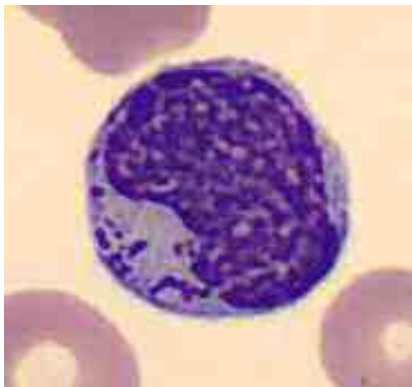
Lymfocyty dělíme dle velikosti na malé a velké.

Malé lymfocyty dosahují velikosti 8-12 μm , jejich jádro má hutný kondenzovaný chromatin a cytoplazma kolem něj tvoří jen úzký světle modrý lem. Někdy ani nebývá viditelná. Tento typ lymfocytu je v krvi z 80-90 %.



Obrázek 23 - Malý lymfocyt^[9]

Velké lymfocyty dosahují 12-16 μm . Mají excentricky uložené jádro s hutným chromatinem. Cytoplazma je světle modrá, bohatá s občasným výskytem azurofilních granul [2].



Obrázek 24- Velký lymfocyt

Hotové B lymfocyty a NK-buňky vycestovávají rovnou do sekundárních lymfatických orgánů, T lymfocyty ještě putují do thymu, kde dozrávají. V sekundárních lymfatických orgánech se lymfocyty setkávají s antigeny. B lymfocyty jsou při setkání s antigenem aktivovány a přeměňují se na funkční buňku produkující imunoglobuliny. Jejich životnost v krvi je několik dnů až týdnů, pokud se ale přemění na buňky paměťové, životnost se zvyšuje až na desetiletí [2].

Prvním stádiem přeměny po setkání s antigenem je plazmoblast. Plazmoblast je 18-25 μm velká buňka s kulovitým jádrem, jadérky a jemným chromatinem, bez granul a vakuol, s růžovo-šedou cytoplazmou. Plazmoblast se dále diferencuje na proplazmocyty, tedy 15-25 μm velkou buňku, která má jádro s 2-4 jadérky, výrazným chromatinem a šedomodrou cytoplazmou s vakuolami a bez granulace [2].

Finálním stádiem je plazmocyty, tedy 8-20 μm velká buňka s jádrem bez viditelných jadérek, hutněji kondenzovaným chromatinem a tmavě modrou cytoplazmou bez granulace, s projasněním kolem jádra [2].

2.4 Morfologické změny krevních elementů

Jde o změny, kterými se vyznačují jednotlivé elementy, a můžeme dle nich určit typ onemocnění člověka. Tyto změny se hodnotí na sklíčku, z obarveného krevního nátěru a aspirátu kostní dřeně. Většina krevních elementů se liší velikostí, výskytem inkluzí, tvarem či barvitelností [2].

2.4.1 Trombocyty

U trombocytu jsou významné změny velikosti. Makrotrombocyty dosahují až velikosti erytrocytu a vyskytují se při vrozených trombocytopeniích. Pokud se v nátěru vyskytují různě velké trombocyty, označujeme to za anizocytózu trombocytů. U myelodysplastického syndromu, chronického myeloproliferativního onemocnění či akutní leukemie se setkáme s hypogranulárními trombocyty, které mají snížený počet granul [2].

2.4.2 Erytrocyty

U erytrocytů můžeme pozorovat změny na několika úrovních. Velikostně menší jsou mikrocyty (MCV <82 fl, průměr <6,5 μm), tyto buňky se vyskytují u anémií sideropenických, sideroblastických i u anémií, které provázejí chronická onemocnění. Dále u mikroangiopatických hemolytických anémií, u hemoglobinopatií a talasemií. Naopak větší makrocyty (MCV > 98 fl, průměr 7,8 μm) nalézáme v krvi při nedostatku B12 a kyseliny listové, u akutních ztrát krve, onemocnění jater a v důsledku chemoterapií. Také poukazují na aplastickou anémii a myelodysplastický syndrom (MDS) [2].

Velikostně porovnáváme i jednotlivé buňky mezi sebou a dle toho mluvíme buď o izocytóze (všechny buňky v nátěru jsou stejně velké) nebo o anizocytóze (v nátěru se objevují různě velké erytrocyty) [2].

Barvitelnost erytrocytu záleží na množství obsaženého hemoglobinu. Normochromní erytrocyty (normálně barvitelné) mají hodnoty MCH (hmotnost hemoglobinu v erytrocytu) 28–34 pg a MCHC (koncentrace hemoglobinu v erytrocytu) 310–370 g/l. Od nich tedy odlišujeme hypochromní erytrocyty, které mají menší množství

hemoglobinu, který je uložen prstencově po obvodu. Projasnění uprostřed zabírá více jak třetinu buňky. Jde o artefakt, který nacházíme u anémie sideropenické, sideroblastické, talasemie a MDS. Anizochromie je různorodá koncentrace hemoglobinu v erythrocytech, poukazující na nedostatek železa, megaloblastovou či refrakterní anemii. Polychromazie, kdy v důsledku zbytků RNA můžeme v erythrocytu pozorovat modravý až naředlý nádech je významná u anémií hemolytických, megaloblastových, kongenitálních dyserythropoetických, u anémií chronických chorob a u novorozenců [2].

Dle změn tvaru odlišujeme největší množství typů červených krvinek. Pokud je v krevním nátěru přítomno typů více najednou označujeme to za poikilocytózu. Mezi nejznámější poikilocyty patří například akantocyty, což jsou erythrocyty s ostny po obvodu buňky v důsledku nedostatku β -lipoproteinů v erythrocytární membráně. Vykytují se při jaterních onemocněních, novorozeneckých žloutenkách, poruchách metabolismu lipidů či po podávání heparinu. Echinocyty erythrocyty s tupými výběžky po obvodu buňky z důvodu poruch lipidů v erythrocytární membráně, často se vyskytují ve starší krvi. U novorozenců se vyskytují vlivem salicylátů a barbiturátů, jinak v důsledku deficitu pyruvátkinázy a uremie. Leptocyty jsou tzv. terčovité erythrocyty. Mají málo hemoglobinu a ten je uložen po obvodu buňky. Vyskytují se opět u anémií, hemoglobinopatií či ledvinových onemocnění. Stomatocyty, které v důsledku elektrolytické nerovnováhy erythrocytu mají tvar pootevřených úst. Stomatocytóza může být dědičná, ale také může poukazovat na onemocnění jater, HON či otravu organismu. Knizocyty mají v důsledku akumulace fosfolipidů a cholesterolu vpáčené membrány a poukazují na anémie, hemoglobinopatie, jaterní onemocnění či pankreatitidu. Schistocyty jsou fragmenty erythrocytů, vznikající přetržením erythrocytů na fibrinových vlákních při trombocytopenické ruptuře, mikroangiopatické hemolytické anemii či diseminované vaskulární koagulopatii. Sférocyty jsou malé, kulaté, sytě se barvící erythrocyty, které mají defekt fosfolipidů buněčné membrány. Jejich přítomnost v krvi může být dědičná, či poukazovat na hypersplenismus. Eliptocyty jsou oválné erythrocyty vznikající kvůli neúplné proteinové struktuře membrány. Vyskytují se dědičně, u některých hemolytických anémií, a anémií sideroblastických/sideropenických či talasemii. Jako poslední zmíním dakryocyty, tedy slzičkovité erythrocyty, vyskytují se

při talasemii, myelofibróze, hemolytické anemii, tuberkulóze či metastázích do kostní dřene [2].

V erythrocytech se vyskytují čtyři základní typy inkluzí. Bazofilní tečkování, což jsou agregáty ribozomů a polyribosomů, ve formě tmavě modrých granul, vyskytující se v organismu při otravě olovem, poruchách syntézy hemoglobinu, talasemii, sideroblastické anemii a megaloblastové anemii. Howell-Jollyho tělíška, představují fragmenty chromozomů z jaderné DNA, jsou purpurová a kulatá. Vyskytují se při hemolytické anemii, megaloblastové anemii, perniciózní anemii, splenektomii a alkoholismu. Pappenheimerova tělíška, představující agregovaný feritin s mitochondriemi a ribozómy, mají nepravidelné okraje, jsou sytě červenofialové a vyskytují se v chomáčcích při okrajích buňky. Klinicky se vyskytují při sideroblastické anemii, talasemii, megaloblastové anemii, hemolytické anemii, splenektomii a kongenitální dyserythropoetické anemii. Poslední významnou inkluzí jsou Cabotovy prstence, což jsou zbytky jaderné membrány erytroblastů a jde o smyčky purpurové barvy. Nalezneme je u megaloblastových anémií, dyserythropoézách a u těžkých anémií [2].

2.4.3 Leukocyty

Změny u leukocytů na morfoloické úrovni jsou rozdílné u neutrofilů, bazofilů a eozinofilů. Tyto změny mohou být vrozené či získané. Nacházíme je ve velikosti, tvaru, uložení jádra, struktuře chromatinu, jadérkách či cytoplazmě a jejich inkluzích [2].

Neutrofilů a eozinofilů při patologických stavech mohou vykazovat jak hyposegmentaci, tak hypersegmentaci. U neutrofilů si můžeme všimnout jaderných přívěsků neboli sex-chromatinu, což je inaktivovaný X chromozom a vyskytuje se v 1-5 % cirkulujících granulocytů žen [2].

Kromě hypergranulace a hypogranulace, které se vyskytují při různých typech infekcí, můžeme v plazmě neutrofilů objevit Auerovy tyče, které vznikají splynutím primárních azurofilních granul a nacházejí se ve všech vývojových stádiích granulocytů. Někdy tvoří tzv. snopce a poukazují na akutní promyelocytární leukemii.

Döhleho inkluze jsou malé modrošedé či světle modré inkluze, vyskytující se většinou společně s toxickou granulací a vakuolizací poukazující na infekce, MDS, AML, léčbu cytokiny, hemolytické anémie či popáleniny. Vakuolizace samostatně se vyskytuje při fúzi granul s fagocytární vakuolou. Vyskytuje se při infekcích, AML, ALL či septických stavech [2].

U eozinofilů se vyskytuje vakuolizace společně s hypogranulací (degranulace či úplná agranulace) a to typicky při idiopatickém HES (hypereozinofilní syndrom) [2].

Bazofily mohou být hypogranulární. A to při MDS či alergiích. Abnormální granula či inkluze se u nich vyskytují při vrozených onemocnění [2].

2.4.4 Lymfocyty

U lymfocytů jsou významné takzvané vlasaté lymfocyty, které mají rozvlákněné okraje cytoplazmy a jemný chromatin. Vyskytují se u vlasatobuněčné leukemie a splenického vilózního lymfomu. Další změny ve tvaru jádra či výskytu vakuol jsou typické pro různé typy lymfomů. Vakuolizace lymfocytů se vyskytuje u vrozených metabolických onemocnění [2].

2.5 Nedonošení novorozenci

Fyziologický novorozenec je dítě narozené v 38. – 42. gestačním týdnu o hmotnosti 2 500 – 4 200 g a délce 48–52 cm. Jako nedonošený novorozenec je označováno dítě narozené před ukončením 37. týdne gestačního věku (ten se počítá od 1. dne poslední menstruace matky). Jako nezralý se považuje novorozenec, který se narodí s hmotností pod 2 500 g a délkou pod 48 cm [11].

2.5.1 Rozdělení a charakteristika

V návaznosti na hmotnost a gestační věk se nedonošení novorozenci dělí do čtyř kategorií:

1. ELBW (extremely low birth weight infant) – dítě narozené do 28. týdne gravidity s hmotností mezi 500–999 g;

2. VLBW (very low birth weight infant) – dítě narozené do 32 týdne gravidity s hmotností mezi 1000-1499 g;

3. středně nezralí novorozenci, kteří jsou narozeni do 34. týdne gravidity s hmotností 1500-1999 g;

4. lehce nezralí novorozenci jsou narozeni do 38. týdne gravidity s hmotností 2000–2499 g [12].

Mohou se narodit i živé děti pod 500 g. Pokud se nedožijí 24 hodin, jsou považovány za aborty [13].

Novorozenci s nízkou porodní váhou tvoří 5-8 % všech narozených dětí, 2/3 z nich jsou novorozenci nedonošení, zbytek jsou novorozenci hypotrofičtí. Hypotrofie novorozence je stav, kdy jeho parametry vývoje neodpovídají týdnu porodu. A to tak, že na svou velikost těla je značně funkčně zralejší, ale oproti dětem stejného gestačního věku je méně odolné, a tedy i náchylnější k infekcím. Hypotrofie bývá způsobena nedostatečnou výživou, nemocemi matky, infekcemi plodu či kouřením matky v těhotenství. Hypotrofický novorozenec má porodní váhu nižší, než je 5. percentil hmotnostního rozptylu daného gestačního věku [11,12].

Typicky se nedonošené děti vyznačují i dalšími znaky.

Jejich kůže bývá průsvitná, červená, bez mázku (zbytky oloupaných epitelii smíchané s produkty mazových žláz na těle novorozence) a fetálního ochlupení. Kůže je vysoce náchylná na poranění ať už chemické (dezinfekce) či mechanické (odlepování náplastí). Nemají dostatek podkožního a tuku, a proto mají problémy s termoregulací. Rýhování na ploskách nohou a dlaních je jemné či zcela chybí. Co do funkčnosti mívají nedonošené děti problém s dýcháním – RDS (syndrom dechové tísně) či apnoe. Kvůli nedostatku surfaktantu nezůstávají alveoly mezi nádechy otevřeny. Trávení trvá déle v důsledku nedostatku trávicích šťáv a zpomalené funkce střev. Novorozenecká žloutenka u nedonošených je také prodloužena, jelikož jejich játra nejsou plně funkční [11, 14].

O nedonošené novorozence musí být speciálně pečováno. Těžce a středně nedonošení jsou první dny života umístěni na jednotce intenzivní péče (JIP) v inkubátoru či na vyhřívaných lůžkách. Dochází k neustálému monitorování jejich životních funkcí (dech, tep, tlak, sycení krve kyslíkem) a tělesné teploty. Stravu nedonošenci obvykle přijímají nitrožilně, normální příjem novorozenecké potravy (kojení) lze zahájit až po stabilizaci funkce střev, a to pouze v případě je-li vyvinut sací a polykací reflex [14].

2.5.2 Důvody nedonošenosti

Předčasný porod je patologický děj, ke kterému dochází z více či méně zřejmých důvodů. Poruchy placenty znamenají předčasný porod v 50 % případů, ať už jde o její špatné umístění, či předčasné odloučení. Dalším důvodem předčasného porodu bývá infekce, která způsobuje buď prasknutí plodových obalů (PROM) s odtokem plodové vody, nebo předčasnou stimulaci děložní svaloviny. Dalším problémem může být imunologická netolerance genetického materiálu otce, či onemocnění matky. Množství předčasných porodů stoupá z důvodu zvyšujícího se věku matek a tím i zvyšujícího se počtu uměle fertilizovaných žen. Předčasnému porodu se dá do určité míry zabránit. Kauzálně – tedy odstraněním příčiny vyvolávání porodu a symptomaticky – potlačením projevů (tlumení děložní činnosti) [13, 14].

V roce 2011 ve spojených státech amerických bylo 11,7 % z narozených dětí narozeno předčasně. Z těchto procent spadalo 71 % dětí mezi „late preterm infants“, což je 4. kategorie českého rozdělení, a tedy lehce nezralí novorozenci. Počet předčasných porodů je navyšován i plánovanými císařskými řezy, které po celém světě v roce 2006 představovaly 31 % z celkového počtu porodů, a i když není doporučeno je provádět před 39. týdnem těhotenství, 36 % z nich předčasně provedeno bylo [12, 15].

2.5.3 Krevní obraz novorozenců

U novorozenců najdeme významné rozdíly v krvi oproti dospělému jedinci.

Hemoglobin, MCV, WBC a RBC jsou zvýšeny u všech narozených dětí. Toto zvýšení je značně patrnější u dětí nedonošených. Hemoglobin v 8. -12. týdnu klesá, a to nejnižší na 110 g/l v návaznosti na saturování krve kyslíkem. Tento náleznazýváme anémií novorozence. U nedonošených dětí tento spád přichází dříve a prudčeji – v 4. -8. týdnu, až na 70 g/l, mají totiž méně erytrocytů, které mají kratší životnost a jsou celkově fragilnější z důvodu zvýšené propustnosti membrány pro sodné a draselné ionty. Jejich erytrocyty bývají větší s větším obsahem hemoglobinu, který je z 80 % stále fetálního původu. Také je typická nedostatečná produkce erythropoetinu, jehož množství z extrémních hodnot v době těhotenství prudce klesá. Tuto anémii nazýváme anémií z nezralosti a do 3. - 6. měsíce dochází k úpravě hodnot k normálu. Typickým nálezem v periferní krvi novorozenců jsou NRBC (tedy jaderné erytrocyty). Fyziologicky do 10 na 100 WBC. Zvýšený počet NRBC může pomoci předurčit postižení mozku či encefalopatii [16,17, 19]. U novorozenců je významná leukocytóza s posunem doleva. Posun doleva znamená, že se v krvi objevují nezralé formy leukocytů. Celkové zastoupení získáváme výpočtem I/T indexu, kdy se počítá podíl nezralých forem agranulocytů ke všem přítomným [15].

Fyziologické hodnoty krevního obrazu a diferenciálního rozpočtu leukocytů u novorozenců v tabulkách 3 a 4.

Tabulka 3- Počet leukocytů (WBC) + diferenciální rozpočet leukocytů [18]

Věk	Leukocyty – počet (10 ⁹ /L)	Neutrofilní segmenty (%)	Neutrofilní tyče (%)	Lymfocyty (%)	Monocyty (%)	Eosinofily (%)	Basofily (%)
Při narození	9.0 - 30.0	51 - 71	0 - 4	21 - 41	2 - 10	0 - 4	0 - 2
12 hodin	13.0 - 38	58 - 78	0 - 4	16 - 32	1 - 9	0 - 4	0 - 2
24 hodin	9.4 - 34.0	51 - 71	0 - 4	21 - 41	2 - 10	0 - 4	0 - 2
2-7 dní	5.0 - 21.0	35 - 55	0 - 4	31 - 51	3 - 15	0 - 8	0 - 2
8-14 dní	5.0 - 20.0	30 - 50	0 - 4	38 - 58	3 - 15	0 - 7	0 - 2
15-30 dní	5.0 - 19.5	25 - 45	0 - 4	46 - 66	1 - 13	0 - 7	0 - 2
1-6 měsíců	5.0 - 19.5	22 - 45	0 - 4	46 - 71	1 - 13	0 - 7	0 - 2
0.5-1 rok	6.0 - 17.5	21 - 42	0 - 4	51 - 71	1 - 9	0 - 7	0 - 2
1-2 roky	6.0 - 17.5	21 - 43	0 - 4	49 - 71	1 - 9	0 - 7	0 - 2
2-4 roky	5.5 - 17.0	23 - 52	0 - 4	40 - 69	1 - 9	0 - 7	0 - 2
4-6 let	5.0 - 15.5	32 - 61	0 - 4	32 - 60	1 - 9	0 - 7	0 - 2
6-8 let	4.5 - 14.5	41 - 63	0 - 4	29 - 52	0 - 9	0 - 7	0 - 2
8-10 let	4.5 - 13.5	43 - 64	0 - 4	28 - 49	0 - 8	0 - 4	0 - 2
10-15 let	4.5 - 13.5	44 - 67	0 - 4	25 - 48	0 - 9	0 - 7	0 - 2

Tabulka 4- Parametry erytrocytární řady, počet destiček a retikulocytů [18]

Věk	Počet erytrocytů	Hemoglobin	Hematokrit	Střední objem erytrocytů	Střední množství hemoglobinu v 1 erytrocytu	Střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytech	Šíře distribuce erytrocytů – CV	Počet destiček	Retikulocyty - relativní počet	Retikulocyty - absolutní počet
	RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC	RDW - CV	PLT	RET	RET #
	10 ¹² /L	g/L	L/L	fL	pg	g/L	%	10 ⁹ /L	%	10 ⁹ /L
1 – 3 dny	4,0 – 6,6	145 – 225	0,45 – 0,67	95 – 121	31 – 37	290 – 370	11,5 – 14,5	150 – 450	3,47 - 5,40	148 - 216
4 dny – 2 týdny	3,9 – 6,3	135 – 215	0,42 – 0,66	88 – 126	28 – 40	280 – 380	11,5 – 14,5	150 – 450	1,06 - 2,37	51 - 110
2 týdny – 1 měsíc	3,6 – 6,2	125 – 205	0,39 – 0,63	86 – 124	28 – 40	280 – 380	11,5 – 14,5	150 – 450	1,06 - 2,37	51 - 110
1 měsíc – 2 měsíce	3,0 – 5,0	100 – 180	0,31 – 0,55	85 – 123	28 – 40	290 – 370	11,5 – 14,5	150 – 450	2,12 - 3,47	52 - 78
2 měsíce – 3 měsíce	2,7 – 4,9	90 – 140	0,28 – 0,42	77 – 115	26 – 34	290 – 370	11,5 – 14,5	150 – 450	1,55 - 2,70	48 - 88
3 – 6 měsíců	3,1 – 4,5	95 – 135	0,29 – 0,41	74 – 108	25 – 35	300 – 360	11,5 – 14,5	150 – 450	1,55 - 2,70	48 - 88
6 měsíců – 2 roky	3,7 – 5,3	105 – 135	0,33 – 0,39	70 – 86	23 – 31	300 – 360	11,5 – 14,5	150 – 450	0,99 - 1,82	44 - 111
2 – 6 let	3,9 – 5,3	115 – 135	0,34 – 0,40	75 – 87	24 – 30	310 – 370	11,5 – 14,5	150 – 450	0,82 - 1,45	36 - 68
6 – 12 let	4,0 – 5,2	115 – 155	0,35 – 0,45	77 – 95	25 – 33	310 – 370	11,5 – 14,5	150 – 450	0,98 - 1,94	42 - 70
12 – 15 let ♀,♂	4,1 – 5,1 4,5 – 5,3	120 – 160 130 – 160	0,36 – 0,46 0,37 – 0,49	78 – 102 78 – 98	25 – 35 25 – 35	310 – 370 310 – 370	11,5 – 14,5	150 – 450	0,90 - 1,49	42 - 65

3 CÍL PRÁCE

Cílem této práce je zhodnotit krevní obraz a diferenciální rozpočet leukocytů v průběhu času u jednotlivých kazuistik. Dále sledovat morfologické změny elementů. Dílčím cílem je porovnat parametry kazuistik s teoretickými parametry získanými v odborné literatuře a poznatky z vědeckých článků.

4 METODIKA

V této části bakalářské práce se budu věnovat možnostem vyšetření krve v hematologické laboratoři, a to s důrazem na zpracování krve novorozenců. Tyto metody byly využity i ke zpracování vzorků pro mou praktickou část.

4.1 Odběr krve

Do laboratoře je zasílána převážně periferní krev odebrána z vény, v souvislosti s tématem této bakalářské práce se ale zaměříme na krev kapilární. Kapilární krev se neodebírá pouze novorozencům a kojencům, ale i dospělým. U dospělých dochází k odběru ve většině případů z laterální strany třetího či čtvrtého prstu nedominantní ruky a využívá se ke zjištění glykémie, acidobazické rovnováhy (ABR) či glykovaného hemoglobinu [20].

Odběr z bříška prstu se doporučuje až od 6. měsíce věku, a proto u novorozenců dochází k odběru z dezinfikované prohřáté paty. Vpich by měl být do 2 mm dlouhý a proveden lancetou či kopíčkem. Patička se nesmí mačkat ani ždímat, aby nedošlo k příměsi tkáňového moku. První kapka se při kapilárním odběru vždy otírá, jelikož v ní mohou být příměsi dezinfekce a je naředěna tkáňovým mokem [21].

Mezi nasbíranými vzorky novorozenců mám i vzorek pupečnickové krve. Pupečnicková krev je krev zůstávající v placentě po přestřižení pupečníku. Její odběr se provádí přímo z přestřiženého pupečníku, či z placenty po jejím porodu. Tato krev je v podstatě totožná s krví novorozence [22].

4.2 Krevní nátěr

Krevní nátěr nám umožňuje sledování krevních elementů v mikroskopu. Provádí se z kapky krve z odběrové zkumavky s nesrážlivým roztokem EDTA či heparinem.

4.2.1 Provedení

Kapka se nanáší na odmaštěné, čisté sklíčko kousek od okraje. Roztěrové sklíčko přiložíme doprostřed podložního skla (pod úhlem 45°), přiblížíme se ke kapce, necháme ji samovolně rozlít po jeho hraně a rychlým rovnoměrným pohybem provedeme nátěr. Krevní elementy tedy táhneme za roztěrovým sklíčkem a nedochází k jejich poškození. Výsledný nátěr by měl být rovnoměrný, plynulý a nedosahovat ani jednoho z okrajů podložního skla. Následně necháváme nátěr za pokojové teploty uschnout. Úhlem, pod kterým nátěr provádíme, se dá ovlivnit jeho tloušťka. Čím větší úhel, tím silnější nátěr. Zkušený pracovník tak dokáže dle hustoty krve a úhlu roztěrového sklíčka zhotovit reprezentativní nátěr [2, 23].

4.2.2 Barvení

Zaschlý krevní nátěr je potřeba obarvit, aby došlo k rozdílné vizualizaci jednotlivých elementů. Nejčastěji se barví Pappenheimovou panoptickou metodou (neboli MGG), což je spojení dvou roztoků – May-Grunwald (složení: Eosin Y, metylenová modř, metylalkohol, glycerol) a Giemsa-Romanowski (složení: metylenová modř, azur-eozin, azur II, metylalkohol, glycerol). Před samotným barvením se nátěr fixuje koncentrovaným May-Gunwaldem s přídavkem etanolu. Jeden z použitých roztoků je vždy kationový (zásaditý). Zde jde o azur B (směs azuru II a metylenové modře), šedomodře barvicí aniontové složky krve. Obarvuje nukleové kyseliny, nukleoproteiny a granula bazofilů. Druhý roztok obsahuje barviva aniontová (kyselá), které se váží na kationty a obarvují je oranžovočerveně. Zde jde o eosin Y, který barví eozinofilní granula a hemoglobin. Oba dva tyto roztoky je možné skladovat při laboratorní teplotě. Na promývání mezi jednotlivými kroky používáme fosfátový pufr (pH 6,8) a ten se uchovává v lednici při 2-8 °C [2].

Celý proces MGG barvení se nedoporučuje provádět na mřížce či barvicím stolku. Vhodná je metoda barvení v uzavřených kyvetách, aby nedocházelo k odpařování roztoků. Nezafixovaný nenabarvený preparát je vhodné zpracovat do pěti hodin. Jakmile dojde k jeho zafixování, může se uchovávat až měsíc. Nátěr je potřeba nechat nejprve dobře zaschnout (10 minut) a až poté dochází k fixaci metanolem v kyvetě. Pro periferní krev stačí fixace dlouhá 5 minut a metanol nesmí přijít do kontaktu

s vodou, která znemožňuje interpretaci výsledků. Když máme zaschlý zafixovaný nátěr, můžeme přejít k barvení. V první kyvetě je roztok May-Grunwald, do kterého ponoříme sklíčko na 10 minut. Ve třetí kyvetě je roztok Giemsa-Romanowski ředěn v poměru 1:9 s fosfátovým pufrům, ve kterém sklíčko necháme také po dobu 10 minut. Druhá, čtvrtá a pátá kyveta obsahují fosfátový pufr na promývání. Po nabarvení by mělo být sklíčko světle růžovofialové (purpurové). Barva nám následně pomáhá v mikroskopu rozeznat jednotlivé krevní elementy. Erytrocyty jsou růžovošedé, trombocyty tmavě růžové, leukocyty mají typicky tmavě fialové jádro, eozinofily oranžová granula, a neutrofilny granula purpurová. Musíme však brát v úvahu, že sytost barev závisí i na vlastnostech biologického materiálu [2,24].

Při nedodržení časů jednotlivých barvení je zkomplikováno následné hodnocení, kvůli špatnému dobarvení. Také se musí dát pozor, aby nedošlo k odloupení krevního nátěru, kontaminaci vodou či vlhkostí [7].

Pokud potřebujeme rozeznat retikulocyty je zapotřebí využít jiných barvicích metod tzv. supravitálního barvení (např. brilantkresylovou modří), kdy nedochází k fixování nátěru. V panoptickém barvení nejsou totiž rozeznatelné od velkých erytrocytů [7].

4.2.3 Hodnocení

V krevním nátěru hodnotíme početně: subpopulace leukocytů a erytoblasty na 100 leukocytů, počet schistocytů a trombocytů na 1000 erytrocytů a subjektivně morfologické změny. K hodnocení používáme klasický světelný mikroskop. Než začne hodnocení krevních elementů, provádí se kontrola správného provedení nátěru při menším zvětšení, tímto způsobem si také nalezneme optimální místo k samotnému hodnocení. Jde o místo, kde se buňky nepřekrývají a jsou rovnoměrně rozprostřeny. Poté si na mikroskopu nastavíme zvětšení 1 000x a za použití imerzního oleje hodnotíme nátěr meandrovitě [3].

Fyziologický nález bílých krvinek v krevním nátěru je zastoupen neutrofilními tyčemi i segmenty, eozinofilními a bazofilními segmenty, lymfocyty a monocyty. Patologicky nacházíme jakékoliv vývojová stadia elementů, nehematopoetické maligní buňky či krevní parazity. Co se týče červené krevní řady, fyziologicky nalézáme

jen erytrocyty a u novorozenců normoblasty. Patologicky jsou normoblasty v krevním nálezu hemolytických anémií a hematologických malignit [3].

4.3 Automatizace

Jako ve všech klinických laboratořích je dnes práce na hematologických pracovištích z větší části zautomatizována. Analyzátoři jsou schopni nejen samostatně změřit krevní obraz i s histogramy a scattegramy pro RBC, WBC A PLT, ale také provést krevní nátěr, a z něj udělat diferenciální rozpočet leukocytů. Diferenciální rozpočet je vždy nutné přikontrolovat a upravit, jelikož analyzátor nerozřazuje vždy (zvláště morfologicky změněné buňky) zcela správně. Tyto analyzátoři jsou navíc výhodné i svou rychlostí. Manuální krevní nátěry se dnes dělají převážně až po nález patologických změn analyzátořem, který není schopen tyto nefyziologické buňky identifikovat.

Analyzátor si plnou krev rozdělí na část s erytrocyty a trombocyty a část s leukocyty sloužící k změření jejich rozpočtu [25].

Erytrocyty a trombocyty jsou usměrněny za pomoci hydrodynamické fokusace, kdy je vzorek vstříkovan do diluentu a poháněn stejnosměrným proudem. Díky tomu dochází k proměření každé buňky zvláště. Buňky jsou analyzovány impedančně, kdy se počty a velikost elementů stanovují na základě změn elektrického odporu (impedance) v měřicí kyvetě, ve které je vně i uvnitř polarizované stejnosměrné elektrické pole. Četnost změn měrného odporu prostředí a vybuzení napětí udává počet buněk a velikost impulzu jejich objem. Impulz je měřen pomocí voltmetru. Jednotlivé buňky jsou unášeny vodivým roztokem skrz aperturu a snímány z obou stran elektrodami. Jednotlivé buňky mají na povrchu silný záporný elektrický náboj, a proto se stejnosměrný proud nedostává do jejich nitra a jen je po povrchu obtéká. Výsledkem tohoto měření je histogram distribuce buněk na základě jejich velikosti [2,3,4,7,25].

Leukocytární rozpočet je proveden díky průtokové fluorescenční cytometrii, která patří mezi optické metody. Leukocyty jsou zředěny v daném poměru a poté označeny fluorescenčním barvivem, které se váže na nukleové kyseliny. Následně jsou buňky ozářeny polovodičovým laserovým paprskem a dochází ke snímání rozptylu

světla a fluorescence fotodiodou. Typickým zástupcem této metody je fluorescenční průtoková cytometrie, kdy jsou jednotlivé buňky ozařovány laserovým paprskem (se světlem o vlnové délce 633 nm), a jejich odezva se analyzuje. Tímto způsobem dochází k proměření leukocytů zjištění jejich velikosti, složení, granulaci plazmy, či členitosti jádra a rozpočtu jednotlivých populací. Konkrétně se snímá přední rozptyl světla, který určuje velikost krvinky, boční rozptyl světla, který poukazuje na obsah buňky. Třetím parametrem je boční fluorescence, kterou se identifikuje množství RNA a DNA v buňce. Výsledkem tohoto měření je scattergram, na kterém buňky s podobnými fyzikálními a chemickými vlastnostmi vytváří shluky. Na ose X je ve scattergramu intenzita signálu z DC napětí, na ose Y variace vysokofrekvenčního střídavého napětí RF [2,4,7,25,26].

Do analyzátorů se dává plná venózní či kapilární krev s antikoagulačními činidly K₃EDTA nebo K₂EDTA. Rozdíl těchto dvou antikoagulant je v pH jimi vytvářeného pufru a jejich působení na krevní elementy. Kromě celkového počtu krvinek, který se stanovuje na 1 litr krve, měříme i parametry dle typu buňky. Některé parametry se přímo měří, některé parametry se dopočítávají. Analyzátozem získáváme tyto parametry.

- Pro erytrocyty:
 - počet (RBC);
 - hematokrit (HCT), což je poměr objemu erytrocytů k celkovému množství krve;
 - průměrné množství hemoglobinu v erytrocytu (MCH);
 - průměrná koncentrace hemoglobinu v erytrocytu (MCHC);
 - střední objem erytrocytu (MCV), který vyjadřuje průměrný objem buňky;
 - histogram erytrocytů dle MCV;
 - střední průměr erytrocytu (MCD);
 - šíře distribuce erytrocytů (RDW);
 - počet retikulocytů.

Výpočtem dále získáváme: střední tloušťku erytrocytu (MCT) a povrch erytrocytu.

- Pro leukocyty:
 - počet leukocytů (WBC);
 - diferenciální rozpočet leukocytů;
 - histogram leukocytů dle objemu.
- Pro trombocyty:
 - počet trombocytů (PLT);
 - střední objem trombocytu (MPV);
 - histogram trombocytu dle objemu.

Výpočtem dále získáváme: šíři distribuce trombocytu PDW (což je histogram populací dle MPV) a destičkový hematokrit (PCT) [5,7].

Morfologické změny hodnotíme dle množství na 1-3 křížky. Kvantitativně hodnotíme výskyt jednotlivých typů buněk. Může se vyskytovat tzv. posun doleva, což je výskyt nezralých forem krevních elementů v periferní krvi. Většinou jde o mladší vývojové formy granulocytů, tedy metamyelocyty, myelocyty a promyelocyty. K vyplavování nezralých forem dochází při vyšší potřebě leukocytů, tedy při infekcích, otravách či krvácení. Tento posun se vyjadřuje za pomoci Hynkova čísla, které se vypočítá poměrem jaderných segmentů ve 100 granulocytech vydělený číslem 100. Fyziologická hodnota Hynkova čísla je 2,73. Je-li menší, mluvíme o posunu k nezralým formám (tedy posunu doleva), je-li větší než 4 mluvíme o posunu k formám vyzrálým až hypersegmentaci (>6). Kvalitativně se hodnotí výskyt např. toxické granulace, změněné segmentace jádra či nález parazitů [2].

Laboratoř klinické hematologie FN Motol, v které jsem prováděla praktickou část této bakalářské práce, disponuje třemi generacemi hematologických analyzátorů firmy Sysmex, a to XE-5000, XN-1000 a XN-3000. Bude popsána základní metodika (která je u všech zmíněných analyzátorů stejná) na analyzátoru Sysmex XE-5000. K ostatním analyzátorům budou uvedeny pouze parametry, kterými se liší.

Analyzátor XE – 5000 je hematologický analyzátor na měření lidské krve, lidských tělních tekutin a kontrolní krve. Z plné krve je schopen změřit za hodinu 150 vzorků, kdy v zavřeném módu potřebuje 200 μ l vzorku, v módu otevřeném 130 μ l vzorku. A v kapilárním módu pouze 40 μ l [27].

Je nastaven k analýze 67 parametrů – 37 diagnostických parametrů + 6 parametrů tělních tekutin + 24 parametrů předem nařazených vzorků.

Měření probíhá různými metodami dle stanovovaného parametru. HPC jsou stanovována na základě změn odporu radiofrekvenčního proudu. Počty erytrocytů, leukocytů a trombocytů díky hydrodynamické fokusaci, tedy již vysvětlenou impedanční analýzou. Měření hemoglobinu je možné SLS metodou, kdy dochází čínidlem k hemolýze erytrocytů i leukocytů, následně je hemoglobin zoxidován a navázán na roztok lauryl sulfátu sodného, se kterým tvoří stabilní zbarvený komplex, který jsme schopni fotometricky detekovat. Fluorescenční průtokovou cytometrií potom měří ostatní parametry jako je diferenciální rozpočet leukocytů, NRBC, RET, počet nezralých granulocytů (IG) atd [25,27].

Množství erytrocytů a trombocytů dokáže měřit i opticky. Pro nezralé buňky má speciální kanál IMI (immature myeloid information). V kanálu IMI dochází k záměrnému poškození zralých buněk na základě jejich vysoké hodnoty lipidů v membráně a dochází k vyselektování buněk nezralé myeloidní řady. Následně je možné mezi těmito zbylými buňkami rozpoznat blastické buňky a nezralé granulocyty (myelocyty, metamyelocyty a promyelocyty). Kanál IMI je také citlivý na shluky trombocytů. Sysmex XE-5000 má také NRBC kanál, který specificky lyzuje membránu erytrocytů, a nepostihnutá zůstávají jen jádra jaderných erytrocytů NRBC kanálem jsme tedy schopni měřit množství normoblastů ve vzorku [26].

Aspirace vzorku je možná dvěma pipetami a před jakoukoli bychom měli vzorek promíchat, jelikož mají buňky tendenci sedimentovat. Míchání by mělo být jemné, aby se krevní elementy nepoškodily. Před aspirací jednou z pipet si analyzátor ještě 2x zkumavku sám promíchá, ale u druhé dochází rovnou k nasátí vzorku.

První pipeta se používá v normálním režimu, když máme několik vzorků za sebou ve stojánku a ve všech je dostatečné množství vzorku. Jde o režim sampler. Analyzátor si nasává postupně jednu krev po druhé. Do stojánku se vejde až 10 vzorků a takovýchto stojánků můžeme použít maximálně 10 na jednu. Jde o uzavřený systém, protože se do analyzátoru vkládají zkumavky s uzávěrem, analyzátor si je sám 2x promíchá a poté skrz víčko nasaje vzorek [26].

Druhá pipeta se používá k ručnímu nasátí a jde o režim manual. Na pipetu samy nasazujeme otevřenou zkumavku a jde se tedy o systém otevřený. Tato pipeta se používá, máme-li ve zkumavce malé množství krve, nejčastěji právě po kapilárním odběru, kdy je v mikrozkušavce kolem 50 μ l krve. Jelikož sami pipetě zkumavku nastavujeme, můžeme zkontrolovat, že pipeta byla ve vzorku ponořena a nedošlo k nasátí například napěněné části vzorku [26].

Každé ráno dochází k manuální kontrole kvality, kdy se proměřují vzorky o známé koncentraci od výrobce. Jde o vysokou, nízkou a fyziologickou hladinu. Nevyjde-li tato kontrola, nemůže se začít analyzátor používat. Jelikož má analyzátor dvě pipety, je potřeba provést kontrolu kvality pro každou a tím zjistit, zda dochází ke správnému nasátí u obou.

Analyzátor provádí po každém zapnutí hlavní jednotky kontroly: kontrolu mikroprocesoru, kontrolu teploty a kontrolu pozadí.

Analyzátor XN-1000 je oproti XE analyzátoru menší a modernější. Vejde se do něj pouze 5 stojánek po 10 zkumavkách a měří 28 diagnostických parametrů rychlostí minimálně 100 vzorků/hod. Ve všech režimech ale aspiruje pouze 88 μ m vzorku. Tento analyzátor má také pouze 1 pipetu, kterou je schopný nasávat vzorek jak ze stojánku, tak manuálně. Problém mikrozkušavek a malého množství materiálu se zde řeší adaptérem, do kterého se umístí zkumavka se zvednutým dnem a pipeta je poté schopna vzorek správně nasát [28].

Analyzátor XN-3000 je propojení dvou analytických modulů na měření krevního obrazu (se stejnými charakteristikami jako XN-1000) a modelu schopného barvit a vytvářet krevní nátěry (SP-10). Krevní nátěry se, ale vytváří pouze ze vzorků, u kterých to má diagnostický smysl či u kterých si nátěr vyžádá ošetřující lékař [28].

4.4 Charakteristika analyzovaných dat

Do své praktické části jsem vybrala vzorky deseti pacientů sledovaných po různé časové úseky. Proměřila jsem jejich krevní obraz a provedla jejich diferenciální rozpočet z nátěru. Všechny získané hodnoty jsem seskupila a následně porovnála u jednoho pacienta v průběhu času, dále s fyziologickými hodnotami.

5 VÝSLEDKY

Kazuistika 1

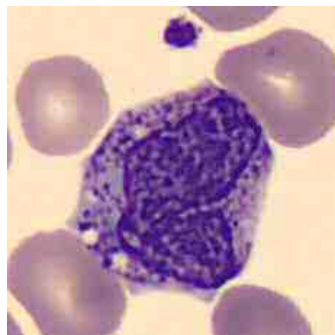
Pacient narozený v 28. týdnu gestačního věku s porodní hmotností 870 g. Jde o nezralého nedonošeného jedince s věkem zapadajícím do skupiny VLBW, ale hmotností stále spadající mezi ELBW.

První odběr tohoto pacienta byl odběr pupečníkové krve. Při diferenciálním rozpočtu byly zvýšeny lymfocyty, eozinofily, bazofily, metamyelocyty a myelocyty. Mikroskopicky byly viděny polymorfní lymfocyty, plazmatické reakce lymfocytů, hypersegmetované neutrofilů, neutrofilů s vakuolizovanou plazmou, jádra megakaryocytů.

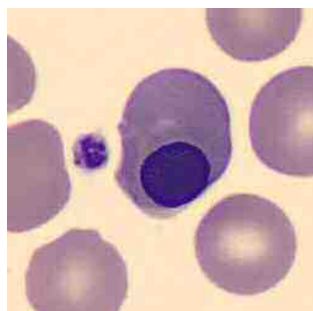
Některé z nefyziologických buněk v periferní krvi:



Obrázek 25 -
Megakaryocyt



Obrázek 26 - Metamyelocyt

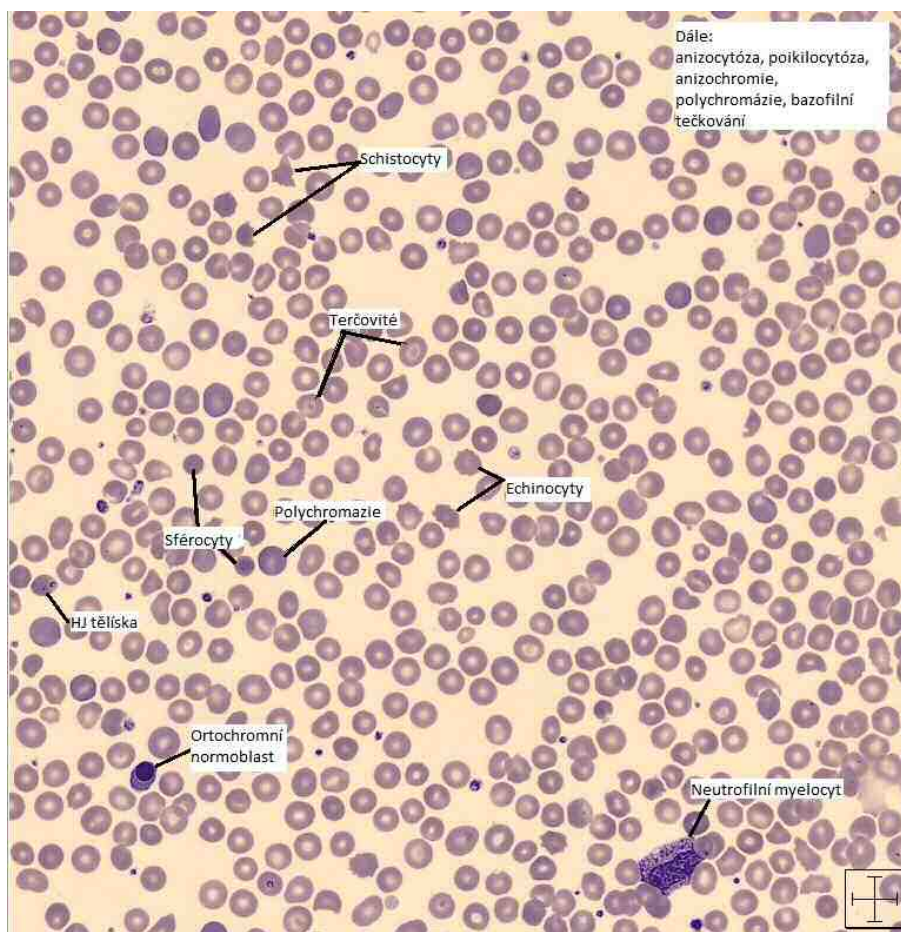


Obrázek 28- Normoblast



Obrázek 27- Myelocyt

Mezi erytrocyty byly terčovitě buňky, buňky s bazofilním tečkováním a Howell Jollyho tělíska. Dále popsána poikilocytóza, anizocytóza, polychromázie a anizochromie. Zachycené buňky popsány na obrázku č. 29.



Obrázek 29 - Mikroskopický nález

Pacientův vývoj krevního obrazu a diferenciálního rozpočtu je uveden v tabulce 5 a 6. V krevním obrazu se dá pozorovat stabilní zvýšení parametru RDW a stabilní snížení HCT. Můžeme sledovat sice lehce oscilující ale více méně stále postupný pokles jaderných erytrocytů. RBC ani MCV nejsou nijak významně pozměněny, při některých odběrech prokazují lehké snížení. Počet leukocytů od prvního odběru nevykazuje žádné zásadní výchyly. V diferenciálním rozpočtu jsou u téměř každé návštěvy zvýšeny monocyty. Dále můžeme vidět již zmíněný výskyt metamyelocytů a myelocytů.

Tabulka 5- vývoj KO

Pacient 1	RBC (10 ¹² /l)	HGB (g/l)	HCT (l/l)	MCV (fl)	MCH (pg)	RDW (%)	NRBC (/100 WBC)
1. den	3,42	125	0,357	104,4	36,5	16,8	46
3. den	4,63	166	0,465	100,4	35,9	16	11
15. den	4,00	140	0,370	92,5	35	15,5	0
27. den	2,93	98	0,268	91,5	33,4	15,9	10
32. den	2,41	80	0,231	95,9	33,2	20,1	23
49. den	3,06	93	0,264	30,4	30,4	19,3	3

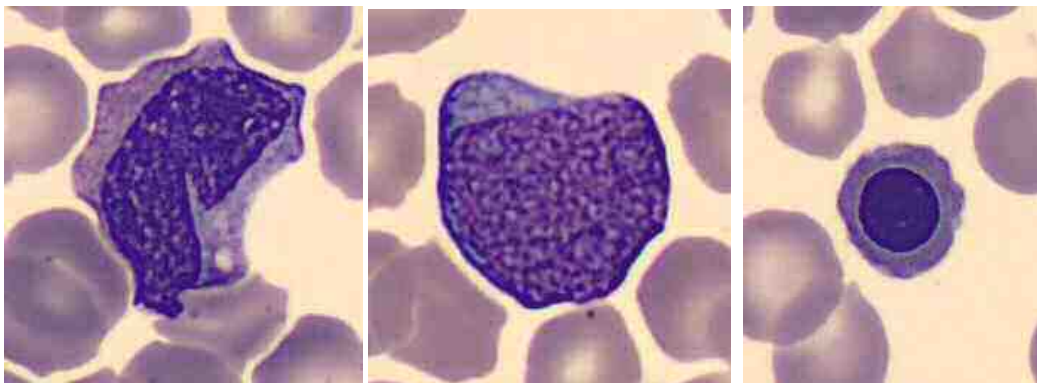
Tabulka 6 - Počet leukocytů + Diferenciální rozpočet

Pacient 1	Leu (x10 ⁹ / l)	Mono (%)	Seg (%)	Tyče (%)	Eo (%)	Bazo (%)	Meta (%)	Myelo (%)	Blasty (%)
1. den	6,8	9,8	24,1	1,1	5,5	2,2	2,7	4,9	0
3. den	12,6	23,1	31,3	0,5	1,5	0	0,5	0,5	0
15. den	24,2	15,2	43,7	2	5,6	1,5	0	0	0
27. den	11,5	13,9	11	12,4	6,5	0,5	0	0,5	0
32. den	20,6	15,9	21	11,3	0	1,6	0,5	1	0
49. den	17,5	5,9	28,9	2,1	8	1,1	2,1	0	0

Kazuistika 2

Pacient narozený v 28. týdnu gestačního věku s porodní hmotností 920 g. Nedonošený, nezralý novorozenec dle týdne narození zapadající do skupiny VLBW, dle hmotnosti do ELBW. Při prvním odběru bylo v diferenciálním rozpočtu viděno zvýšené množství lymfocytů. V krevním nálezu byly dále viděny z leukocytární řady polymorfní lymfocyty, plazmatické reakce lymfocytů, vakuolizace plazmy neutrofilů.

Některé z buněk v periferní krvi:

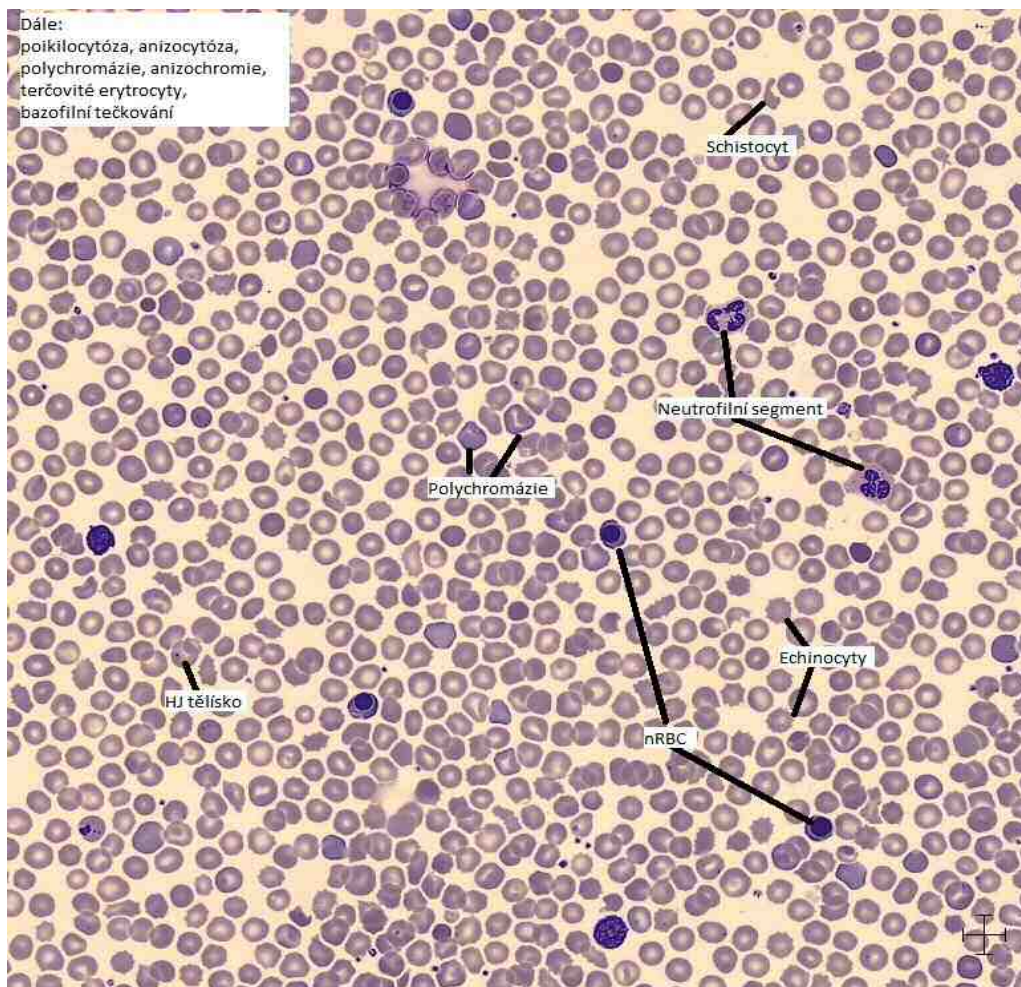


Obrázek 31- Metamyelocyt

Obrázek 32 - Blast

Obrázek 30- Normoblast

Z eryteroidní řady byly významné terčovitě erytrocyty, sférocyty a popsána poikilocytóza, anizocytóza, polychromázie, anizochromie. Dále zde najdeme jádra megakaryocytů.



Obrázek 33- Popsaný mikroskopický nález

V tabulkách 7 a 8 vidíme vývoj krevního obrazu u pacienta 2 v období tří měsíců od narození. V krevním obrazu je permanentní zvýšení RDW a při posledních 4 návštěvách snížení HCT. Vidíme postupné snižování počtu jaderných erytrocytů až k nulovému výskytu při posledních dvou návštěvách. Jinak je kromě lehkých oscilací krevní obraz fyziologický.

Diferenciální rozpočet leukocytů zachytil při prvním odběru blastickou buňku. Při některých následujících odběrech byly zachyceny myelocyty a metamyelocyty.

Tabulka 7- Parametry KO

Pacient 2	RBC (10¹²/l)	HGB (g/l)	HCT (l/l)	MCV (fl)	MCH (pg)	RDW (%)	NRBC (/100 WBC)
1. den	4,25	170	0,468	110,1	40	16,9	60
2. den	4,68	183	0,520	111,1	39,1	17	10
11. den	4,25	158	0,422	99,3	37,2	15,4	1
20. den	3,55	127	0,342	96,3	35,8	15,3	1
39. den	2,71	86	0,249	91,9	31,7	17,6	2
63. den	3,16	94	0,264	83,5	29,7	16,7	0
90. den	3,29	98	0,269	81,8	29,8	15,5	0

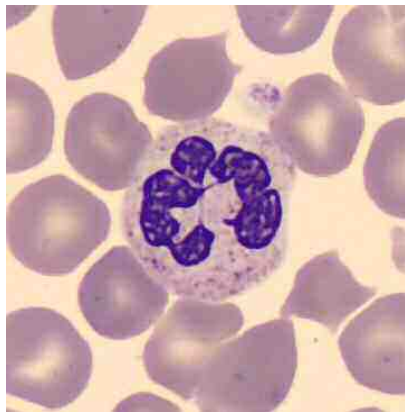
Tabulka 8- Počet leukocytů + Diferenciální rozpočet

Pacient 2	Leu (x10⁹/ l)	Mono (%)	Seg (%)	Tyče (%)	Eo (%)	Bazo (%)	Meta (%)	Myelo (%)	Blasty (%)
1. den	17,1	6,0	43,7	2,2	1,1	0	2,2	2,2	0,5
2. den	16,1	7,9	59,2	0,5	0	1	0	0,5	0
11. den	12,8	17,5	20,1	6,7	1,5	2,6	0	0	0
20. den	13	13,7	36,6	1	5,1	1	0,5	0	0
39. den	8,9	14,6	20,1	1,5	1,5	0,5	0	0	0
63. den	8,7	7,5	16	1,1	4,3	0,5	0	0,5	0
90. den	10,1	3,1	13,8	0,5	2,1	2,1	0	0,5	0

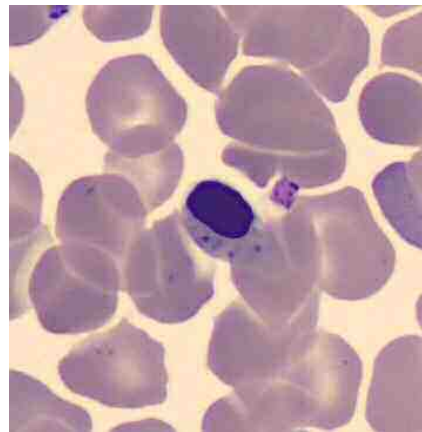
Kazuistika 3

Pacient narozený v 29. týdnu gestačního věku s porodní hmotností 1 140 g, nezralý, nedonošený a dle obou kritérií odpovídající kategorii VLBW. V jeho krevním obrazu byla popsána hypersegmentace neutrofilů a vakuolizace plazmy u neutrofilů.

Fotky některých buněk:

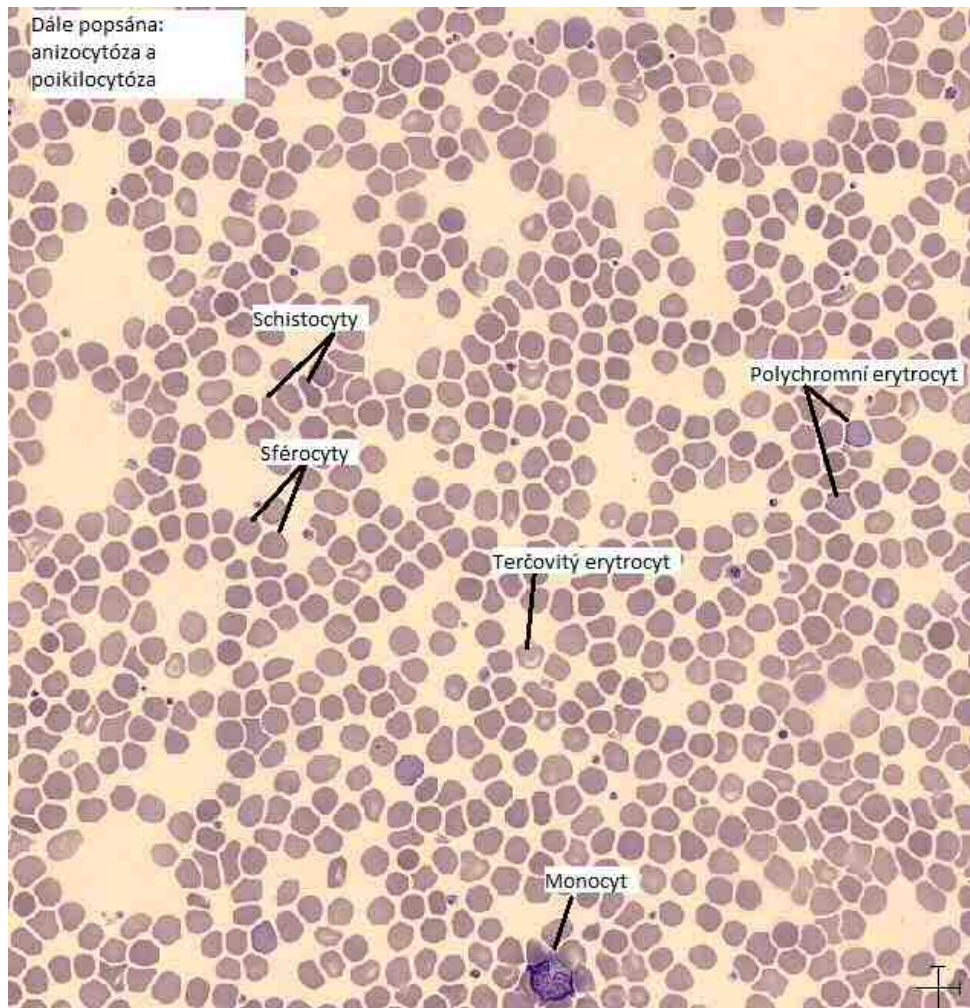


Obrázek 35- Hypersegmentovaný neutrofil



Obrázek 34- NRBC s bazofilním tečkováním

U červené krevní řady byl nález schistocytů, terčovitých erytrocytů, sférocytů a popsána anizocytóza a poikilocytóza. U trombocytů byl zmíněn nález makrotrombocytů.



Obrázek 36-Popsaný mikroskopický nález

V tabulkách 9, 10 vidíme vývoj krevního obrazu a diferenciálního rozpočtu leukocytů. Lze pozorovat netypický nárůst HGB a HCT mezi prvním a druhým nátěrem, také překvapivě malý nález NRBC při prvním odběru, který se v druhém týdnu rapidně zvýšil. Permanentní zvýšení RDW. Dle diferenciálního rozpočtu zvýšený počet monocytů a snížený počet segmentů. Jinak fyziologický obraz.

Tabulka 9- Vývoj KO

Pacient 3	RBC ($10^{12}/l$)	HGB (g/l)	HCT (l/l)	MCV (fl)	MCH (pg)	RDW (%)	NRBC (/100 WBC)
1. den	4,35	150	0,417	95,9	34,5	17,6	1
4. den	5,35	198	0,548	102,4	37	17,3	1
13. den	4,75	175	0,496	104,4	36,8	17	9

Tabulka 10- Vývoj leukocytů + diferenciální rozpočet

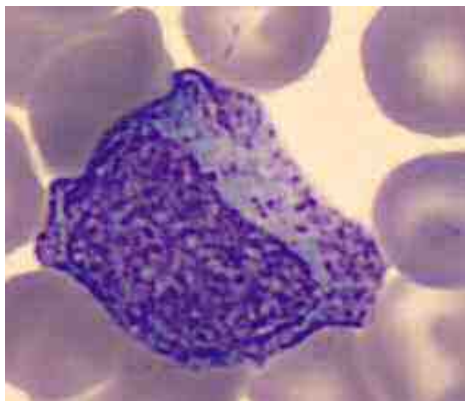
Pacient 3	Leu (x10 ⁹ /l)	Mono (%)	Seg (%)	Tyče (%)	Eo (%)	Bazo (%)	Meta (%)	Myelo (%)	Blasty (%)
1. den	17,8	12,8	39,3	2	2,5	0	0	0	0
4. den	13,6	25,4	41,1	1,1	1,1	0,5	0,5	0	0
13. den	10,9	17,7	28,4	2,1	1,6	0,5	0	0	0

Kazuistika 4

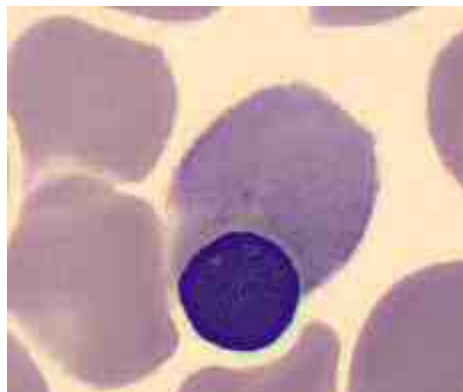
Pacient narozený v 40. týdnu gestačního věku s hmotností 3 380 g. Tento novorozenec je tedy zralý i donošený.

Při prvním odběru byly v jeho periferní krvi popsány polymorfní lymfocyty, hrubší granulace neutrofilů, vakuolizace plazmy a z trombocytární linie jádra megakaryocytů.

Některé z buněk nefyziologických pro periferní krev:

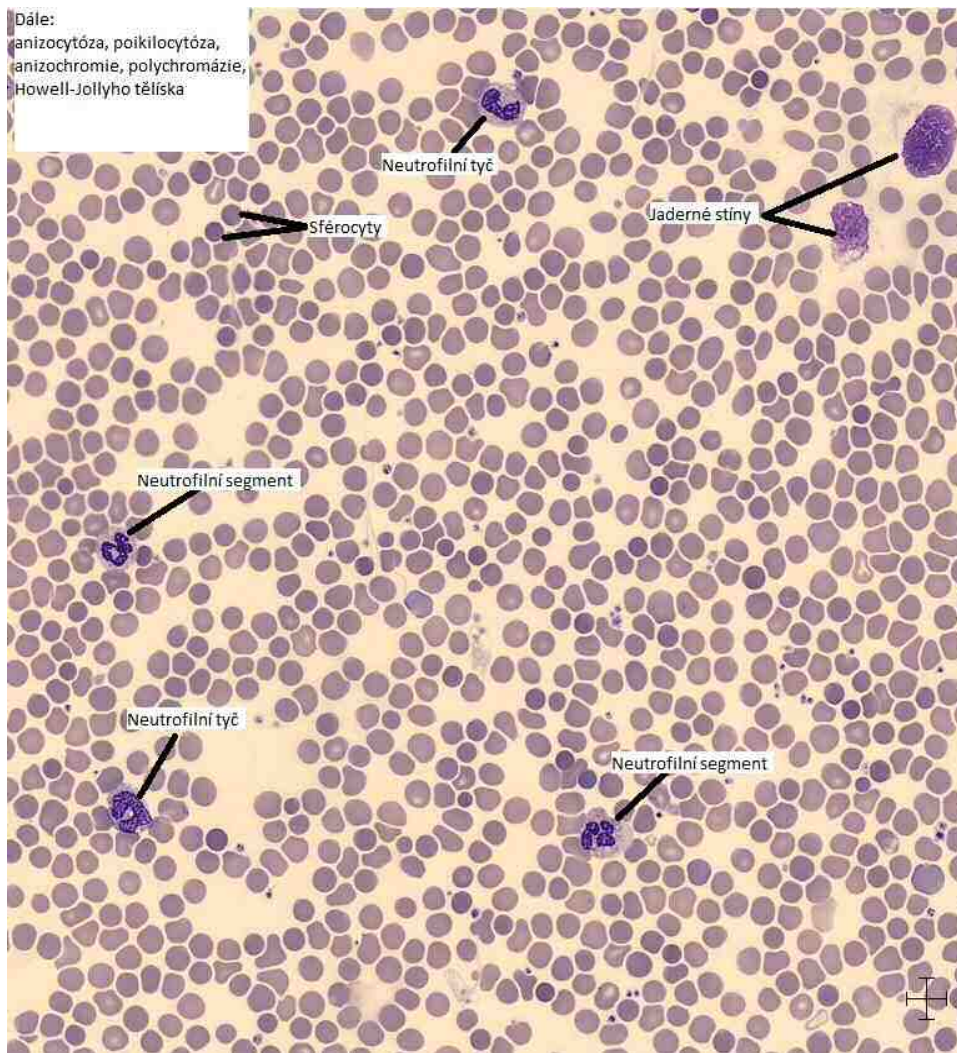


Obrázek 37- Myelocyt



Obrázek 38- Normoblast vylučující jádro

U červené krevní řady byl nález terčovitých erytrocytů, sférocytů, Howell-Jollyho tělísek a popsána anizocytóza, poikilocytóza, anizochromie a polychromázie.



Obrázek 39- Popsaný mikroskopický nález

Jak již bylo řečeno, pacient 4 je donošený jedinec. Můžeme říci, že tomu odpovídají i parametry krevního obrazu a diferenciálního rozpočtu uvedeny v tabulkách 9 a 10. Pacient má permanentně zvýšené RDW, jinak jsou hodnoty naprosto fyziologické. Při druhé návštěvě již poklesl nález metamyelocytů a myelocytů. Také je zřejmý rychlý pokles množství jaderných erytrocytů.

Tabulka 11- Parametry KO

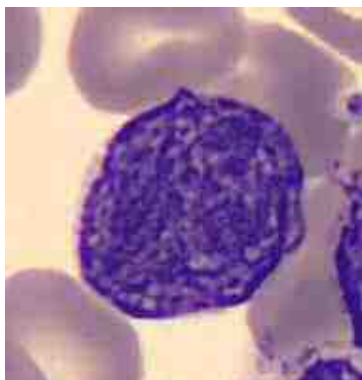
Pacient 4	RBC ($10^{12}/l$)	HGB (g/l)	HCT (l/l)	MCV (fl)	MCH (pg)	RDW (%)	NRBC (/100 WBC)
1. den	5,03	178	0,499	99,2	35,4	16	10
2. den	4,27	153	0,41	96	35,8	15,6	1

Tabulka 12- Počet leukocytů + Diferenciální rozpočet

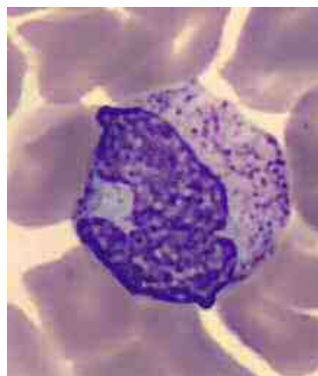
Pacient 4	Leu ($\times 10^9/l$)	Mono (%)	Seg (%)	Tyče (%)	Eo (%)	Bazo (%)	Meta (%)	Myelo (%)	Blasty (%)
1. den	23,6	4,8	52,9	14,3	2,1	0,5	3,2	1,6	0
2. den	16,3	8,4	55,7	1,6	3,1	0,5	0,5	0	0

Kazuistika 5

Pacient narozený v 26. týdnu gestačního věku s porodní hmotností 900 g. Pacient je tedy extrémně nedonošený a nezralý a spadá do kategorie ELBW. V leukocytární linii byl popsán výskyt megakaryocytárních jader, plazmatických reakcí lymfocytů, polymorfních monocytů, reaktivních forem monocytů, hrubší granulace u neutrofilů, hypersegmentace neutrofilů a vakuolizace plazmy neutrofilů.

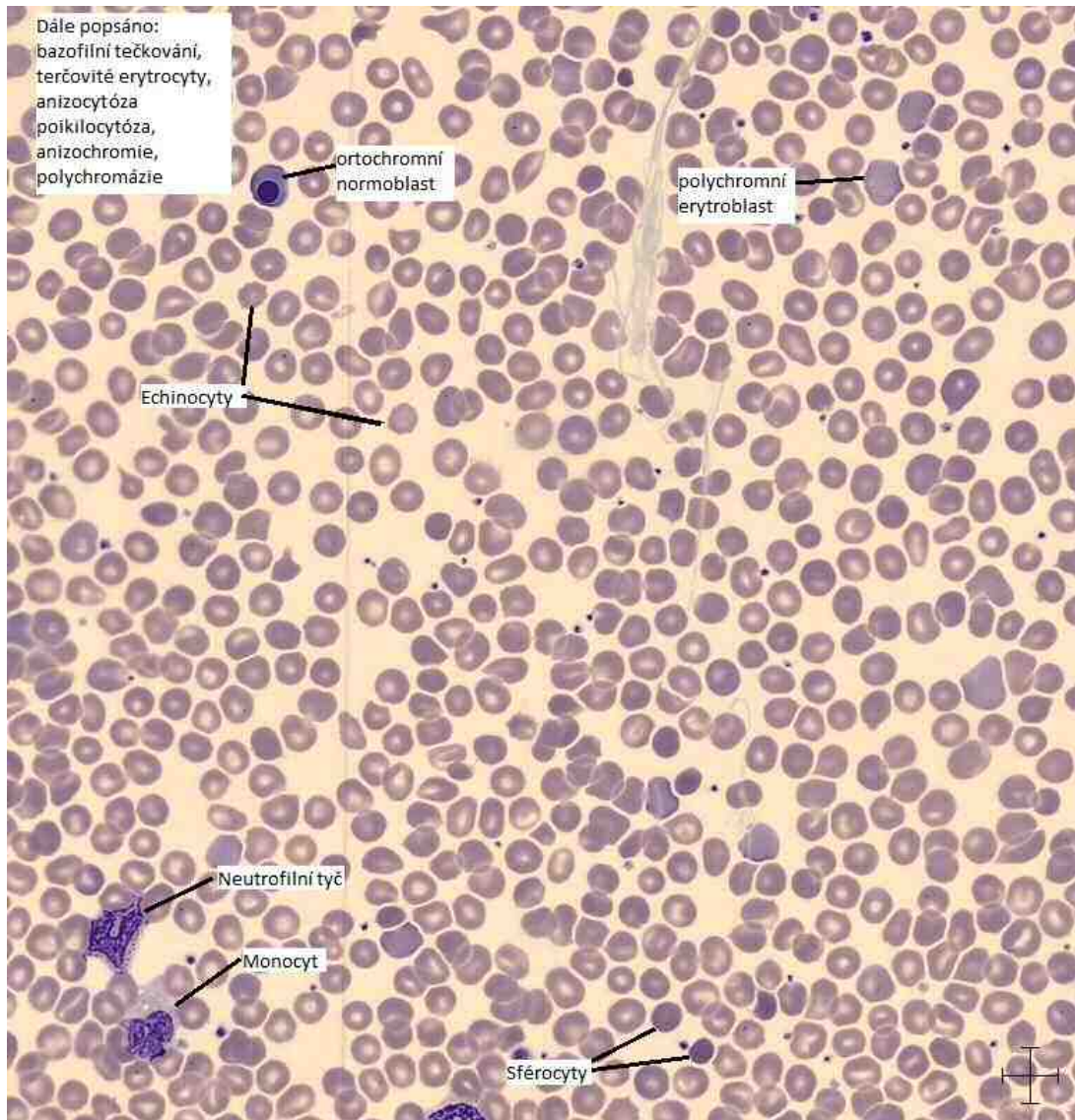


Obrázek 41- Megakaryocyt



Obrázek 40- Metamyelocyt

U erytroidní řady byl nález sférocytů, terčovitých erytrocytů, bazofilního tečkování, Howell-Jollyho tělísek a popsána anizocytóza, poikilocytóza, polychromázie a anizochromie. Mezi trombocyty byl výskyt makrotrombocytů.



Obrázek 42- Popsaný mikroskopický nález

Vývoj krevního obrazu a diferenciálního rozpočtu v tabulkách č. 23 a 24. Vidíme zvýšené hodnoty MCH a RDW, fyziologický pokles NRBC. Leukocytární rozpočet jen s občasným výskytem metamyelocytů a myelocytů.

Tabulka 13- Vývoj KO

Pacient 5	RBC (10 ¹² /l)	HGB (g/l)	HCT (l/l)	MCV (fl)	MCH (pg)	RDW (%)	NRBC (/100 WBC)
1. den.	4,33	172	0,476	109,9	39,7	16	42
2. den	4,41	173	0,498	112,9	39,2	16,7	76
12. den	3,99	150	0,408	102,3	37,6	17,6	2
26. den	2,83	101	0,278	98,2	35,7	18,6	4
27. den	4,83	160	0,441	91,3	33,1	18,8	4
32. den	3,56	115	0,326	91,6	32,3	18,5	1

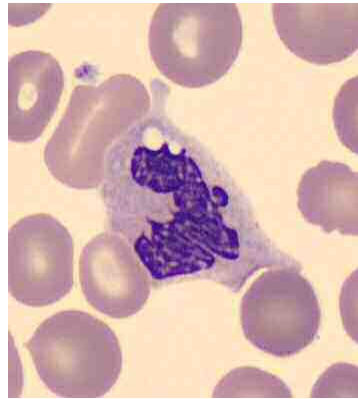
Tabulka 14- Počet leukocytů + Diferenciální rozpočet

Pacient 5	Leu (x10 ⁹ /l)	Mono (%)	Seg (%)	Tyče (%)	Eo (%)	Bazo (%)	Meta (%)	Myelo (%)	Blasty (%)
1. den	20,2	10,8	59,3	3,6	3,6	0	1,2	0	0
2. den	18,6	10,8	44,3	5,4	0,6	0,5	6,5	7,6	0
12. den	8,9	17,5	16,5	4	2,5	0	0	0	0
26. den	9,9	25	10,6	3,2	1,6	0,5	0	0	0
27. den	9,2	27,7	10,9	12	2,2	0	0,5	0	0
31. den	12	16,2	44,5	1,6	3,7	0,5	0,5	1,1	0

Kazuistika 6

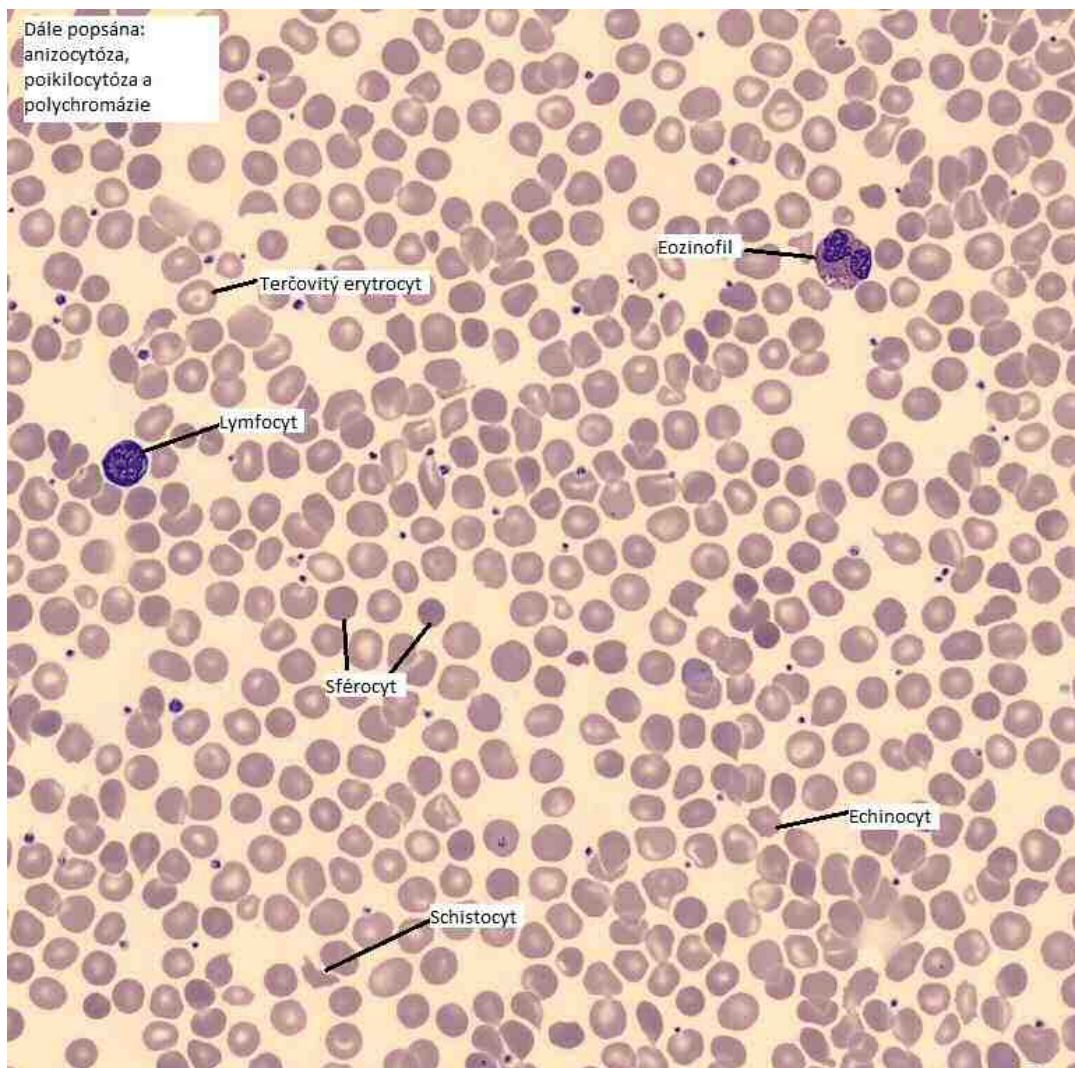
Pacient narozený v 31. týdnu gestačního věku s porodní hmotností 990 g. Nedonošený nezralý, dle týdne narození spadající do kategorie VLBW, dle hmotnosti do kategorie ELBW. V leukocytární linii byly popsány polymorfní lymfocyty a vakuolizace plazmy neutrofilů.

Buňka z krevního nátěru:



Obrázek 43 - Vakuolizovaný segmentovaný neutrofil

V eryteroidní linii byly převážně sférocyty a popsána anizocytóza, poikilocytóza a polychromázie. Měl snížený počet trombocytů, mezi kterými byly viděny shluky a popsána anizocytóza.



Obrázek 44- Popsaný mikroskopický nátěr

Dle krevního obrazu v tabulce 25 vidíme, po primárním nárůstu HGB a HCT standardní pokles. Pacient měl dále zvýšené MCH a RDW. Primární vysoký nález NRBC během sledování klesl na 0. Tabulka 26 obsahuje vývoj diferenciálního rozpočtu leukocytů. Pacient měl při pěti odběrech zvýšené množství monocytů a snížené množství segmentů.

Tabulka 15-Vývoje KO

Pacient 6	RBC (10¹²/l)	HGB (g/l)	HCT (l/l)	MCV (fl)	MCH (pg)	RDW (%)	NRBC (/100 WBC)
1. den	5,25	223	0,664	126,5	42,5	20,9	312
2. den	5,79	250	0,694	119,9	43,2	21,4	214
4. den	5,4	228	0,633	117,2	42,2	21,2	25
8. den	5,18	209	0,578	111,6	40,3	20,4	1
21. den	4,35	166	0,454	104,4	38,2	17,3	0

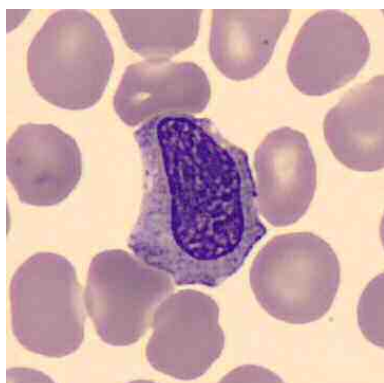
Tabulka 16- Počet leukocytů + Diferenciální rozpočet

Pacient 6	Leu (x10⁹/l)	Mono (%)	Seg (%)	Tyče (%)	Eo (%)	Bazo (%)	Meta (%)	Myelo (%)	Blasty (%)
1. den	7,2	11	17	5	2	0	0	0	0
2. den	8	11	32	4	3	0	0	0	0
4. den	7,2	23	19	3	7	1	0	0	0
8. den	11,4	30	17	2	6	1	0	0	0
21. den	11,9	14,6	31,2	0	7,5	0	0,5	0	0

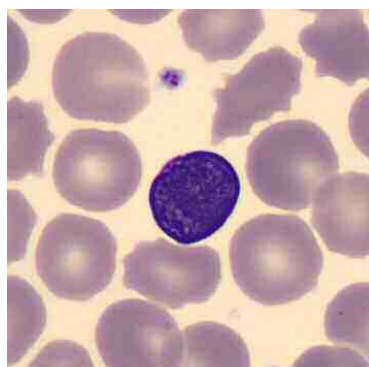
Kazuistika 7

Pacient narozený v 34. týdnu gestačního věku s porodní hmotností 2 150 g a patří tedy mezi lehce nezralé nedonošené nedonošence. V jeho leukocytárním nálezu byly popsány polymorfní a reakční lymfocyty, dále vakuolizované neutrofilie.

Některé z viděných buněk:

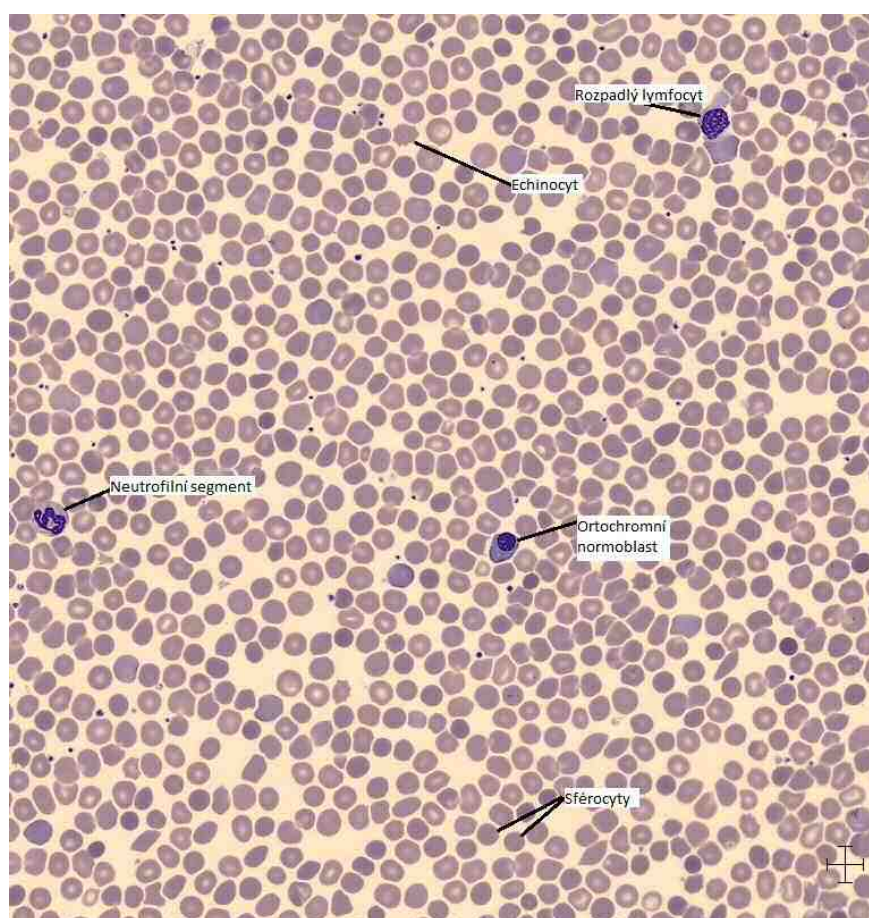


Obrázek 45- Metamyelocyt



Obrázek 46- Megakaryocyt

Erythrocyty zahrnovaly sférocyty, HJ tělíska, bazofilní tečkování a byla zjištěna poikilocytóza, polychromázie, anizocytóza a anizochromie. Dále se vyskytoval vysoký počet jader megakaryocytů.



Obrázek 47- Popsaný mikroskopický nález

Krevní obraz fyziologický, jen zvýšené RDW. V diferenciálním rozpočtu vidíme snížený počet segmentů a občasný výskyt metamyelocytů a myelocytů.

Tabulka 17- Vývoj KO

Pacient 7	RBC ($10^{12}/l$)	HGB (g/l)	HCT (l/l)	MCV (fl)	MCH (pg)	RDW (%)	NRBC (/100 WBC)
1. den	4,97	196	0,552	111,1	39,4	17	47
3. den	4,91	190	0,524	107,7	38,7	16	4
11. den	5,2	199	0,523	100,6	38,3	14,5	0

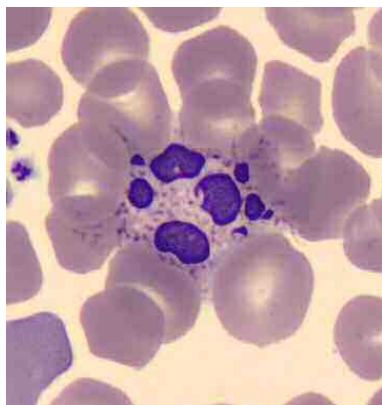
Tabulka 18- Počet leukocytů + Diferenciální rozpočet

Pacient 7	Leu ($\times 10^9/l$)	Mono (%)	Seg (%)	Tyče (%)	Eo (%)	Bazo (%)	Meta (%)	Myelo (%)	Blasty (%)
1. den	7,5	7	24,7	3,2	4,3	0	0	0,5	0
3. den	5,7	9,8	34	1	3,1	1,6	0	0	0
11. den	9,7	8,8	22,8	2,6	5,2	1	2,1	1	0

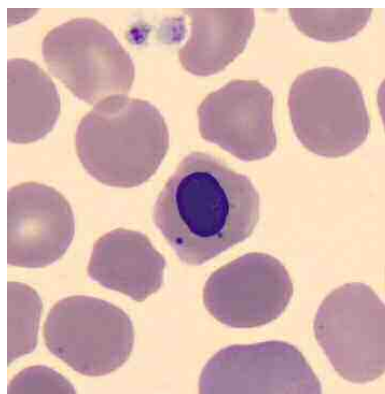
Kazuistika 8

Pacient narozený v 29. týdnu gestačního věku s porodní hmotností 1 040 g a patří do skupiny VLBW. V morfologii leukocytů byly popsány polymorfní a reaktivní monocyty, polymorfní a reakční lymfocyty. Hrubší granule, hypersegmentace a vakuolizace plazmy neutrofilů. Také se vyskytoval zvýšený počet nekrobióz.

Některé z pozorovaných buněk:

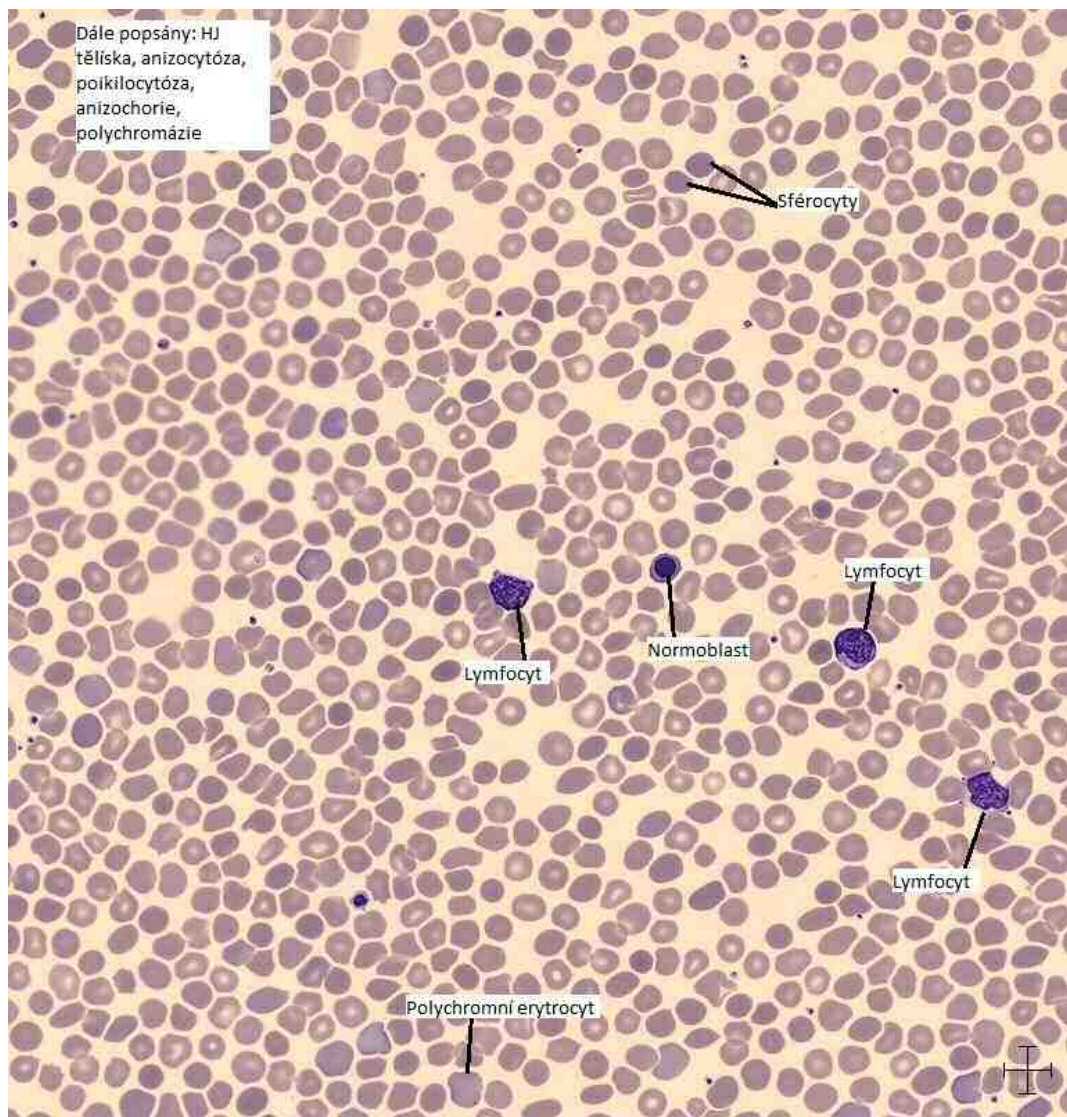


Obrázek 48- Nekrobióza



Obrázek 49- NRBC s HJ

Mezi erythrocyty byl nález terčovitých erythrocytů, sférocytů, HJ tělísek, a kromě toho popsána anizocytóza, poikilocytóza, anizochorie, polychromázie.



Obrázek 50- Popsaný mikroskopický nález

V krevním obrazu byla permanentně zvýšena hodnota RDW, jinak fyziologický nález. Úbytek NRBC z 80 na 1 během dvou týdnů. Diferenciální rozpočet fyziologický, občasné vyšší hodnoty monocytů.

Tabulka 19- Vývoj KO

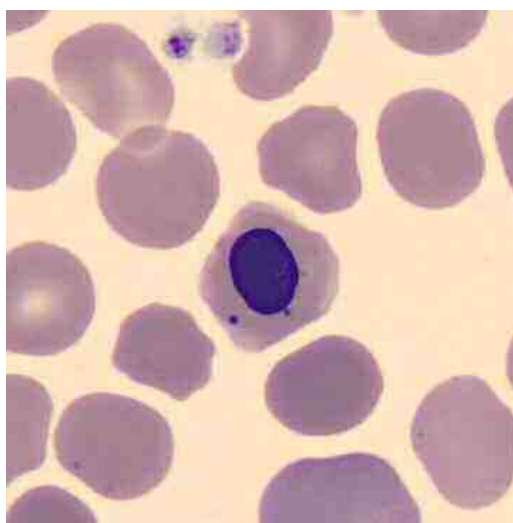
Pacient 8	RBC (10 ¹² /l)	HGB (g/l)	HCT (l/l)	MCV (fl)	MCH (pg)	RDW (%)	NRBC (/100 WBC)
1. den	4,52	179	0,52	115	39,6	18,4	80
4. den	4,75	184	0,54	113,7	38,7	17,7	8
14. den	3,75	136	0,401	106,9	36,3	17,1	1

Tabulka 20- Počet leukocytů + Diferenciální rozpočet

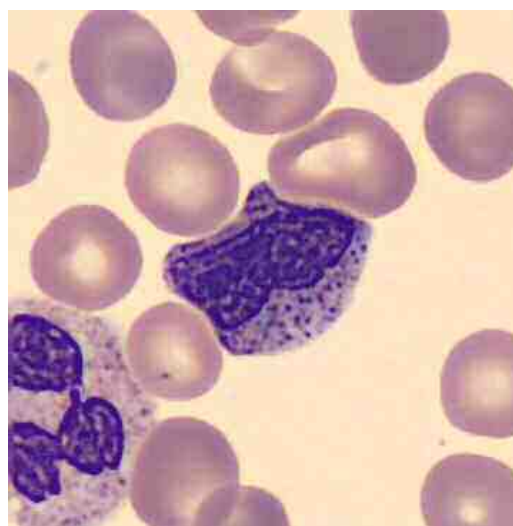
Pacient 8	Leu (x10 ⁹ / l)	Mono (%)	Seg (%)	Tyče (%)	Eo (%)	Bazo (%)	Meta (%)	Myelo (%)	Blasty (%)
1. den	8,5	14,9	35,9	0	0,6	0	0	0	0
4. den	8,2	12,3	39,9	0,5	8	0,5	0	0	0
14. den	11,5	16,8	31,5	2	2	1	0,5	0	0

Kazuistika 9

Pacient narozený v 28. týdnu gestačního věku s porodní hmotností 950 g. Dle věku tedy zařaditelný již mezi VLBW ale dle váhy stále do ELWB. Mezi leukocyty byly hypersegmentované neutrofilie a neutrofilie s vakuolizovanou cytoplazmou dále polymorfní lymfocyty.

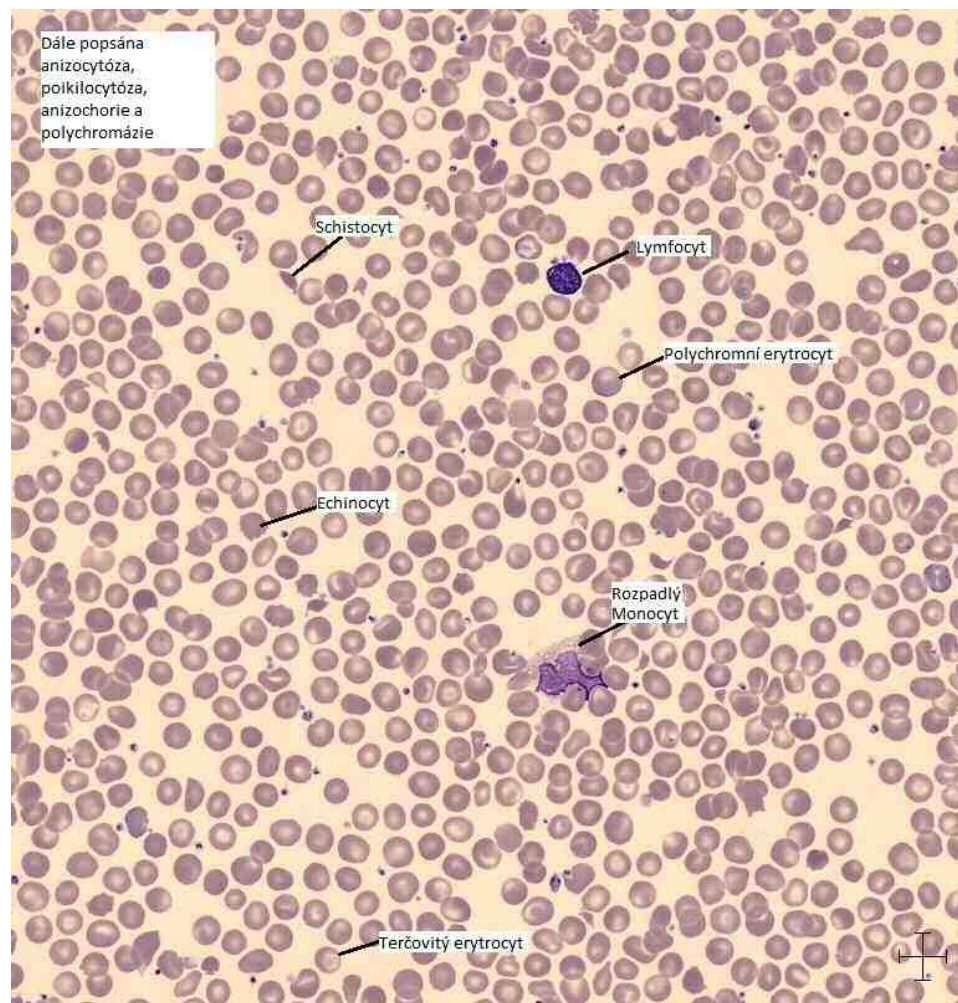


Obrázek 51- NRBC s HJ tělískem



Obrázek 52- Metamyelocyt

Mezi erythrocyty byly schistocyty, echinocyty, terčovitě a sférocyty. Dále byla popsána poikilocytóza, anizocytóza, anizochromie a polychromázie.



Obrázek 53- Popsaný mikroskopický nález

Nález v krevním obraze fyziologický se zvýšeným MCH a RDW. Zvýšený počet NRBC strmě klesá. V diferenciálním rozpočtu byl popsán snížený počet leukocytů, podmíněný nízkými hodnotami segmentů. Monocyty zvýšeny. Jinak fyziologický nález.

Tabulka 21- Vývoj KO

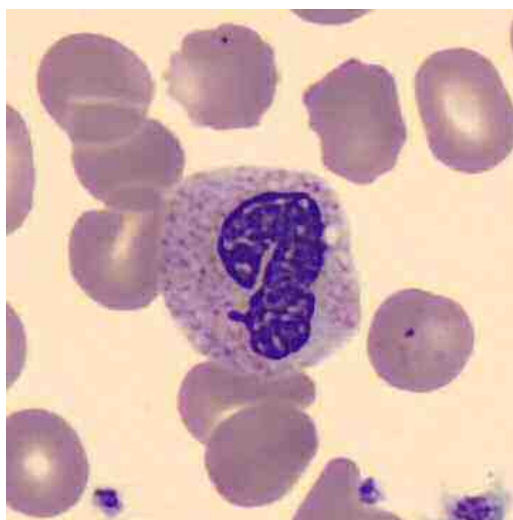
Pacient 9	RBC ($10^{12}/l$)	HGB (g/l)	HCT (l/l)	MCV (fl)	MCH (pg)	RDW (%)	NRBC (/100 WBC)
1. den	4,23	165	0,474	112,1	39	16,9	33
3. den	4,7	176	0,516	109,8	37,4	16,8	22
13. den	3,98	146	0,409	102,8	36,7	16,2	2

Tabulka 22- Počet leukocytů + Diferenciální rozpočet

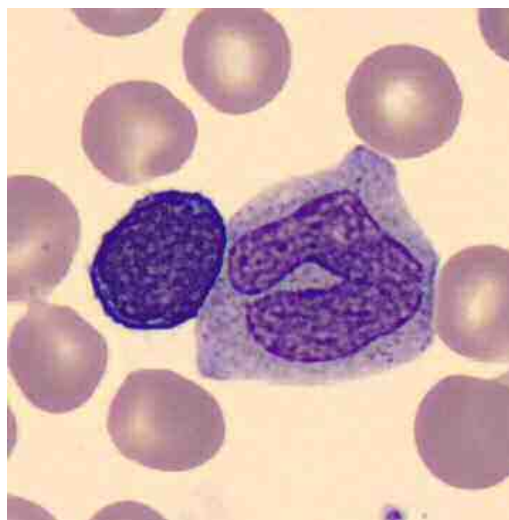
Pacient 9	Leu (x10 ⁹ /l)	Mono (%)	Seg (%)	Tyče (%)	Eo (%)	Bazo (%)	Meta (%)	Myelo (%)	Blasty (%)
1. den	4,23	12,5	24,1	0	2,1	1,6	0	0	0
3. den	8,3	16,3	31,6	0	1,1	0,5	0	0,5	0
13. den	3,98	15,8	27,2	0	4	1	1	0	0

Kazuistika 10

Pacient je dvojčetem pacienta č. 9. Je tedy také narozen v 28. týdnu, jeho porodní váha nebyla zjištěna. Dle věku zařaditelný do skupiny VLBW. V jeho krevním nátěru byly polymorfní lymfocyty, hypersegmentované neutrofilie a neutrofilie s vakuolizovanou cytoplazmou, polymorfní monocyty.

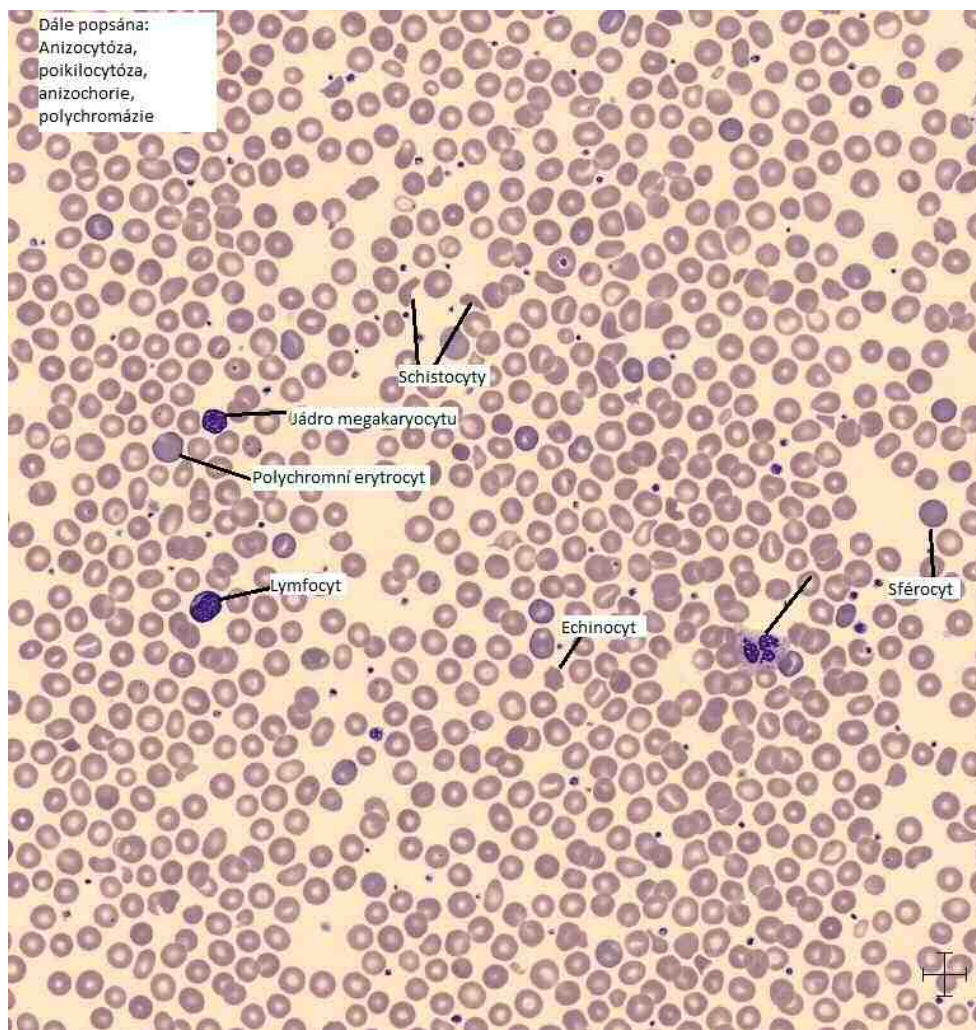


Obrázek 54- Neutrofilní tyč s hrubší granulací a vakuolizací



Obrázek 55- Lymfocyt & Monocyt

Mezi erythrocyty byly schistocyty, echinocyty, sférocyty a terčovitě erythrocyty. Dále byla popsána poikilocytóza, polychromázie, anizocytóza a anizochromie.



Obrázek 56- Popsaný mikroskopický nález

V krevním obraze pacienta byly stabilně zvýšené hodnoty MCH a RDW, jinak fyziologické hodnoty. V rozpočtu leukocytů jsou u pacienta pozorovatelné zvýšené hodnoty monocytů a eozinofilů, naopak má snížené neutrofilní segmenty.

Tabulka 23- Vývoj KO

Pacient 10	RBC (10 ¹² /l)	HGB (g/l)	HCT (l/l)	MCV (fl)	MCH (pg)	RDW (%)	NRBC (/100 WBC)
1. den	5,56	221	0,624	112,2	39,7	17,2	82
3. den	3,95	152	0,443	112,2	38,5	16,8	93
13. den	3,91	150	0,419	107,2	38,4	17,2	4

Tabulka 24- Počet leukocytů + Diferenciální rozpočet

Pacient 10	Leu (x10⁹/ l)	Mono (%)	Seg (%)	Tyče (%)	Eo (%)	Bazo (%)	Meta (%)	Myelo (%)	Blasty (%)
1. den	13,5	26	38	0	1	0	0	0	0
3. den	4,6	26	38	0	1	0	0	0	0
13. den	15,2	14,9	35,8	6	7,5	2	0,5	0	0

6 DISKUZE

V rámci této části zhodnotím celkový nález u deseti kazuistik a získané hodnoty porovnáám s poznatky získanými v literatuře a odborných člancích.

Kazuistiky sestávající z 10 novorozenců různých kategorií. Dle porodní hmotnosti: 5x ELBW novorozenec, 3x VLBW novorozenec, 1x lehce nezralý novorozenec a 1x zralý donošený novorozenec. Dle gestačního věku narození bylo rozdělení pacientů jiné a to následovně: 1x ELBW novorozenec, 7x VLBW novorozenec, 1x lehce nedonošeného novorozenec a 2x zralého donošeného novorozenec.

Všech deset kazuistik jsem mezi sebou porovнала a získala nejfrekventovanější morfologické změny. V erytroidní řadě byla u všech deseti kazuistik popsána anizocytóza, poikilocytóza, anizochorie a polychromázie. Z morfologických změn erytrocytů byly dvěma nejčastějšími sférocyty (u 8 pacientů) a terčovitě erytrocyty (u 8 pacientů). Nejčastější nález v leukocytární řadě byla u všech 10 pacientů vakuolizace cytoplazmy neutrofilů, u 8 pacientů polymorfní lymfocyty a u 6 hypersegmentace jádra neutrofilů.

Kromě morfologických změn jsem dle krevního obrazu a diferenciálního rozpočtu narazila i na další odchylky od fyziologických hodnot [18], které jsem si poznamenala a porovнала s výzkumy, které už byly na tato témata provedeny. Nejdříve tedy shrnu odchylky v krevním obraze a potom odchylky v diferenciálním rozpočtu leukocytů.

U kazuistik byl zaznamenán průběžný pokles HGB a HCT. Nejmarkantnější byl u prvních dvou kazuistik, kdy jsem měla možnost pacienty sledovat déle a hodnoty hemoglobinu klesly až pod 100 g /l. Tento nález odpovídá anemii z nezralosti a je tedy běžně popsáným jevem u nedonošených novorozenců [17]. Další odchylkou byl naopak vzrůst obou hodnot mezi prvním a druhým odběrem a to u 8 z 10 pacientů. Tento nárůst jsem nikde zmíněn nenašla. Dle toho, že jedna z kazuistik, která tuto tendenci nevykazovala, byl donošený novorozenec, je možné že by mohlo jít o fenomén vyskytující se u nedonošených novorozenců. Variabilitou HGB a HCT se zabírá studie vydaná v březnu 2019 [29]. Jde o studii ze Švýcarska, která shrnuje poznatky nasbírané za 9 let, proměřením vzorků 100 000 pacientů. Tato studie konkrétně shrnuje vývoj

těchto parametrů ve dvou časových úsecích. V závislosti na gestačním věku pacienta v době narození (22. -42. týden) a v závislosti na věku po narození (do 28. dne). U obou parametrů byl popsán nárůst v závislosti na gestačním věku, a naopak pokles s poporodním věkem. Také byl zmíněn nejvyšší úbytek RBC v první týdnu po narození. V rámci mých kazuistik jsem poporodní tendenci poklesu obou parametrů také zaznamenala, ale nelze dle nich určit nárůst parametrů se zvyšujícím se gestačním týdnem.

Dalším měřeným parametrem vykazujícím odchylky bylo MCH, které bylo u 7 z 10 pacientů prokazatelně zvýšené.

U všech kazuistik bylo patrné permanentní zvýšení RDW. Dle čtyřleté studie z roku 2011 prováděné v Turecku, je RDW nepřímo úměrné gestačnímu věku [30]. Docházelo k měření 1 594 dětí ve dvou skupinách a autoři zkonstatovali, že novorozenci mladší 34. gestačního týdne mají RDW průměrně $17,8 \pm 2,1$ a novorozenci narození od 35. gestačního týdne mají RDW $16,7 \pm 1,6$. Mé kazuistiky tomuto tvrzení neodpovídají.

Vysoké výskyty NRBC považují také za faktor nedonošenosti. Fyziologické hodnoty NRBC u donošených novorozenců jsou do 10 na 100 WBC, čemuž odpovídá kazuistika č. 4 (donošený novorozenec). U kazuistik je viditelná striktně klesající tendence, kdy se během několika dní všichni pacienti dostávají pod hranici 10.

Počet leukocytů byl fyziologický, občas se našel odběr se sníženým počtem oproti donošeným novorozencům, a to hlavně při prvním odběru (u 4 z 10). Významnější byla zvýšená hladina monocytů (u 9 z 10).

Co se týče celkového počtu neutrofilů, neutropenie se vyskytuje u 6 z 10 mých kazuistik a jde vždy o jednorázový nález, v 5 z 6 případů při odběru v den narození. Článek z roku 2015 [31], zaměřený na neutropenii novorozenců, hodnotí neutropenii jako běžný nález pro předběžně narozené, který není nutné více vyšetřovat, dojde-li 5-7 dní po porodu k samovolnému vymizení.

Další parametry krevního obrazu byly fyziologické.

U leukocytárního rozpočtu byly často zvýšené počty monocytů, a naopak snížené počty segmentů.

Počty eozinofilů jsem porovnávala se studií z Taiwanu [32] vydanou roku 2010, která popisovala nálezy u 104 VLBW dětí (tedy s PH menší než 1500 g). Do studie byly brány v potaz pouze novorozenci, kterým byla za dobu hospitalizace krev odebrána minimálně 4x a jako eozinofilii popisují nález od $0,7 \times 10^9$ eozinofilů v litru krve. Tato studie zachytila eozinofilii minimálně 1x u 69 % pacientů, a to nejčastěji v 3. týdnu. Z mých kazuistik prokazují dle těchto kritérií eozinofilii 4 z 10 pacientů, přičemž u 3 z nich byla diagnostikována 1x a u posledního 3x. U 2 ze 4 pacientů byla eozinofilie opravdu v 3. poporodním týdnu. Všechny kazuistiky s nálezem spadaly do porodní hmotnosti pod 1500 g.

V diferenciálním rozpočtu byl také potvrzen v teoretické části zmíněný leukocytární posun doleva. Výskyt metamyelocytů byl zachycen u 10 z 10 pacientů a myelocytů u 6 pacientů z 10. U jednoho pacienta byl zachycen blast.

K otázce validnosti zde sesbíraných kazuistik je nutné podotknout, že existují ještě další faktory, které údaje ovlivňují a zde nejsou brány v potaz. Ať už jde o pohlaví novorozence, hypertenzi matky při porodu či nadmořská výška v lokalitě, kde se zdravotnické zařízení nachází. K tomuto zamyšlení mě dovedla studie z března roku 2019 prováděná v Indii [33]. Autor se zde věnuje problematice využití standardních fyziologických rozmezí pro děti z asijských zemí. Konkrétně porovnávání počtu neutrofilů. Po 14. měsících z jeho studie vyplynulo, že neutrofilie donošených i nedonošených novorozenců jsou u indických novorozenců vždy zvýšeny.

7 ZÁVĚR

Bakalářská práce se týkala zpracování výsledků krve u nedonošených novorozenců a jejich změn.

Cílem práce bylo vyhodnotit jednotlivé kazuistiky zpracované uvedenou metodologií a výsledky jako celek porovnat s očekávanými nálezy. Tento cíl byl splněn. Tato bakalářská práce byla zaměřena spíše na komplexnost každého pacienta, aby obsáhla co nejvíce parametrů, ve kterých se mohou vyskytovat změny. Při další studii už by se dle zde načerpaných výsledků dalo zaměřit jen na odchylovající se parametry a vyšetření provádět na větší zkoumané skupině pacientů.

V rámci mých kazuistik se potvrdilo, že nedonošení novorozenci opravdu představují nepředvídatelnou skupinu pacientů. Pacienti již při dělení do skupin nesplňovali kritéria a 4 z 10 pacientů byli dle hmotnosti zařazeni do jiné skupiny než dle gestačního týdne v době narození.

Dle očekávání se v krvi novorozenců vyskytovaly nezralé formy jednotlivých elementů, a to konkrétně metamyelocytů, myelocytů a blastů. Tyto buňky, ale netvořily nijak zásadní zastoupení v nálezu u pacientů. Jaderné erytrocyty již v rámci dnů po porodu vykazovaly úbytek až k nulovým hodnotám. Primární nárůst hemoglobinu a hematokritu byl následován novorozeneckou anémií. V neposlední řadě a pro tuto práci především, byl z nátěrů potvrzen výskyt morfologicky změněných erytrocytů, leukocytů i trombocytů.

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

μm	mikrometr (jednotka délky)
ABR	acidobazická rovnováha
ALL	akutní lymfoblastická leukemie
AML	akutní myeloidní leukemie
BFU	burst forming unit (jednotka dávající vznik)
BFU-E	burst forming unit pro erytrocytární řadu
CD	diferenciační skupina (molekul na buňkách)
CFU	colony forming unit (jednotka tvořící kolonie)
CFU-E	colony forming unit pro erytrocytární řadu
CFU-L	colony forming unit pro lymfoidní řadu
CFU-GEMM	myeloidní progenitor
DIFF	diferenciální rozpočet
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ELBW	extremely low birth weight
EPO	erythropoetin
fl	femtolitr
g	gram

G-CSF	granulocyte colony stimulating factor
GM-CSF	granulocyte-macrophage colony stimulating factor
Hb	hemoglobin (podtypy: HbA1, HbA2)
HCT	hematokrit
HES	hypereosinofilní syndrom
HGB	hemoglobin
HON	hemolytické onemocnění novorozence
HSC	human stem cell (lidské kmenové buňky)
IG	nezralé granulocyty
IL	interleukin
JIP	jednotka intenzivní péče
KD	kostní dřeň
K₂EDTA	didraselná sůl kyseliny etylendiamintetraoctové
K₃EDTA	tridraselná sůl kyseliny etylendiamintetraoctové
l	litr (jednotka objemu)
MCD	střední průměr erytrocytu
MCH	průměrné množství hemoglobinu v erytrocytu
MCHC	průměrná koncentrace hemoglobinu v erytrocytu

MCT	střední tloušťka erytrocytu
MCV	střední objem erytrocytu
MDS	myelodysplastický syndrom
MGG	Pappenheimova metoda panoptického barvení
mm	milimetr (délková jednotka)
MPV	střední objem trombocytů
NK	přírození zabíječi
NRBC	jaderné erytrocyty
PCT	trombocytární hematokrit
PDW	distribuční šíře velikosti trombocytu
PROM	prasknutí porodních obalů
RDS	syndrom dechové tísně
RDW	distribuční šíře velikosti erytrocytů
RNA	ribonukleová kyselina
TPO	trombopoetin
VLBW	very low birth weight

9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

[1] LANGMEIER, Miloš, 2009. *Základy lékařské fyziologie*. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-2526-0.

[2] PENKA, Miroslav, Eva TESAŘOVÁ a kolektiv. *Hematologie a transfuzní lékařství I*. 1.vyd. Praha: Grada, 2011. 488 s. ISBN 978-80-247-3459-0.

[3] PECKA, Miroslav. *Laboratorní hematologie v přehledu*. Český Těšín: Finidr, 2002. ISBN 80-866-8201-3.

[4] BLANN, Andrew D. a Nessar AHMED. *Blood science: principles and pathology*. Chichester: Wiley-Blackwell, 2014. ISBN 978-1-118-35146-8.

[5] PECKA, Miroslav. *Laboratorní hematologie v přehledu*. Český Těšín: FINIDR, 2006. ISBN 80-866-8200-5.

[6] NAVRÁTIL, Leoš a kol. *Vnitřní lékařství pro nelékařské zdravotnické obory*. Praha:Grada, 2017. ISBN 978-80-271-0210-5.

[7] FABER, Edgar. *Základy hematologické diagnostiky*. Druhé přepracované vydání. Praha: Mladá fronta, 2015. Edice postgraduální medicíny. ISBN 978-80-204-3742-6.

[8] ČLENOVÉ LABORATORNÍ SEKCE ČHS ČSL JEP. Referenční meze krevního obrazu, retikulocytů, normoblastů a diferenciálního rozpočtu leukocytů dospělých. In: *Referenční meze hematologických vyšetření* [online]. 1.3.2015 [cit. 2019-02-23]. Dostupné z: http://www.hematology.cz/doporuceni/laboratorni_sekce/files/referencni_meze/Doporuceni_LS_CHS_CLS_JEP-Ref_meze_dospeli-KO_Diff_Ret_NRBC_v02.pdf

[9] YAWATA, Y., *Atlas of Blood Disease Morphology*, MC&P CO., LTD., Japan, 2008

[10] POPELOVÁ, Michaela. *Vliv snížené hladiny vitamínu B12 a kyseliny listové na morfolonii erytrocytů*. České Budějovice, 2013. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zdravotně sociální fakulta, Katedra laboratorních metod a informačních systémů. Vedoucí práce MUDr. Ivan Vonke.

[11] KLÍMA, Jiří. *Pediatric pro nelékařské zdravotnické obory*. Praha: Grada Publishing, 2016. Sestra (Grada). ISBN 978-80-247-5014-9.

[12] ROZTOČIL, Aleš. *Moderní porodnictví*. 2., přepracované a doplněné vydání. Praha: Grada Publishing, 2017. Sestra (Grada). ISBN 978-80-247-5753-7.

[13] BOREK, Ivo. *Vybrané kapitoly z neonatologie a ošetrovatelské péče*. Vyd. 2. dopl. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 2001. Sestra (Grada). ISBN 80-701-3338-4.

[14] KOBZOVÁ, Veronika. *Nedonošené děti*. Brno, 2007. Dostupné také z: https://is.muni.cz/th/135828/pedf_b/Rizikovy_novorozenec.pdf. Bakalářská práce. Masarykova Univerzita. Vedoucí práce MUDr.Petr Kachlák, Ph.D.

[15] MARTIN, Richard J. *Fanaroff and Martin's Neonatal-Perinatal Medicine*. 10th edition. Saunders, an imprint of Elsevier, 2015. ISBN 978-1-4557-5617-9.

[16] PARAMANANTHAM, P. a P. MAHARAJA. *A Study of Peripheral Blood Smear in Neonates*. [online]. 28.3.2018 [cit. 2019-03-03]. DOI:10.19080/MABB.2018.03.555618. Dostupné z: <https://juniperpublishers.com/mabb/pdf/MABB.MS.ID.555618.pdf>

[17] ŠEBKOVÁ, Sylva a Jan JANOTA. Anémie u novorozence. In: *Prezentace* [online]. novorozenecké oddělení s JIPN FTN Krč, 2009 [cit. 2019-03-03]. Dostupné z: http://www.neonatologie.cz/fileadmin/user_upload/Odborne_akce/Anemie_u_novorozence.pdf

[18] POSPÍŠILOVÁ, D. a J. BLATNÝ, Referenční meze krevního obrazu (KO), retikulocytů (RET), normoblastů (NRBC) a diferenciálního rozpočtu leukocytů (DIF) u dětí. In: *Česká hematologická společnost* [online]. 2018, s. 3 [cit. 2019-03-02]. Dostupné z: http://www.hematology.cz/doporuceni/laboratorni_sekce/referencni_meze.php

[19] ZMEŠKALOVÁ, Dagmar. *Odlišnosti morfologie lymfocytů u dětí a dospělých*. České Budějovice, 2015. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zdravotně sociální fakulta, Katedra laboratorních metod a informačních systémů. Vedoucí práce MUDr. Petra Kačírková.

[20] Pokyny k odběru vzorků. *Bulovka.cz* [online]. 2018 [cit. 2019-04-06]. Dostupné z: <http://bulovka.cz/wpcontent/oddeleni/laboratore/laboratorniprirucka/HVEZDAKABR.htm>

[21] FENDRYCHOVÁ, Jaroslava a Marie FERDUSOVÁ, 2013. Odběr kapilární krve na novorozenecký screening. *Pediatric pro praxi* [online]. **14(1)** [cit. 2019-03-30]. Dostupné z: <https://www.pediatricpropraxi.cz/pdfs/ped/2013/01/17.pdf>

[22] CordBloodCenter. *Odběr pupečnickové krve už i z placenty* [video]. In: Youtube [online]. Publikováno 9. 5. 2012 [vid. 2019-04-06]. Dostupné z: <https://www.youtube.com/watch?v=HAf12JuRh1w>

[23] BOURKOVÁ, L. Nátěr krve na skle. In: *Studijní materiály LF:BLKH0311c* [online]. podzim 2017 [cit. 2019-04-09]. Dostupné z: https://is.muni.cz/el/1411/podzim2017/BLKH0311c/17-18_Bc_5_dif-nater_krve.pdf

[24] MIKULENKOVÁ, MATÝŠKOVÁ a BOURKOVÁ, 2013. Doporučení k jednotlivým činnostem hematologické laboratoře: Příprava a barvení nátěru periferní krve a aspirátu kostní dřeně, včetně kontrolní činnosti. In: *Česká hematologická společnost ČLS JEP* [online]. [cit. 2019-04-09]. Dostupné z: http://www.hematology.cz/doporuzeni/laboratorni_sekce/k_cinnostem.php

[25] SYSMEX.CZ, *Technologie: Technologie měření měření* [online], Brno [cit. 2019-04-09]. Dostupné z: <https://www.sysmex.cz/vzdelavani/technologie/technologie-mereni.html>

[26] OPLETALOVÁ, Monika, 2014. *Porovnání výsledků vyšetření krevního obrazu a diferenciálu leukocytů mezi jednotlivými analyzátory řady Sysmex*. Praha. Dostupné také z: <https://is.cuni.cz/webapps/zzp/download/130126996>. Bakalářská práce. Univerzita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta. Vedoucí práce RNDr. Hana Blažková.

[27] VÁŠOVÁ, Veronika, Automatický hematologický systém: sysmex XE - 5000 TM. In: *Vfn.cz* [online]. Centrální hematologické laboratoře ÚLBLD [cit. 2019-04-12]. Dostupné z: <http://www.vfn.cz/priloha/4d2dba7083f68/automatizovany-hematologicky-system-xe-5000-oppk-vfn.pdf>

[28] SYSMEX.CZ, *Diagnostika: Hematologie* [online], Brno [cit. 2019-04-13]. Dostupné z: <https://www.sysmex.cz/produkty/diagnostika/hematologie.html>

[29] SCHOLKMANN, Felix, Daniel OSTOJIC, Helene ISLER, Dirk BASSLER, Martin WOLF a Tanja KAREN, 2019. Reference Ranges for Hemoglobin and Hematocrit Levels in Neonates as a Function of Gestational Age (22–42 Weeks) and Postnatal Age (0–29 Days): Mathematical Modeling. *Children*. **6**(3). DOI: 10.3390/children6030038. ISSN 2227-9067. Dostupné také z: <https://www.mdpi.com/2227-9067/6/3/38>

[30] TONBUL, Alparslan, Cuneyt TAYMAN, Ferhat CATAL, Semra KARA a Mustafa Mansur TATLI, 2011. Red Cell Distribution Width (RDW) in the Newborn: Normative Data. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. Turecko, (25), 422-425.]

[31] MAHESHWARI, Akhil. Neutropenie v novorozeneckém věku. *Current opinion in hematology*. 2015, **3**(2), 43-48. ISSN 1803-683X.

[32] YEN, Jui-Mei, Chyi-Her LIN, Mei-Mei YANG, Shih-Ting HOU, Ai-Hsi LIN a Yuh-Jyh LIN, 2010. *Eosinophilia in Very Low Birth Weight Infants*. **51**(2), 116-123. DOI: 10.1016/S1875-9572(10)60021-6. ISSN 18759572. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1875957210600216>

[33] DAS, Arijita, Somosri RAY, Arnab CHATTOPADHYAY, Avijit HAZRA a Rakesh MONDAL, 2019. Gestation-wise Reference Ranges of Neutrophil Counts in Indian Newborns. *Oman Medical Journal*. **34**(2), 131-136. DOI: 10.5001/omj.2019.25. ISSN 1999768X.

10 SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ

Obrázek 1 - Prenatální Hemopoéza ^[3]	15
Obrázek 2 – Megakaryoblast ^[2]	17
Obrázek 3 – Promegakaryocyt ^[2]	17
Obrázek 4 – Megakaryocyt ^[2]	18
Obrázek 5 - Shluk trombocytů	18
Obrázek 6 – Proerytroblast ^[9]	19
Obrázek 7 - Bazofilní erytroblast ^[9]	20
Obrázek 8 - Polychromatofilní erytroblast	20
Obrázek 9 - Ortochromní erytroblast ^[9]	20
Obrázek 10 - Uvolnění jádra normoblastu ^[9]	21
Obrázek 11- Erytrocyt ^[9]	21
Obrázek 12 – Monoblast	22
Obrázek 13 – Promonocyt	22
Obrázek 14 – Monocyt	23
Obrázek 15 – Myeloblast	24
Obrázek 16 – Promyelocyt	24
Obrázek 17 – Myelocyt ^[3]	24
Obrázek 18 – Metamyelocyt ^[3]	25
Obrázek 19 – Nesegmentovaný granulocyt-Tyč ^[3]	25
Obrázek 20 - Segmenty neutrofilní, eozinofilní, bazofilní (zleva) ^[3]	25
Obrázek 21 - Lymfoblast	26
Obrázek 22- Prolymfocyt	27
Obrázek 23 - Malý lymfocyt ^[9]	27
Obrázek 24- Velký lymfocyt	28
Obrázek 25 - Megakaryocyt	47
Obrázek 26 - Metamyelocyt	47
Obrázek 28- Myelocyt	47
Obrázek 27- Normoblast	47
Obrázek 29 - Mikroskopický nález	48
Obrázek 32- Normoblast	50
Obrázek 30- Metamyelocyt	50
	80

Obrázek 31 - Blast.....	50
Obrázek 33- Popsaný mikroskopický nález.....	50
Obrázek 35- NRBC s bazofilním tečkováním	52
Obrázek 34- Hypersegmentovaný neutrofil	52
Obrázek 36-Popsaný mikroskopický nález.....	53
Obrázek 38- Myelocyt.....	54
Obrázek 39- Normoblast vylučující jádro	54
Obrázek 40- Popsaný mikroskopický nález.....	55
Obrázek 42-Metamyelocyt.....	56
Obrázek 41- Megakaryocyt.....	56
Obrázek 43- Popsaný mikroskopický nález.....	57
Obrázek 44 - Vakuolizovaný segmentovaný neutrofil	59
Obrázek 45- Popsaný mikroskopický nátěr	59
Obrázek 46- Metamyelocyt.....	61
Obrázek 47- Megakaryocyt.....	61
Obrázek 48- Popsaný mikroskopický nález.....	61
Obrázek 49- Nekrobióza	62
Obrázek 50- NRBC s HJ tělískem	62
Obrázek 51- Popsaný mikroskopický nález.....	63
Obrázek 52- NRBC s HJ tělískem	64
Obrázek 53- Metamyelocyt.....	64
Obrázek 54- Popsaný mikroskopický nález.....	65
Obrázek 55- Neutrofilní tyč s hrubší granulací a vakuolizací.....	66
Obrázek 56- Lymfocyt & Monocyt.....	66
Obrázek 57- Popsaný mikroskopický nález.....	67

11 SEZNAMU POUŽITÝCH TABULEK

Tabulka 1- Parametry KO ^[8]	14
Tabulka 2 - Diferenciální rozpočet leukocytů (mikroskop) ^[8]	14
Tabulka 3- Počet leukocytů (WBC) + diferenciální rozpočet leukocytů ^[18]	36
Tabulka 4- Parametry erytrocytární řady, počet destiček a retikulocytů ^[18]	36
Tabulka 5- vývoj KO	49
Tabulka 6 - Počet leukocytů + Diferenciální rozpočet	49
Tabulka 7- Parametry KO	51
Tabulka 8- Počet leukocytů + Diferenciální rozpočet	51
Tabulka 9- Vývoj KO	53
Tabulka 10- Vývoj leukocytů + diferenciální rozpočet	54
Tabulka 11- Parametry KO	55
Tabulka 12- Počet leukocytů + Diferenciální rozpočet	56
Tabulka 13- Vývoj KO	58
Tabulka 14- Počet leukocytů + Diferenciální rozpočet	58
Tabulka 15- Vývoje KO	60
Tabulka 16- Počet leukocytů + Diferenciální rozpočet	60
Tabulka 17- Vývoj KO	62
Tabulka 18- Počet leukocytů + Diferenciální rozpočet	62
Tabulka 19- Vývoj KO	64
Tabulka 20- Počet leukocytů + Diferenciální rozpočet	64
Tabulka 21- Vývoj KO	65
Tabulka 22- Počet leukocytů + Diferenciální rozpočet	66
Tabulka 23- Vývoj KO	67
Tabulka 24- Počet leukocytů + Diferenciální rozpočet	68

