

# Laboratorijska dijagnostika i liječenje anemija

---

Pecirep, Loona

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Applied Health Sciences / Zdravstveno veleučilište**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:139:292662>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-20**



Repository / Repozitorij:

[Sveznalica](#)



ZDRAVSTVENO VELEUČILIŠTE  
STRUČNI PRIJEDIPLOMSKI STUDIJ MEDICINSKO LABORATORIJSKA  
DIJAGNOSTIKA



LOONA PECIREP

LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA I LIJEČENJE ANEMIJA

ZAVRŠNI RAD

ZAGREB, 2024. GODINA

ZDRAVSTVENO VELEUČILIŠTE  
STRUČNI PRIJEDIPLOMSKI STUDIJ MEDICINSKO LABORATORIJSKA  
DIJAGNOSTIKA

LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA I LIJEČENJE ANEMIJA

ZAVRŠNI RAD

LOONA PECIREP

Marijo Vodanović, dr. med.

ZAGREB, 2024. GODINA

# Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	1
1.1. Kinetički pristup.....	1
1.2. Morfološki pristup.....	1
<b>2. HIPOPROLIFERACIJSKE ANEMIJE</b> .....	2
2.1. Aplastična anemija .....	2
2.1.1. Kongenitalna (Fanconijeva) anemija .....	3
2.1.2. Stečena aplastična anemija.....	4
2.2. Anemija kronične bolesti.....	5
2.2.1. Etiologija i patogeneza .....	6
2.2.2. Klinička slika.....	6
2.2.3. Dijagnoza i liječenje .....	7
<b>3. ANEMIJE ZBOG POREMEĆAJA U SAZRIJEVANJU</b> .....	7
3.1. Sideropenična anemija.....	7
3.1.1. Etiologija i patogeneza .....	8
3.1.2. Klinička slika.....	8
3.1.3. Dijagnostika i liječenje .....	8
3.2. Megaloblastična anemija.....	11
3.2.1. Etiologija i patogeneza .....	11
3.2.2. Klinička slika.....	12
3.2.3. Dijagnoza i liječenje.....	13
<b>4. HEMOLITIČKE ANEMIJE</b> .....	15
4.1. Nasljedne hemolitičke anemije .....	16
4.1.1. Anemije zbog poremećaja membrane eritrocita .....	16
4.1.1.1. Hereditarna sferocitoza.....	16
4.1.1.2. Hereditarna eliptocitoza.....	17
4.1.1.3. Hereditarna stomatocitoza .....	18
4.1.1.4. Akantocitoza i ehinocitoza.....	19
4.1.2. Anemije zbog poremećaja metabolizma eritrocita .....	20
4.1.2.1. Deficit enzima G6PD.....	20
4.1.2.2. Deficit enzima PK .....	21
4.1.3. Hemoglobinopatije.....	21
4.1.3.1. Alfa-talasemije.....	22
4.1.3.2. Beta-talasemije .....	22
4.1.3.3. Talasemija intermedija.....	24
4.1.3.4. Heterozigotna talasemija minor.....	24

4.1.3.5.	Ostali oblici talasemija .....	24
4.1.4.	Anemija srpolikih stanica.....	25
4.1.5.	Hemoglobinopatije C, D i M.....	26
4.2.	Stečene hemolitičke anemije.....	26
4.2.1.	Imunosne hemolitičke anemije .....	26
4.2.1.1.	Autoimunosne hemolitičke anemije .....	26
4.2.2.	Neimunosne hemolitičke anemije.....	30
5.	ZAKLJUČAK.....	32
6.	POPIS LITERATURE.....	33

## Sažetak

Prema definiciji Svjetske zdravstvene organizacije (SZO), anemija se definira kao stanje organizma u kojemu je broj eritrocita i/ili koncentracija hemoglobina znatno smanjena. Kao posljedica smanjenog broja eritrocita i/ili smanjenje koncentracije hemoglobina, ne prenosi se dovoljna količina kisika kroz cijeli organizam, tj. tijelo ne zadovoljava optimalnu potrebu za kisikom. Anemija ima različite referentne vrijednosti po dobi i spolu, pa tako se definira referentni interval za muškarce između 130 i 180 g/L, dok za žene vrijedi interval između 120 i 160 g/L. Dakle, svi nalazi hemoglobina koji su manji od navedenih intervala, smatra se anemijom.

Iako mnogi ljudi smatraju anemiju kao bolest samu za sebe, anemija je zapravo najčešće pokazatelj neke druge bolesti ili nuspojava njezina liječenja, a rjeđe je primarno hematološka bolest čiji se poremećaj nalazi u eritrocitima ili koštanoj srži. Na primjer, sideropenična anemija je oblik anemije koja je uzrokovana manjkom željeza u organizmu te je i najčešći oblik anemije, zatim nedostatak vitamina B12 i/ili folne kiseline uzrokuje megaloblastičnu anemiju te mnogi oboljeli od kroničnih infekcija, pojedinih zloćudnih bolesti i kroničnih upalnih neinfektivnih bolesti mogu razviti blagu do umjerenu anemiju koja se naziva anemija kronične bolesti.

Laboratorijska dijagnostika anemija započinje pretragom kompletne krvne slike u kojoj se ispituju parametri poput broja eritrocita, hematokrita i koncentracije hemoglobina. Zatim se pomoću eritrocitnih indeksa procjenjuju mogući poremećaji koji utječu na eritrocite na način da mijenjaju njihov oblik i veličinu, a to su: hematokrit (Htc), prosječni volumen eritrocita (MCV), prosječni stanični hemoglobin (MCH) i prosječna stanična koncentracija hemoglobina (MCHC). Osim što se određuju navedeni parametri, vrlo je bitno napraviti analizu citološkog razmaza periferne krvi koja može ukazati na morfološke promjene eritrocita koje su karakteristične za pojedine oblike anemija, odrediti broj leukocita i broj trombocita, a u slučaju nejasnog uzroka anemija i punkciju te analizu koštane srži.

U ovom radu su pregledno prikazane vrste anemija, njihove karakteristike te način dijagnosticiranja i liječenja u skladu s pojedinom anemijom te je obrađena povezanost dijagnostika anemija i mehanizama nastajanja anemija.

**Ključne riječi:** anemija, eritrociti, hemoglobin

## Summary

According to the definition of the World Health Organization (WHO), anemia is defined as a state of the organism in which the number of erythrocytes and/or the concentration of hemoglobin is significantly reduced. As a result of a reduced number of erythrocytes and/or a decrease in hemoglobin concentration, a sufficient amount of oxygen is not transferred throughout the body, i.e. the body does not meet the optimal need for oxygen. Anemia has different reference values by age and gender, so the reference interval for men is defined between 130 and 180 g/L, while for women the interval is valid between 120 and 160 g/L. Therefore, all hemoglobin results that are lower than the specified intervals are considered anemia.

Although many people consider anemia as a disease itself, anemia is actually most often an indicator of another disease or a side effect of its treatment, and less often it is primarily a hematological disease whose disorder is found in erythrocytes or bone marrow. For example, sideropenic anemia is a form of anemia that is caused by a lack of iron in the body and is the most common form of anemia, then a lack of vitamin B12 and/or folic acid causes megaloblastic anemia, and many patients with chronic infections, certain malignant diseases and chronic inflammatory non-infectious diseases can develop mild to moderate anemia called anemia of chronic disease.

Laboratory diagnosis of anemia begins with a complete blood count, which examines parameters such as the number of erythrocytes, hematocrit and hemoglobin concentration. Then, erythrocyte indices are used to assess possible disorders that affect erythrocytes in a way that changes their shape and size, such as: hematocrit (Htc), average erythrocyte volume (MCV), average cellular hemoglobin (MCH) or concentration (MCHC). In addition to determining the mentioned parameters, it is very important to perform a complete blood count analysis, i.e. to perform a cytological smear of peripheral blood that can indicate morphological changes of erythrocytes that are characteristic of certain forms of anemia, determine the number of leukocytes and the number of platelets.

This paper presents an overview of the types of anemia, their characteristics and the method of diagnosis and treatment in accordance with each anemia, as well as the relationship between anemia diagnosis and the mechanisms of anemia. **Key words:** anemia, erythrocytes, hemoglobin.

## 1. UVOD

Anemija dolazi od grčkih riječi haime što znači krv i od prefiksa an- što označuje negaciju. Stoga, možemo zaključiti da ta riječ označuje pojam beskrvnost, no to nije u potpunosti točno. Točnije je koristiti izraze „malokrvnost“ ili „slabokrvnost“. Mnogi pojmovi su se predlagali, poput termina oligocitemija, što znači smanjeni broj eritrocita, ili oligokromemija, što znači smanjena količina hemoglobina, pa čak i termin oligemija, što znači smanjena količina krvi. Međutim, niti jedan pojam se nije zadržao osim riječi anemija, koju je uveo francuski liječnik Gabriel Andral 1843. godine koji se zadržao sve do danas. (1) Anemiju možemo definirati kao stanje smanjenog broja eritrocita u perifernoj krvi.

Postoji dva načina klasifikacije anemije, tj. pristupa dijagnostici anemija, a to su: a) kinetički ili patofiziološki pristup te b) morfološki pristup. Kinetički pristup kao cilj ima za utvrditi mehanizam koji je doveo do anemije, a morfološki pristup dijeli anemije na temelju veličine eritrocita.

### 1.1. Kinetički pristup

Ovaj pristup se dijeli na 3 neovisna mehanizama, a to su: smanjeno stvaranje eritrocita, pojačana razgradnja eritrocita te gubitak eritrocita. Smanjeno stvaranje eritrocita podrazumijeva da koštana srž nije u mogućnosti stvoriti potrebnu količinu eritrocita. U tom slučaju nastupa anemija. Eritrociti žive u prosjeku 120 dana te svi kojima je životni vijek manji od 100 dana upućuju na ubrzano propadanje tj. na hemolizu. U trenutku kada koštana srž više nije u mogućnosti nadomjestiti 5% mase eritrocita dnevno, razvit će se anemija. Koštana srž kompenzira hemolizu na način da stvara pet puta više eritrocita nego u bazalnim uvjetima te se ovaj oblik anemije naziva hemolitička anemija. (1) Gubitak krvi, tj. eritrocita najčešći je uzrok anemije. Krvarenje može biti klinički jasno krvarenje zbog traume ili može biti okultno zbog raka ili polipa crijeva.

### 1.2. Morfološki pristup



Morfološki pristup dijeli anemije prema prosječnom volumenu eritrocita (MCV) u femtolitri (fL). Tako ih dijelimo na tri skupine: makrocitne, normocitne i mikrocitne. (Tablica 1.). Automatski brojači stanica precizno određuju veličinu stanica.

Tablica 1. Podjela anemija prema veličini eritrocita

Mikrocitna anemija MCV < 80 fL	Normocitna anemija MCV 80 – 100 fL	Makrocitna anemija MCV > 100 fL
Sideropenična anemija	Akutni gubitak krvi	Intoksikacija etanolom
Talasemija	Sideropenična anemija	Deficit folne kiseline
Anemija kronične bolesti	Anemija kronične bolesti	Deficit vitamina B <sub>12</sub>
Sideroblastična anemija	Mijeloftizična anemija	Sindrom mijelodisplazije akutne mijeloične leukemije
Deficit bakra	Aplastična anemija	Povećani broj retikulocita
Otrovanje cinkom	Kronično zatajenje bubrega	Lijekovima uzrokovana anemija
	Endokrinološki poremećaji	Jetrene bolesti

(preuzeto iz: Labar B, Hauptmann E, ur. Hematologija, 5. izdanje. Zagreb: Školska knjiga, 2017.) (1)

## 2. HIPOPROLIFERACIJSKE ANEMIJE

Hipoproliferacijska anemija nastaje jer eritrocitna loza ne može stvoriti dovoljno eritrocita, tj. ne može kompenzirati nastalu anemiju. Stoga se funkcija eritrocitne loze smanjuje, što se očituje po retikulocitopeniji. Klinička slika hipoproliferacijskih anemija može varirati, s obzirom na oblike eritrocita koje su karakteristične za pojedine anemije te uz koje bolesti su prisutne. Tako razlikujemo normocitnu anemiju bez leukopenije ili trombocitopenije karakterističnu za anemije kroničnih infekcija te normocitnu anemiju s retikulocitopenijom ili pancitopenijom u aplastičnim anemijama.

### 2.1. Aplastična anemija

Aplastična anemija karakterizirana je pancitopenijom i hipocelularnom koštanom srži, što je bolest matičnih krvotvornih stanica za mijeloidne loze. Posljedica je poremećeno stvaranje i razlikovanje krvotvornih stanica. Posljedično nedostaju nezrele stanice svih mijeloidnih loza. Podijeljene su na nasljedne i stečene anemije. Nasljedne anemije su: kongenitalna Fanconijeva anemija, kongenitalna diskeratoza i Shwachman-Diamondov sindrom. Stečene anemije mogu biti idiopatske, uzrokovane citostaticima, lijekovima, virusnim infekcijama te imunskim poremećajima.

### 2.1.1. Kongenitalna (Fanconijeva) anemija

Nasljeđuje se autosomno recesivno. Poznato je da je izražena osjetljivost kromosoma, tj. povećan je broj slučajnih kromosomskih lomova. Dodatkom mitomicina se korigira osjetljivost kromosoma na lomove. Smatra se da otprilike 15 komplementarnih skupina gena sudjeluje u patogenezi te su nazvani od FA-A do FA-P. Ž Otprilike 65% bolesnika ima gen koji kodira FA-A. Taj gen sudjeluje u održavanju stabilnosti genoma, kontroli apoptoze te odgovora na citokine. Gen FANCD1 kontrolira oporavak DNK, a njegov poremećaj povećava osjetljivost za nastanak poremećaja kromosoma koji dovode do razvitka zloćudnih tumora. (2)

Klinička slika manifestira se pojavom pancitopenije, poremećajem rasta, promjenama na skeletu poput mikrocefalije ili manjka palca, poremećaj u kojem je bubreg ili spušten ili u obliku potkove, hiperpigmentacija ili hipopigmentacija kože. Rjeđe je moguća i mentalna zaostalost. Bolest se razvija između 5. i 10. godine života te oko 10% bolesnika razvija akutnu mijeloičnu leukemiju. (3) Treba posumnjati u djece s kongenitalnim malformacijama s prisutnom citopenijom ili aplastičnom anemijom.

Dijagnoza se postavlja na temelju povećanog broja kromosomskih lomova nakon inkubacije s klastogenima (mitomicin). Inkubacijom nastaju kromosomski poremećaji koji preustrojavaju kromosome. Pancitopenija može biti blaga, umjerena ili teška te njena težina ovisi o težini anemije, trombocitopenije i neutropenije. Elektroforezom se može primijetiti prisutnost povećanih vrijednosti hemoglobina F, a biokemijskim pretragama je vidljiva povećana koncentracija alfa-fetoproteina u serumu. (1) Temeljni dijagnostički test za ovu bolest jest dokaz povećane sklonosti kromosomskim lomovima u limfocitnoj kulturi u prisutnosti klastogena. (2)

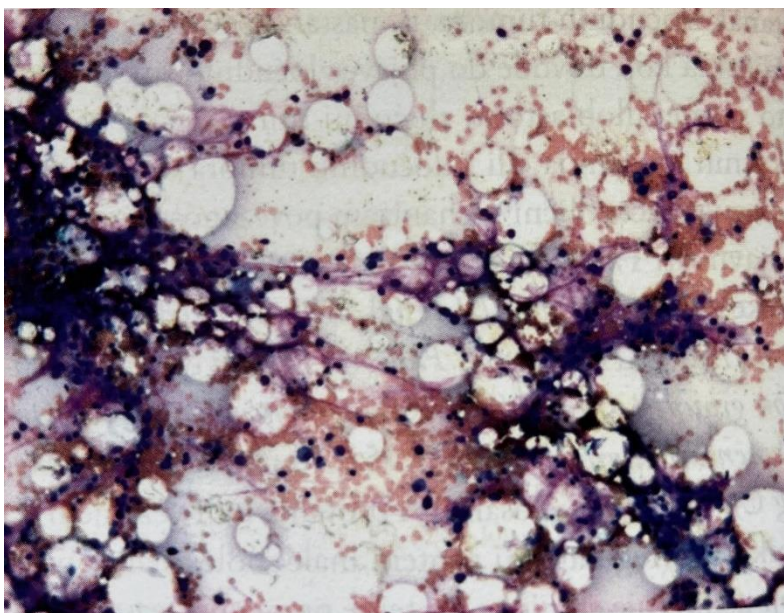
Fanconijeva anemija se može liječiti primjenom androgenih hormona. Uz njihovo prisustvo će rasti i broj krvnih stanica, međutim česte su nuspojave u djece poput maskulinizacije i poremećaja jetrene funkcije. Zatim, moguća je primjena faktora rasta, poput IL-3 ili GM-CSF, koji povećavaju broj granulocita bez učinka na eritrocite i trombocite. (3) Naposljetku, alogenom transplantacijom koštane srži se može uspostaviti normalna hematopoeza te dovesti do izlječenja. Zahvat će biti uspješniji ako su matične stanice primljene od srodnog nego od nesrodnog podudarnog davatelja. Standardni mijeloablativni program, što uključuje ozračenje cijelog tijela, zna biti vrlo toksičan što povećava rizik od sekundarnih zloćudnih tumora. Stoga

se preporuča smanjiti intenzitet programa s ciklofosfamidom i zračenjem ili primijeniti program smanjenog intenziteta s fludarabinom i busulfanom bez zračenja. (4)

### 2.1.2. Stečena aplastična anemija

Stečena aplastična anemija je rijedak i po život opasan poremećaj koštane srži koja u čovjeka može nastati zbog toksičnog učinka kemijskih tvari, lijekova, virusa ili antigena jer te tvari uzrokuju aktivaciju imunskog sustava. Aktiviraju se limfociti T koji potiču programiranu smrt ishodišnih matičnih stanica u koštanoj srži.

Prisutni su simptomi anemije, poput umora ili slabosti, blaga krvarenja, bljedilo kože i potkožno krvarenje. Laboratorijska ispitivanja upućuju na makrocitozu, manjak ili nedostatak retikulocita, leukopeniju, granulocitopeniju te normocitnu i normokromnu anemiju. Punkcijom koštane srži se vidi prazna koštana srž, što je nalaz karakterističan za aplaziju. Nedostaju stanice granulocitopoeze, eritrocitopoeze i trombocitopoeze te postoje nakupine stanica strome i masnih stanica.



Slika 1. Prazna koštana srž, nalaz karakterističan za aplastičnu anemiju

(preuzeto iz: Labar B, Hauptmann E, ur. Hematologija, 5. izdanje. Zagreb: Školska knjiga, 2017.) (1)

Osnovna dijagnostička pretraga jest biopsija koštane srži. Biopsijom se može zaključiti da se radi o izrazitoj hipoplaziji te da je 50 do 75% masnih stanica zamijenilo krvotvorno tkivo. Kako bi se donijela ispravna dijagnoza, postoje dijagnostički kriteriji teške i izrazito teške aplastične anemije. Ukoliko je apsolutni broj granulocita manji od  $0,2 \times 10^9/L$ , radi se o izrazito

teškoj aplastičnoj anemiji. (4) Scintigrafijom koštane srži se zaključuje o smanjenoj funkciji krvotvornog sustava. Vidljivo je nekoliko oskudnih područja hematopoeze unutar skeleta, dok se više aktivnosti nalazi u bubregu, slezeni i krvnim prostorima srca. (1)

Aplastičnu anemiju treba razlikovati od drugih bolesti koje uzrokuju pancitopeniju. Uzroci su razni, poput potiskivanja normalne koštane srži kod akutne leukemije i mijelofibroze, hipoplazija/hiperplazija/aplazija koštane srži te megaloplastična koštana srž u deficitu folne kiseline i vitamina B<sub>12</sub>. (4)

Prognoza bolesti ovisi o stupnju pancitopenije. Bolesnici koji imaju broj granulocita manji od  $0,2 \times 10^9/L$  i bolesnici stariji od 50 godina imaju lošu prognozu bolesti. Započinje se s potpornom terapijom transfuzije eritrocita i koncentrata trombocita. Primjenom alogene transplantacije koštane srži ili imunosupresivnom terapijom moguće je ponovno uspostaviti funkciju koštane srži. Terapija izbora za bolesnike mlađih od 45 godina jest alogena transplantacija koštane srži od srodnog podudarnog davatelja te je mogućnost izlječenja u više od 70% bolesnika. (5) U bolesnika starijih od 45 godina te u bolesnika bez HLA podudarnog davatelja primjenjuje se kombinacija konjskog antitimocitnog globulina i ciklosporina. Pozitivan odgovor na terapiju je vidljivo u 60% bolesnika. (4)

Međutim, u današnje vrijeme transplantacija od nesrodnog davatelja podudarnog u 10/10 antigena HLA sustava postiže gotovo istovjetne rezultate kao i transplantacija sa srodnim davateljem. Uvođenjem ozračenja cijelog tijela (200 cGy) ili limfnih čvorova (500 cGy) se riješio problem neprihvatanja ili odbacivanja presađenih stanica. Neke studije smatraju da uvođenjem fludarabina u pripremu se smanjuje potreba za većim dozama zračenja. Ukoliko bolesnik ima izrazito tešku aplastičnu anemiju, predlaže se liječenje alogenom transplantacijom od nesrodnog podudarnog davatelja koji je podudaran u 9/10 HLA antigena. (5)

## **2.2. Anemija kronične bolesti**

Anemija kronične bolesti je najčešći oblik anemije pored sideropenične anemije te se razvija uz kronične infektivne i neinfektivne bolesti, zloćudne tumore i prilikom traumatskih oštećenja. Zbog sličnosti sa sideropeničnom anemijom i ostalih anemija s poremećenim metabolizmom željeza, potrebno je uspostaviti valjanu diferencijalnu dijagnozu jer se ovaj oblik anemije ne liječi sa željezom.

### 2.2.1. Etiologija i patogeneza

Kao što je prije navedeno, anemija kronične bolesti je pridružena drugim bolestima. Primjer kronične infektivne bolesti može biti tuberkuloza, pneumonija ili bakterijski endokarditis. Kao primjer kroničnih neinfektivnih bolesti spominju se autoimunosne bolesti, a to su eritemski lupus te reumatoidni artritis. Ovaj oblik anemije je specifičan te se razlikuje od ostalih oblika zbog drugačijeg poremećaja u metabolizmu željeza. Spomenuto je da se anemija ne liječi željezom, već je potrebno liječenje primarne bolesti. (1)

Ova anemija se ubraja u hipoproliferacijske anemije jer je metabolizam željeza poremećen, što se očituje sniženom razinom željeza u serumu, a stvara prividnu sliku sideropenije. Zatim, razvija se blaga hemoliza koja klinički nije prepoznatljiva. Naposljetku, insuficijencijom koštane srži se ne stvara dovoljan broj eritrocita za kompenzaciju anemije. Količina pričuvnog željeza je povišena jer željezo nema mogućnost osloboditi se iz makrofaga u plazmu. (6)

### 2.2.2. Klinička slika

Razvija se blaga ili umjerena anemija te ne stvara simptome kroz jedan do dva mjeseca od početka osnovne bolesti. Intenzitet anemije ovisi o težini primarne bolesti. Najčešće je razvitak anemije i prvi znak koji upućuje na prisutnost neke kronične bolesti. (7) Broj retikulocita je normalan ili blago smanjen, anemija je normokromna i normocitna, no može se razviti hipokromija i mikrocytoza. Smanjen je broj sideroblasta, koncentracija serumskog željeza i transferina, povećan je broj makrofaga punog hemosiderina te zasićenost transferina željezom iznosi 5 do 16%. (6) Koncentracija feritina je uvijek povećana, dok je u sideropeničnoj anemiji koncentracija smanjena. (9) Zbog primarnih bolesti, povećane su koncentracije reaktanata upalne faze poput fibrinogena, haptoglobina ili C-reaktivnog albumina. Akutni oblik ove anemije se javlja nakon oštećenja tkiva i akutnih upalnih promjena. Tijekom tih promjena se oslobađaju citokini i hepcidin koji mijenjaju metabolizam željeza i odgovor koštane srži na eritropoetin. (6)

Hepcidin ima ključnu ulogu u regulaciji ravnoteže željeza tako što se veže za ferroportin, što dovodi do smanjene apsorpcije željeza i otpuštanja iz zaliha u tkivu kada su razine željeza visoke te omogućava povećanu apsorpciju željeza i otpuštanje željeza kad je prisutan deficit

željeza. Kod upalnih stanja se povećava proizvodnja hepcidina, što uvelike pomaže u dijagnostici anemije kronične bolesti. (6)

### **2.2.3. Dijagnoza i liječenje**

Kao što je prije rečeno, anemija kronične bolesti ima poseban poremećaj željeza kao što nijedna druga anemija nema. Stoga, bitno je laboratorijskim ispitivanjima i rezultatima razlikovati ovaj oblik anemije od sideropenične anemije, anemije u bubrežnoj insuficijenciji i anemije zbog infiltracije koštane srži stranim tkivom.

Anemija kronične bolesti može se razlikovati od sideropenične anemije po koncentraciji feritina te određivanjem topljivih transferinskih receptora. Gustoća transferinskih receptora u staničnoj membrani (TfR) i serumski transferinski receptori (sTfR) je povećana, za razliku od anemije kronične bolesti. (10) Najosjetljiviji pokazatelj stanja željeza u organizmu jest TfR-feritinski indeks te ako je vrijednost manja od 1, zaključujemo da se radi o anemiji kronične bolesti, a veće od 2 upućuje na sideropeničnu anemiju.

Anemija kronične bolesti ne zahtijeva terapiju željezom, već je potrebno liječiti primarnu bolest. U slučaju simptomatske anemije se primjenjuje transfuzija eritrocita. U bolesnika sa smanjenom produkcijom eritropoetina i sniženom serumskom koncentracijom eritropoetina, preporuča se primjena EPO i ESA. (6) Tri puta tjedno se primjenjuje doza od 10 000 jedinica supkutano ili intravenski. Kontrola se radi nakon tri tjedna te ako poboljšanje nije vidljivo, doza se može udvostručiti. Kako bi se mogla postići željena razina hemoglobina, uz primjenu EPO-a, preporuča se primjena i nadomjesna terapija željezom. Saturacija transferina bi u tom slučaju trebala biti viša od 20%, a razina feritina viša od 100 ng/mL, (10) što se teško postiže oralnim pripravcima te bi se onda željezo trebalo primijeniti parenteralno.

## **3. ANEMIJE ZBOG POREMEĆAJA U SAZRIJEVANJU**

### **3.1. Sideropenična anemija**

Sideropenična anemija je najčešća hematološka bolest koja je prisutna u svim dobnim skupinama. Za ovaj oblik anemije se koriste termini mikrocitna i hipokromna anemija, stoga je vrlo bitno poznavati simptomatologiju kako bi se razlikovala od drugih mikrocitnih anemija sličnih karakteristika. Najčešće se to odnosi na anemiju kroničnih bolesti. (12)

### **3.1.1. Etiologija i patogeneza**

Uzrokuje ju manjak željeza koji može biti zbog nedovoljnog unosa hranom ili zbog prekomjernog gubitka iz organizma. Nedovoljan unos je najčešće zbog neadekvatne prehrane ili zbog malapsorpcije, dok je gubitak željeza iz organizma moguć najčešće zbog kroničnog krvarenja, međutim moguć je gubitak i zbog trudnoće, dojenja i intravaskularne hemolize. Prije razvitka anemije, najprije se razvija latentna sideropenija za koju je karakterističan nedostatak uskladištenog željeza. Zatim se u manifestnoj fazi smanjuje i količina transportnog željeza. Nakon toga, smanjuje se hemoglobinsko željezo što označuje pojavu anemije.

Prehrana je vrlo važna za unos željeza u organizam, a namirnice koje su najbogatije željezom su jetra, meso (pogotovo peradi), riba i mahunarke. Mlijeko i žitarice sadrže najmanju količinu željeza, stoga vegetarijanci, uz trudnice i osobe koje su na dijetama, imaju najveći rizik od razvitka sideropenične anemije. Optimalni dnevni unos željeza jest 10 do 20 mg dnevno. (7)

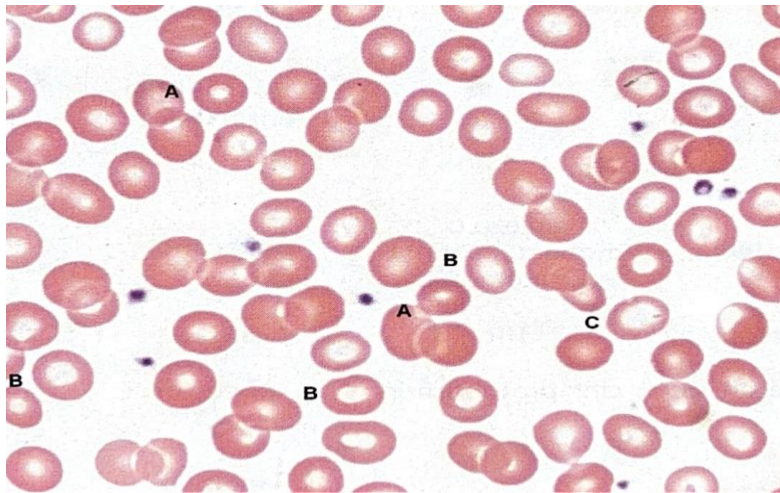
### **3.1.2. Klinička slika**

Simptome možemo podijeliti u 3 skupine: 1) simptomi i znakovi smanjene oksigenacije tkiva i organa, a to su umor, slabost, bljedoća kože i otežano disanje. 2) simptomi i znakovi reakcije organizma na nastali poremećaj, kao što su palpitacije, ubrzano disanje i tahikardija. Zadnje su 3) simptomi i znakovi uzrokovani manjkom željeza, poput glavobolje, žarenje u jeziku, parestezije te dva rijetka, ali vrlo karakteristična simptoma: sklonost grickanju leda te jedenje nejestivih stvari poput zemlje ili kartona. Također je moguć metalni okus u ustima, promjene na jeziku kad on postaje gladak i crven, stomatitis te angularni helitis. Ukoliko je sideropenija dugoročna, može se razviti koilonihija (12), koja je reverzibilna nakon liječenja te Plummer-Vinsonov sindrom koji može perzistirati godinama. (7)

### **3.1.3. Dijagnostika i liječenje**

Prva vidljiva promjena u krvnom razmazu jest anulocitoza, a razvitkom anemije također su vidljive mikrocitoza i hipokromija. Čak 15% pacijenata razvija blagu leukopeniju, dok osobe kod kojih je sideropenija uzrokovana krvarenjem imaju trombocitozu. U djece i mladih odraslih vidljiva je trombocitopenija. Biokemijskim pretragama ustanovljeno je da sideropenična anemija ima karakteristične nalaze u kojima je broj eritrocita smanjen, smanjena je

koncentracija hemoglobina i željeza u serumu, smanjen je hematokrit i eritrocitne konstante. Feritin, koji je najosjetljiviji pokazatelj zaliha željeza, je izrazito smanjen, broj retikulocita je normalan ili snižen, zasićenje transferina željezom je manje od 15%. TIBC, UIBC i koncentracija topivih transferinskih receptora je izrazito povišena.



Slika 2. Periferna krv (MGG, 1:1000): mikrocitoza (A), hipokromija (B), anulociti (C)

(preuzeto iz: Labar B, Hauptmann E, ur. Hematologija, 5. izdanje. Zagreb: Školska knjiga, 2017.) (1)

Uzrok malapsorpcije može biti operativni zahvat kojim se mijenja tijekom probavne cijevi, poput operacije Billroth II kojom se odstranjuje dio želudca i nastavlja se u jejunum. Tako se smanjuje lučenje želučane kiseline koja reducira trovalentni oblik željeza (feri) u dvovalentni oblik (fero) koji se najbolje apsorbira u dvanaesniku. (13) Malapsorpcija se prepoznaje po masnim oblinim stolicama, smanjenom koncentracijom triglicerida i kolesterola u krvi te patološkim nalazom crijevnih resica. Ovaj uzrok moguć je liječiti tabletama. Ukoliko se radi o kroničnoj upalnoj bolesti ili kroničnom zatajenju bubrega, potrebno je intravensko nadoknađivanje željeza. (14)

Najčešći uzrok sideropenije zbog kroničnog krvarenja jest menometroragija. Žena prosječno menstruacijom izgubi oko 40 ml krvi, a čak 10% žena više od 80 ml, što je 30 mg željeza. (15) Stoga, dnevna potreba jest 2 mg željeza, što je duplo više od muškaraca. Drugi najčešći uzrok jest krvarenje u probavnom traktu, a to je krvarenje iz hemoroida, zbog tumora želudca ili debelog crijeva. Potrebno je endoskopski pregledati želudac, dvanaesnik i debelo crijevo, čija je svrha otkrivanje prekanceroznih adenoma i ranog karcinoma.

Istraživanjima je dokazano da je čak 47% trudnica anemično. Koncentracija hemoglobina u prvom i trećem trimestru jest manja od 110 g/L, dok je u drugom trimestru manja od 105 g/L. (16) Karakteristični nalazi su fiziološki porast volumena krvi i volumena plazme te mase



eritrocita. Potreba za željezom u trudnoći se razlikuje po trimestrima, no najveća potreba je u drugom i trećem trimestru, dok se zalihe željeza najbolje pune u zadnjem mjesecu. Anemija u majke štetno utječe na razvitak ploda te je veća učestalost prijevremenih porođaja. Zato prematurusi najčešće imaju smanjene rezerve željeza. Samo zbog razvitka ploda dolazi do gubitka od 360 mg željeza tijekom trudnoće. Samim porodom se gubi 150 do 200 mg, a dojenjem 30 mg mjesečno. Nerijetko se deficit željeza teško nadoknadi hranom te su potrebni pripravci željeza.

Ukoliko se sumnja na infestaciju parazitima kao moguć uzrok sideropenije, karakterističan je nalaz eozinofilije te je potrebno napraviti pregled stolice na jajašca i ciste u 3 uzorka. Najčešći uzročnik je *Ancylostoma duodenale* koji živi u crijevu i hrani se krvlju. (17)

Liječenje sideropenične anemije moguće je peroralno i parenteralno. Peroralno nadoknada željeza je moguća pripravcima s ionskim željezom ili organskim kompleksima željeza. Općenito, preporučaju se peroralni pripravci jer su najjednostavniji, najjeftiniji i najsigurniji. Pripravci s dvovalentnim oblikom željeza su bolji od trovalentnog oblika, jer se bolje apsorbira u organizmu. (18) Koliko će se primijenjenog željeza apsorbirati ovisi o težini sideropenije, što znači da je apsorpcija veća što je sideropenija teža.

Najbolja terapijska doza je 100 do 200 mg, podijeljeno u 2 ili 3 doze, tabletama natašte. Ukoliko bolesnik ne podnosi natašte, preporuča se uzimanje pripravka uz mesni obrok. Čak 10 do 20% bolesnika ima gastrointestinalnih nuspojava, poput grčeva u trbuhu i konstipacije, koje prolaze spontano ili uz smanjenje doze. Ukoliko smanjenje doze i uzimanje pripravka uz mesni obrok nije smanjilo tegobe, preporuča se prelazak na intravenozno liječenje.

Organski kompleksi željeza se apsorbiraju posebnim transportnim mehanizmima. Stoga, imaju bolju apsorpciju i manje nuspojava. (19) No, jedan dio pripravaka na tržištu se ili slabo apsorbira ili se brzo raspada u probavnom traktu.

Parenteralna nadoknada željeza se primjenjuje kad je peroralno nedjelotvorno ili nepodnošljivo za pacijenta. Postoji formula za izračunavanje doze:

$$\text{Doza Fe (mg)} = \text{tjelesna težina (kg)} \times (\text{ciljni Hb} - \text{akutni Hb}) \times 0,22 + 1000 \text{ ili } 500 *$$

\*1000 za muškarce, 500 za žene

Učestalost nuspojava je od 0% do 50%, što ovisi o pripravku i načinu primjene. Najčešće su to bol i upala u veni, metalni okus u ustima, anafilaktičke i anafilaktoidne reakcije. Oporavak je

jednak kod peroralnih i parenteralnih pripravaka te je potrebno napraviti kontrolu učinka nakon 3 do 4 tjedana.

Tablica 1. Pripravci željeza

Nezaštićeno ime lijeka	Zaštićeno ime lijeka	Način primjene	Doza, količina elem. Fe
željezov II-fumarat	Heferol	Oralno	kap. 350 mg (100 mg Fe)
željezov III-hidroksi polimaltozat	Ferrum	Oralno	Kap. 100 mg ili sirup 50 mg/5 ml
željezov III-proteinsukcinat	Legofer	Oralno	Sirup 40 mg/15 ml
željezov III-oksidi saharat	Venofer	Parenteralno	100 mg
željezov (III) izomaltozid 1000	Monofer	Parenteralno	100 mg/ml
željezova karboksimaltoza	Ferinject	Parenteralno	50 mg/ml

(preuzeto iz: Radman I, Vodanović M, Mandac – Rogulj I, i sur. Smjernice za dijagnostiku i liječenje anemije uslijed manjka željeza. Liječnički Vjesnik 2019, 141: 1- 13 (8))

### 3.2. Megaloblastična anemija

Pod pojmom megaloblastična anemija podrazumijeva se da je to anemija s karakterističnim promjenama eritrocitne loze, poput pojave megaloblasta u koštanoj srži i makrocita ili megalocita u perifernoj krvi. Nadalje se koriste pojmovi makrocitna hipokromna anemija.

#### 3.2.1. Etiologija i patogeneza

Smatra se da razvitak megaloblastične anemije može biti posljedica manjka vitamina B<sub>12</sub> ili folne kiseline, zbog poremećaja metabolizma ta dva vitamina, zbog manjka transkobalamina ili zbog primjene lijekova antifolata. Karakteristična promjena eritrocitne loze jest izrazita hiperplazija megaloblasta u koštanoj srži, dok se stvara mali broj zrelih eritrocita, na što upućuje broj retikulocita koji je normalan ili snižen. Morfološki se vidi razlika između megaloblasta i drugih eritrocitnih oblika u „starosti“ jezgre. Jezgra megaloblasta je nezrelija jer nema dovoljno DNK za replikaciju jezgre te se razvija stanje disocijacije u razvoju jezgre i citoplazme. (1)

Vitamin B<sub>12</sub> ili kobalamin sudjeluje u sintezi DNK koji kao koenzim aktivira neaktivne folate u biološki aktivan tetrahidrofolat. Tetrahidrofolat zatim sudjeluje u sintezi purina, pirimidina, metionina i timidilčne kiseline, a to su spojevi nužni za sintezu DNK. Stoga, možemo zaključiti da je vitamin B<sub>12</sub> ključan faktor u sintezi DNK, a zatim i u održavanju djelotvorne eritrocitopoeze. (20)

Manjak folne kiseline može biti posljedica funkcije enzima timidilat-sintetaza, također bitan enzim u sintezi DNK. Taj enzim nastaje iz tetrahidrofolata koji cirkulira u plazmi kao metil-tetrahidrolat. Vitamin B<sub>12</sub> sudjeluje u njegovoj demetilaciji i prijenosu metilne skupine na homocistein, pri čemu nastaje metionin. Tetrahidrofolat je supstrat na koji djeluje enzim koji ga pretvara u poliglutam, što naposljetku omogućuje sintezu purina. (20) Ovaj tip anemije najčešći je u starijoj životnoj dobi, no moguć je i u djece s Imerslund-Gräsbeckovom bolesti.

Tablica 2. Uzroci manjka vitamina B12 i folne kiseline

Manjak vitamina B12		Manjak folne kiseline	
Nutritivni	vegetarijanci	Nutritivni	starije osobe, gladovanje, dijete, kozje mlijeko
Malapsorpcija	bolesti želuca: perniciozna anemija, poremećaj UF-a, gastrektomija crijevne bolesti: sindrom slijepo vijuge, divertikuloza jejunuma, Crohnova bolest	Malapsorpcija	celijakija, resekcije jejunuma zbog Crohnove bolesti
Nasljedni	manjak transkobalamina, Imerslund-Gräsbeckova bolest, kongenitalni manjak UF-a	Povećana utilizacija	fiziološka: trudnoća laktacija, patološka: dijaliza, hematološke bolesti: hemolitička anemija, zloćudni tumori: rak, limfom, mijelom, upalne bolesti: Crohnova bolest, tuberkuloza
Poremećaj metabolizma transkobalamina		Povećani gubitak urinom	aktivna jetrena bolest
		Lijekovi	antikonvulzi, antimetaboliti
		Ostalo	alkoholizam

(preuzeto iz: Labar B, Hauptmann E, ur. Hematologija, 5. izdanje. Zagreb: Školska knjiga, 2017.) (1)

### 3.2.2. Klinička slika

Simptomi se mogu podijeliti u tri skupine: a) simptomi anemije, b) simptomi vezani uz probavni sustav te c) neurološki simptomi. Simptomi anemije su umor i slabosti koji se

razvijaju sporo. Najčešća megaloblastična anemija zbog manjka vitamina B<sub>12</sub> jest perniciozna anemija. To je autoimuna anemija koju karakterizira atrofija želučane sluznice jer nedostaje ili izostaje sekrecija unutarnjeg faktora (IF ili UF) pa i samim time nedostaje slobodne solne kiseline u želučanom soku. Nedostatak ili izostanak sekrecije UF-a može biti genetski uvjetovana smanjena proizvodnja, proizvodnja defektnog UF-a, imuna destrukcija parijetalnih stanica ili djelovanje protutijela protiv UF-a. Pojavljuje se u starijoj životnoj dobi, češće u žena. (21) Ovaj tip anemije može biti pridružen drugim autoimunim bolestima poput Hashimotovom sindromu, Addisonovoj bolesti i miksedomu.

Simptomi vezani uz probavni sustav započinje sa sluznicom jezika koja je upaljena i crvena te je jezik vrlo gladak zbog atrofije papila, zatim je čest angularni stomatitis i malapsorpcija. Mogu se razviti aklorhidrija, hipergastrinemija i intestinalna hiperplazija koja može prijeći u karcinom. (21) U 90% bolesnika u serumu su prisutna protutijela usmjerena na parijetalne stanice želučane sluznice. Oko 50% bolesnika ima tip I ili blokirajuća protutijela, koja sprječavaju vezanje UF-a za vitamin B<sub>12</sub>, dok 35% bolesnika ima tip II ili precipitirajuća protutijela koja sprječavaju vezanje UF-a u ileumu. (1)

70 do 90% bolesnika s pernicioznom anemijom pokazuje neurološke promjene. Najučestaliji oblik tih promjena se naziva funikularna mijeloza. Karakterizirana je poremećajem dubokog senzibiliteta, parestezijama i ataksijom pri hodu. Kod teških oblika moguće su smetnje mokrenja i defekacije. Bitno je napomenuti da neurološki simptomi ne ovise o stupnju anemije. Štoviše, neurološki simptomi mogu biti prisutni i bez znakova anemije. Uzrok neuropatije nije u potpunosti razriješen. Međutim, smatra se da je nakupljanje S-adenozil-homocisteina posljedica nedjelotvornog kontrolnog mehanizma njegove razgradnje i eliminacije produkata metabolizma homocisteina. (1)

### **3.2.3. Dijagnoza i liječenje**

Iz krvnog razmaza mogu se uočiti anizocitoza, poikilocitoza, megalocitoza, makrocitoza, a prisutni su i shistociti i Howell-Jollyeva tjelešca. (9) Megalociti su ovalna oblika. MCV je veći od 100 fL, a često i veći od 120 fL. Broj retikulocita, eritrocita, leukocita i trombocita je umjereno snižen te je koncentracija hemoglobina također snižena. Poremećaj sinteze DNK uzrokuje morfološke promjene i u drugim lozama pa tako sedimentirani granulociti pokazuju hipersegmentaciju jezgre s 6 ili više segmenata.

Laktat dehidrogenaza i indirektni bilirubin su povišeni zbog povećane hemolize megaloblasta. Laktat dehidrogenaza ima 5 izoenzima, u eritrocitima su prisutni izoenzimi LD-1 i LD-2. Za megaloblastičnu anemiju je karakteristično da je aktivnost LD-1 veća nego LD-2, dok je u ostalim anemijama obrnuto. (1)

Željezo i feritin su na gornjoj granici normale ili povišeni. Manjak vitamina B<sub>12</sub> i folne kiseline se utvrđuje određivanjem njihove koncentracije u serumu. Ukoliko nedostaje vitamin B<sub>12</sub>, serumski folati su normalni do povišeni. Ukoliko nedostaje folne kiseline, serumski B<sub>12</sub> je umjereno snižen. (1)

Deoksiuridinski test supresije primjenjuje se u dijagnostici manjka vitamina B<sub>12</sub> i/ili folne kiseline kod bolesnika koji pokazuju makrocitozu bez anemije ili je serumska vrijednost ovih vitamina unutar referentnih intervala. Procjenjuje se sinteza timidilata iz deoksiuridilata, za koji je kao koenzim potreban tetrahidrofolat, a poremećen je nedostatkom folata i kobalamina. (20) Zatim, za dokazivanje manjka vitamina B<sub>12</sub>, određuje se prisutnost blokirajućih protutijela na UF u serumu. Prisutnost protutijela potvrđuju dijagnozu perniciozne anemije. Schilingov test je test apsorpcije radioaktivno obilježenog kobalamina tj. izlučivanja u mokraći. Oralno se primjenjuje 0,5 do 2 µg radioaktivnog B<sub>12</sub>. Istovremeno se primjenjuje parenteralno oko 1000 µg B<sub>12</sub> kako bi se popunile rezerve. Zdrava osoba će u 24-satnom urinu izlučiti 5 do 40% primijenjene doze, dok će bolesna osoba izlučiti 0 do 3% zbog poremećene apsorpcije B<sub>12</sub>. Test se izvodi tri puta kako bi se razlikovala perniciozna anemija od bolesti ileuma i sindroma slijepe vijuge. (1)

Pri određivanju koncentracije vitamina B<sub>12</sub> vrijednosti mogu biti lažno pozitivne i negativne. Samo 20% ukupnog vitamina B<sub>12</sub> je vezano za transkobalamin II, dok je ostatak vezan za transkobalamin I (haptokorin). (22) Vitamin B<sub>12</sub> nije dostupan stanicama kad se nalazi u kompleksu haptokorin-vitamin B<sub>12</sub>, dok je iz drugog kompleksa dostupan. Testom holotranskobalamina određuje se zasićenost transkobalamina vitaminom B<sub>12</sub>. Dakle, mjeri se koncentracija metilmalonske kiseline (MMA) ili homocisteina u stanju kad je razina B<sub>12</sub> i/ili folne kiseline upitna. Ukoliko MMA iznosi više od 1000 nmol/L, radi se o nedostatku vitamina B<sub>12</sub>. (22)

Megaloblastičnu anemiju liječimo parenteralnim pripravcima dva oblika vitamina B<sub>12</sub>, a to su cijankobalamin (antipernicin) te hidroskobalamin. Hidroskobalamin primjenjuje se u teškim neurološkim poremećajima kad su potrebne velike doze. Primjenjuje se intramuskularno u dozi od šest puta 1000 µg/dan kroz sedam dana, zatim 1000 µg jednom tjedno, a nakon toga

1000 µg jednom u četiri tjedna. (22) Snižuju se laktat dehidrogenaza i indirektni bilirubin zbog prestanka raspadanja stanica u koštanoj srži i eritrocita u perifernoj krvi. Perniciozna anemija može se liječiti i peroralno. Folna kiselina daje se u obliku tableta u dozi od 5 mg kroz četiri mjeseca, međutim dužina liječenja će ovisiti o uzroku manjka folne kiseline. Doživotna primjena vitamina B<sub>12</sub> potrebna je kod perniciozne anemije, totalne gastrektome i resekcije ileuma. (22)

Ukoliko je terapija bila validna, bolesnik može osjećati poboljšanje nakon 24 do 48 sati nakon početka terapije te se primjećuje izraziti rast retikulocita nakon 6 ili 7 dana. (9) Primjena pripravka vitamina B<sub>12</sub> će imati značajni učinak na neurološki oporavak nakon 6 do 8 tjedana.

#### **4. HEMOLITIČKE ANEMIJE**

Hemolitička anemija uzrokovana je skraćenim životnim vijekom eritrocita zbog njihove pojačane razgradnje. Hemolitička anemija može biti nasljedna ili stečena, imunosna ili neimunosna, korpuskularna ili ekstrakorpuskularna te intravaskularna ili ekstravaskularna.

Eritrociti prosječno žive 100 - 120 dana, dok kod umjerene hemolitičke anemije žive 40 do 29 dana, a kod teške anemije čak manje od 20 dana. (9) Nakon životnog vijeka, eritrociti se raznim fiziološkim mehanizmima razgrađuju i uklanjanju iz krvnog optoka. Stare eritrocite koji imaju smanjenu fleksibilnost, povećanu popustljivost membrane, gubitak bjelančevina te smanjenu sposobnost stvaranja ATP-a odstranjuju makrofagi u koštanoj srži, jetri i slezeni.

Hemoliza može biti intravaskularna, kad se događa unutar lumena krvne žile, i ekstravaskularna, izvan lumena krvne žile. Organizam pokušava kompenzirati ubrzanu razgradnju eritrocita, što rezultira hiperplazijom eritrocitne loze u koštanoj srži na način da masne stanice iz tzv. žute srži postaju dio crvene srži.

Obrada hemolitičke anemije započinjem utvrđivanjem postojanja anemije s povećanom vrijednosti retikulocita. To je važan i jednostavan test procjene hemolize. Ukoliko je vrijednost korigiranog broja retikulocita veća od 20%, a apsolutni broj retikulocita veći od  $100\ 000 \times 10^{11}/L$ , zaključuje se da koštana srž kompenzira akutni gubitak krvi ili hemolizu. Zatim se pregledava razmaz periferne krvi u kojemu se mogu pronaći različiti eritrocitni oblici karakteristični za pojedine hemolitičke anemije. Povišeni indirektni bilirubin, laktat dehidrogenaza, serumsko željezo i feritin su biokemijski pokazatelji pojačane hemolize. Testom

radioizotopnim određivanjem trajanja života eritrocita možemo dokazati skraćeni životni vijek eritrocita.

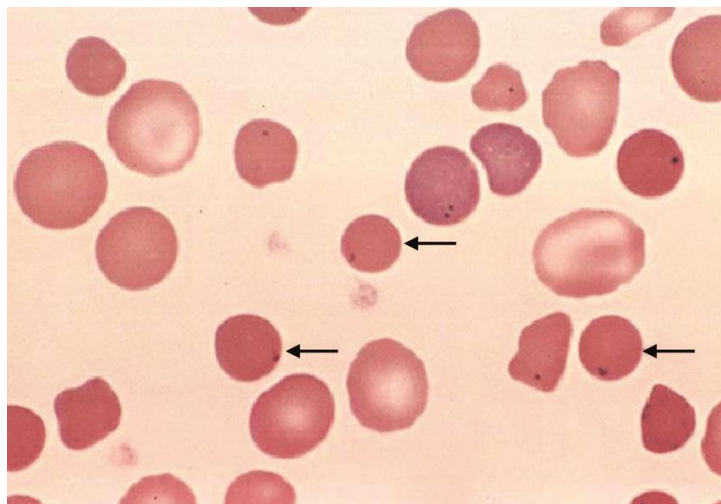
## 4.1. Nasljedne hemolitičke anemije

### 4.1.1. Anemije zbog poremećaja membrane eritrocita

Drugim riječima, membranopatije nastaju zbog prirodnih poremećaja membrane poput nedostataka nekih skeletnih proteina, defektnih veza između tih proteina ili promijenjene koncentracije lipoproteina u membrani. Navedene membranopatije dobile su naziv po karakterističnim oblicima eritrocita u krvnom razmazu.

#### 4.1.1.1. Hereditarna sferocitoza

Hereditarna sferocitoza najčešća je hemolitička anemija koja se nasljeđuje autosomno dominantno. Smatra se da pojedini genski poremećaji uzrokuju poremećaj proteinskog dijela membrane, a gubitak membranskih lipida je posljedica manjka membranskih bjelančevina poput spektrina, ankirina, proteina 4.2 i veznog proteina 3. (23) Dakle, eritrociti poprimaju sferični oblik zbog manjka membranskih bjelančevina. Slezena ovaj oblik eritrocita može vrlo brzo odstraniti.



Slika 3. Nalaz sferocita

(preuzeto: [https://www.researchgate.net/figure/Peripheral-blood-film-showing-spherocytes-in-a-case-of-hereditary-spherocytosis-arrows\\_fig3\\_317038138](https://www.researchgate.net/figure/Peripheral-blood-film-showing-spherocytes-in-a-case-of-hereditary-spherocytosis-arrows_fig3_317038138))

Klinička slika je varijabilna. Postoje slučajevi asimptomatskog stanja, kronične hemolitičke anemije te splenomegalija. Blaga hemolitička anemija se očituje bez anemije s retikulocitozom, žuticom i splenomegalijom. Umjerena hemolitička anemija se pojavljuje u 60 do 70% bolesnika, karakterizirana anemijom, žuticom i povećanim brojem retikulocita, a nekad zahtijeva terapiju transfuzijama eritrocita. 5% bolesnika razvija tešku hemolitičku anemiju te je potrebna trajna transfuzijska terapija. (1) 50% bolesnika može razviti kao komplikaciju hemolize bilirubinske žučne kamence. (9) Konačna dijagnoza postavlja se na temelju kliničke slike i nalaza sferocita u krvnom razmazu.

Osmotska rezistencija eritrocita je smanjena jer sferociti u hipotoničnoj otopini hemoliziraju prije nego eritrociti zdrave osobe. (4) Od dijagnostičkih testova spominju se test kriohemolize kojim se dokazuje izraženija hemoliza u suspenziji s sferocitima nego u suspenziji s normalnim eritrocitima, test lize zakiseljenim glicerolom koji pokazuje veću osjetljivost u procjeni hemolize od testa osmotske rezistencije, elektroforeza membranskih bjelančevina, izravno kvantitativno određivanje membranskih bjelančevina te EMA test vezanja u kojemu se mjeri količina veznog proteina 3 te se obojani kompleks dokazuje protočnom citometrijom. (23) Izravnim kvantitativnim određivanjem membranskih proteina radioimunotestom mogu se odrediti regije gena koje uzrokuju poremećaj.

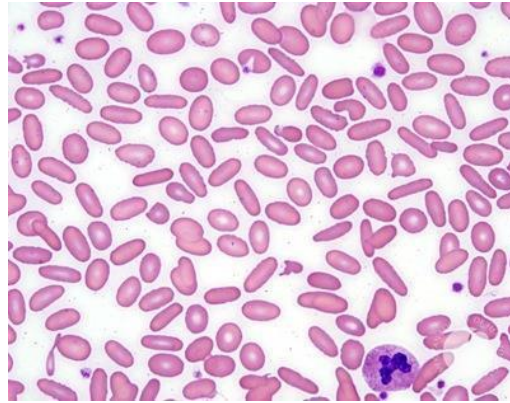
Liječenje je simptomatsko. Za hemolitičku anemiju čija je koncentracija hemoglobina manja od 70 g/L treba primijeniti transfuziju eritrocita, a za splenomegaliju je potrebna laparoskopska splenektomija. Prije zahvata je potrebno cijepljenje protiv infekcije pneumokokom. (9) Uslijed deficita folne kiseline i u trudnoći, primjenjuju se folati.

#### **4.1.1.2. Hereditarna eliptocitoza**

Hereditarna eliptocitoza ili ovalocitoza nasljeđuje se autosomno dominantno te je za nju karakterističan nalaz eritrocita eliptoidnog oblika u krvnom razmazu. Razlog tomu jest poremećaj ili nedostatak skeletnih membranskih bjelančevina poput bjelančevine 4.1, alfa-spektrin, beta-spektrin, vezni protein 3 te glikoforin C. (23) Nedostatak ili manjak ovih proteina smanjuju mehaničku stabilnost eritrocita zbog čega dolazi do fragmentacije, mikroците te hemolize. Prisutnost znakova hemolize te nalaz ovalocita u krvnom razmazu su dijagnostički pokazatelji ovog nasljednog poremećaja.



Razlikujemo više podtipova hereditarne eliptocitoze, poput tipične hereditarne eliptocitoze, sferocitne eliptocitoze, jugoistočne azijske ovalocitoze te hereditarne piropoikilocitoze koja je ujedno i najteži oblik, a dokazuje se EMA testom. (23) Testovima molekularne dijagnostike dokazuju se manjak ili mutacije proteina. Za umjerenu i tešku hemolizu primjenjuje se splenektomija.

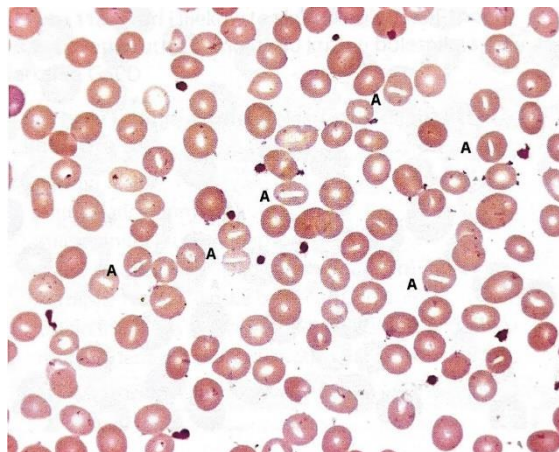


Slika 4. Nalaz eliptocita

(preuzeto iz: <https://imagebank.hematology.org/image/63735/hereditary-elliptocytosis>)

#### 4.1.1.3. Hereditarna stomatocitoza

Hereditarna stomatocitoza se također nasljeđuje autosomno dominantno za koju je karakterističan pronalazak eritrocita u obliku usta tj. stome. Razlog tomu jest poremećaj ili manjak bjelančevine stomatina. Također je opisan je poremećaj transporta kalija i natrija zbog promjena u membrani. MCV je povišen, MCHC je snižen te je osmotska rezistencija smanjena. (9) Pri stečenim stanjima, poput kronične jetrene bolesti ili akutne intoksikacije alkoholom, stomatociti se povezuju s promjenom lipida u eritrocitnoj membrani. Izbor liječenja je splenomektomija.



Slika 5. Periferna krv (MG 1:1000), stomatociti

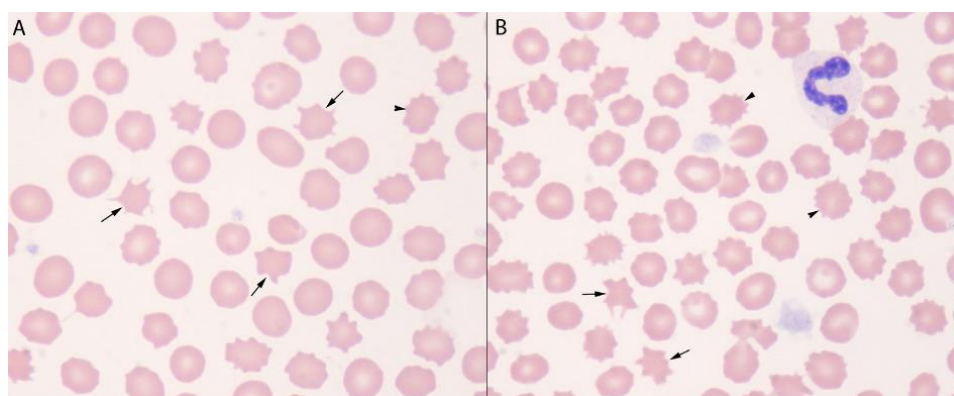
(preuzeto iz: Labar B, Hauptmann E, ur. Hematologija, 5. izdanje. Zagreb: Školska knjiga, 2017.) (1)

#### 4.1.1.4. Akantocitoza i ehinocitoza

Akantocitoza i ehinocitoza su karakteristične u hemolitičkim anemijama s neobično oblikovanim eritrocitima s nastavcima. Razlika između ta dva oblika jest to što akantociti imaju grublje izdanke različitih veličina i raspodjele, dok ehinociti imaju manje izdanke sličnih veličina i jednoliko su raspoređeni. Ovi eritrocitni oblici imaju promijenjen oblik jer se slobodni kolesterol nakuplja u suvišku eritrocitne membrane. Također, bitna promjena u skeletnoj strukturi membrane jest promjena konformacije veznog proteina 3. (1)

Akantociti se nalaze u bolesnika s uznapredovalom bolesti jetre, dok su oba oblika prisutna pri cirozi jetre. Osim navedenih bolesti, akantociti se mogu pronaći u abetalipoproteinemiji, sindromu chorea-akantocitoza te u manjem broju u bolesnika s mijelodisplazijom i hipotiroidizmom. Za postavljanje dijagnoze, uz hemolitičku anemiju, potrebno je naći prisutnost ova dva oblika eritrocita u krvnom razmazu te utvrditi postojanje splenomegalije.

Splenektomija može ublažiti simptome, no operacija može biti rizična zbog postojanja jetrene bolesti. Transfundirani eritrociti vrlo brzo pretvaraju u akantocite, stoga terapija transfuzijama eritrocita nema većeg učinka. Općenito je prognoza akantocitoze u jetrenih bolesnika podosta loša jer se ona pojavljuje u već napredovaloj fazi jetrene ciroze, što je znak terminalnog stadija bolesti jetre. (1)



Slika 6. Usporedba akantocita (A) i ehinocita (B)

(preuzeto iz: <https://eclinpath.com/hematology/morphologic-features/red-blood-cells/poikilocytosis/acanthocyte-echinocyte-compilation/>)

#### 4.1.2. Anemije zbog poremećaja metabolizma eritrocita

U enzimopatija događa se hemoliza zbog deficita ili abnormalne građe enzima u eritrocitu te je najčešće kroničnog tipa. Poremećaj enzima može uzrokovati morfološke promjene eritrocita, intravaskularnu hemolizu i kroničnu anemiju. (9)

##### 4.1.2.1. Deficit enzima G6PD

Deficit enzima glukoza-6-fosfat-dehidrogenaza ili skraćeno G6PD, nasljedni je poremećaj koji se prenosi spolno vezano na X kromosomu. Inače, G6PD je enzim koji reducira NADP u NADPH koji se koristi za redukciju glutationa. Uslijed manjka NADPH-a i glutationa, eritrociti su pojačano osjetljivi na oksidativni stres. (24)

Opisano je više od 300 mutacija enzima, a najčešći su tip A ili G6PD A+ tj. afrički tip, G6PD A- u crnačkoj populaciji, G6PD B je divlji tip (zapadni) u bijelaca bez hemolize te G6PD mediteranski tip. Bolest se manifestira u obliku hemolitičke krize nakon akutne infekcije ili uzimanja lijekova koji djeluju kao oksidansi. Hemolitička kriza nastaje unutar nekoliko sati, razvija se nagla intravaskularna hemoliza te prolazi spontano raspadaњem eritrocita koji su siromašni enzimom i nastajanjem retikulocita koji su bogati enzimom. (9)

Moguć je razvitak hemolitičke krize nakon konzumiranja boba jer njeno zrno sadržava prirodne oksidanse. Prema njenom latinskom nazivu, *Vicia faba*, bolest se naziva favizmom. Lijekovi i bob uzrokuju denaturaciju hemoglobina u obliku oksidacijskog stresa pa se denaturirani hemoglobin precipitira u obliku Heinzovih tjelešaca. (24)

Karakteristični su nalazi hemoglobinemije, hemoglobinurije, proteinurije, hemoglobin i broj eritrocita su sniženi, broj retikulocita je povišen, a u krvnom razmazu su vidljivi eritrociti s Heinzovim tjelešcem i tzv. „bite“ eritrociti. (9)

Test probiranja za dijagnozu manjka enzima G6PD jest bojanje metilenskim modrilom te pronalazak fragmentiranih eritrocita i Heinzova tjelešaca, a zatim se određuje aktivnost enzima G6PD. (24) Liječenje je simptomatsko, najčešće transfuzijama eritrocita jer splenektomija ima kratkotrajan učinak.

#### 4.1.2.2. Deficit enzima PK

Deficit enzima piruvat-kinaze (PK) najčešći je uzrok nasljedne nesferocitne kronične hemolitične anemije. Piruvat-kinaza vrlo je bitan enzim u anaerobnom ciklusu glikolize u eritrocitima. (25) Deficit se nasljeđuje autosomno recesivno te je genski vrlo heterogen. Dakle, bolest je klinički prisutna u homozigota, dok u heterozigota nema znakova hemolize. Klinička slika varira od blage do teške hemolitičke bolesti te bolesnici s izraženom hemolitičkom anemijom mogu razviti žuticu, stvoriti žučne kamence te uzrokovati manjak folata. U razmazu periferne krvi vidljivi su eliptociti, poikilociti te trnasti eritrociti, a broj retikulocita je povišen. Za izbor liječenja preporuča se transfuzija eritrocita i splenektomija nakon 3. godine života zbog manjeg rizika od infekcije inkapsuliranim bakterijama.

#### 4.1.3. Hemoglobinopatije

Hemoglobinopatije se odnose na skupinu nasljednih poremećaja karakteriziranih smanjenom sintezom jednog ili više globinskih lanaca, kao što je slučaj kod talasemija, ili sintezom strukturno abnormalnog hemoglobina, kao kod anemije srpastih stanica. Hemoglobin (HbA) je tetramer koji se sastoji od dva  $\alpha$ -globinska lanca i dva  $\beta$ -globinska lanca. Mutacija na tim lancima uzrokuje nasljedne hemoglobinopatije pa tako danas poznajemo više od 1000 prirodnih mutacija globina, a najviše se događaju na  $\beta$ -lancu. (26)

Kad postoji sumnja na nasljedni poremećaj hemoglobina, nakon utvrđene mikrocitoze i hipokromije, povećanog broja retikulocita te pojave karakterističnih stanica u razmazu periferne krvi, primjenjuje se elektroforeza hemoglobina. Puno preciznija metoda jest elektroforeza s izoelektričnim fokusiranjem jer ima sposobnost boljeg razdvajanja hemoglobina. HPLC metodom tj. visokodjelotvornom tekućinskom kromatografijom se omogućuje dijagnoza podtipova  $\beta$ -talasemije. (26) Ukoliko dijagnoza nije sigurna nakon navedenih testova, može se primijeniti HPLC tehnika obrnute faze kojom se može zaključiti na kojem lancu se nalazi poremećaj.

Izopropranololskim testom i testom otpornosti na toplinu dokazuje se prisutnost nestabilnih hemoglobina, koji se taloži u eritrocitima u obliku Heinzovog tjelešca radi preosjetljivosti na oksidanse. Testom afiniteta za kisik utvrđuje se o kojem poremećaju je riječ, je li afinitet za kisikom povećan ili smanjen. (26)

Naposljetku, kako bi se precizno odredilo o kojoj molekularnoj promjeni je riječ, provode se PCR metode u referentnom centru za hemoglobinopatije. Vrlo je važno provesti prenatalnu dijagnostiku, ako su oba roditelji nositelji te postoji rizik od nasljeđivanja talasemije major. Tada se provodi molekularno ispitivanje DNK iz uzorka stanica korionskih resica uzetih između 10. i 12. tjedna trudnoće ili se provodi ispitivanje na kulturi stanica plodove vode dobivene amniocentezom u 15. tjednu trudnoće. (26)

Talasemija je skupina nasljednih bolesti uzrokovanih smanjenim stvaranjem  $\alpha$  ili  $\beta$ -globinskih lanaca. Ova skupina bolesti je vrlo heterogena jer kliničke slike mogu dosta varirati. Sam naziv talasemija potječe od grčke riječi *thalassa* što znači more, jer su prvi otkriveni bolesnici potjecali s područja Mediterana. (27) S obzirom na poremećeno stvaranje globinskih  $\alpha$  i  $\beta$  lanaca, razlikujemo  $\alpha$  i  $\beta$  talasemije. Obje talasemije se nasljeđuju autosomno recesivno.

#### 4.1.3.1. Alfa-talasemije

Alfa-talasemije posljedica su delecije  $\alpha$ -gena. Postoje dvije vrste  $\alpha$ -talasemija, a to su Bart hydrops fetalis i bolest hemoglobina H. Mutacija je moguća na ukupno četiri gena. Mutacije jednog ili dva  $\alpha$ -gena nema klinički značajnih posljedica, osim promjena u koncentraciji eritrocitnih indeksa: MCV i MCH su sniženi, a broj eritrocita je povišen. Moguća je delecija tri  $\alpha$ -gena koja uzrokuje bolest hemoglobina H, u kojemu se višak  $\beta$ -globinskih lanaca spaja u  $\beta_4$  tetramer. Klinički se prikazuje kao mikrocitna hipokromna anemija čiji se hemoglobin H u eritrocitima može dokazati elektroforezom. (27)

Ukoliko postoji manjak ili delecija sva četiri  $\alpha$ -gena, razvit će se teški poremećaj u sintezi fetalnog hemoglobina te nastaje hemoglobin Bart koji se sastoji od četiri  $\gamma$  globulina. Hemoglobin Bart nema mogućnost otpuštanja kisika u tkivo fetusa jer ima vrlo visok afinitet za kisik. Razvija se hipoksija i edem svih tkiva, tj. hidrops, ekstramedularna hematopoeza i zatajivanje srca što dovodi do intrauterine smrti. Prenatalnom dijagnostikom se može postaviti dijagnoza kompletnog nedostatka  $\alpha$ -gena. Uzorak su fibroblasti fetusa dobiveni amniocentezom. (9)

#### 4.1.3.2. Beta-talasemije

Postoji više od 200 mutacija koje uzrokuju beta-talasemije razlikujući se od delecije  $\beta$ -globinskog gena do mutacija koje mijenjaju odvijanje transkripcije ili translacije  $\beta$ -globinskog

lanca. (27) Razlikujemo nekoliko podtipova, a najteži oblik je  $\beta$ -talasemija major ili mediteranska ili Cooleyeva anemija. Ovu vrstu talasemija karakterizira potpuni manjak  $\beta$ -lanca ( $\beta^0$ ) ili se stvara mala količina  $\beta$ -lanaca ( $\beta^+$ ). Klinička slika anemije je teža što je veći višak  $\alpha$ -lanaca, međutim stvaranje  $\gamma$ -lanaca nastoji nadomjestiti nastali višak  $\alpha$ -lanaca. Nastaje hemoglobin F, što pokušava ublažiti nedostatak hemoglobina A. (9) Najčešća mutacija koja uzrokuje ovu talasemiju jest točkasta mutacija ili delecija nukleotida.

Teška anemija se razvija tri do šest mjeseci nakon rođenja. Tijekom tog razdoblja se povećava sinteza lanaca  $\beta$ -globulina, odnosno hemoglobin se sintetizira iz fetalnog u adultni hemoglobin. (27) Hepatosplenomegalija se razvija zbog ekstramedularne hematopoeze i razaranja eritrocita. *Facies thalassemica* je karakterističan izgled pacijenata, prepoznatljiv po izbočenim kostima tjemena. Uzrok je hiperplazija koštane srži što dovodi do hipertrofije koštanog sustava. Veliki broj transfuzija uzrokuje razvitak sekundarne hemosideroze uz koju je prisutno oštećenje jetre i endokrinih žlijezda pa tako nastaje poremećaj u rastu, dijabetes i hipotireoidizam. Kronična hipoksija uzrokuje promjene u miokardu na način da nastaje aritmija, poremećaj funkcije srčanog mišića, plućna hipertenzija te kardijalna hemosideroza zbog odlaganja željeza u srčani mišić. (28) Bolesnici također imaju karakterističnu sivkastu boju kože zbog taloženja željeza u koži.

Za  $\beta$ -talasemiju major karakteristična je teška hipokromna mikrocitna anemija uz pojavu retikulocitoze. Broj eritrocita i koncentracija hemoglobina su sniženi te je osmotska rezistencija eritrocita povišena. (9) U razmazu periferne krvi vidljiv je povećan broj eritroblasta, tzv. target eritrociti te eritrociti s bazofilnim punktacijama. U svakodnevnoj laboratorijskoj praksi metoda izbora je elektroforeza hemoglobina u čijem nalazu je vidljiv normalan nalaz ili blago povećanje hemoglobina A<sub>2</sub>, skoro potpuni nedostatak hemoglobina A, a u najvećoj koncentraciji jest hemoglobin H. Naposljetku se ispituje koncentracija feritina u serumu.

Teška anemija treba se liječiti transfuzijama eritrocitnih pripravaka ovisno o kliničkoj slici, no najčešće je to period svakih 4 do 6 tjedana. Primjenom transfuzije sprječava se nastanak komplikacija te kao terapiju izbora koristi se kronična hipertransfuzijska terapija. Transfuzijom je potrebno održati koncentraciju hemoglobina između 90 i 100 g/L. Kao preventiva od opterećenosti organizma željezom primjenjuju se kelatori željeza. Mogu se primijeniti peroralno ili parenteralno u trenutku kad je vrijednost feritina viša od 1000  $\mu$ g/L ili kad se bolesnik liječi s 20 do 25 jedinica krvi. (28)

Uz transfuziju, trebala bi se primjenjivati folna kiselina u dozi od 5 mg dnevno. Moguće je privremeno smanjiti potrebu za transfuzijom ukoliko se učini splenektomija. Primjenjuje se kad je potreba za transfuzijama iznimno povećana te u stanju izrazite leukopenije i trombocitopenije. Prije operacije potrebno je cijepiti se protiv pneumokoka, meningokoka te hemofilusa influence. Primjenom hidroksikarbamida utječe se na pomak sinteze od adultnog prema fetalnom hemoglobinu, što smanjuje simptome i znakove bolesti. (28) No, ovaj učinak je reverzibilan te prestankom primjene hidroksikarbamida počinje se ponovno stvarati adultni hemoglobin. Najbolji terapijski učinak u čak 90% bolesnika postiže se transplantacijom alogenih krvotvornih matičnih stanica u bolesnika s HLA-podudarnim srodnim i nesrodnim davateljem. (29)

#### **4.1.3.3. Talasemija intermedija**

U talasemiji intermedija razvija se srednje teška anemija čija je koncentracija hemoglobina između 70 i 100 g/L, što ne zahtijeva potrebu za liječenjem transfuzijom. (30) Količina željeza je povišena te bolesnici razvijaju blagu hepatosplenomegaliju. Moguće je liječiti splenektomijom.

#### **4.1.3.4. Heterozigotna talasemija minor**

Heterozigotna talasemija minor je čest oblik  $\beta$ -talasemije. Kompletna krvna slika može biti normalna i bez simptoma ili se razvija vrlo blaga anemija s hipokromnim i mikrocitnim eritrocitima. Smanjeni su MCV, MCH i osmotska fragilnost. (9) Elektroforezom se vidi povećan udio hemoglobina A2. Nije potrebno liječiti. (27)

#### **4.1.3.5. Ostali oblici talasemija**

Hereditarna perzistencija fetalnog hemoglobina nastaje zbog perzistencije fetalnog hemoglobina, zbog delecije ili crossing overa u  $\beta$  i  $\gamma$ -globinskom lancu.  $\delta$ - $\beta$ -talasemija uzrokovana je poremećajem u stvaranju oba lanca. Zbog toga je povećano stvaranje fetalnog hemoglobina, koji čini 5 do 20% ukupnog hemoglobina. Zbog crossing overa između  $\beta$ -gena i  $\delta$ -gena nastaje hemoglobin Lepore. Bolest ima različite kliničke slike s obzirom na genotip. Ukoliko je homozigot, razvija se talasemija intermedija, a heterozigot će razviti talasemiju

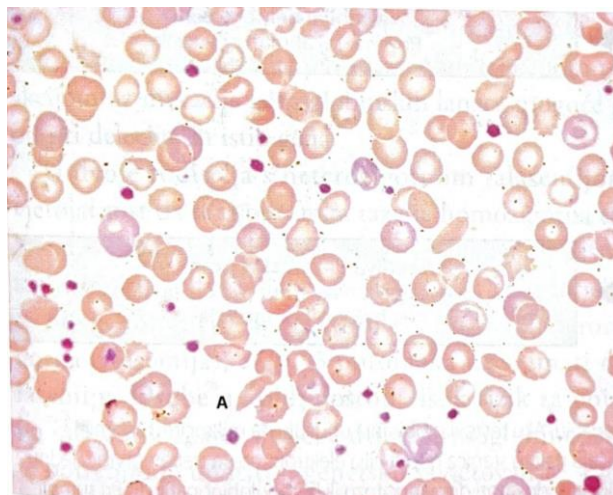
minor. (26) Navedene vrste talasemija dijagnosticiraju se uporabom gap-PCR-om. Ta metoda je brza i jednostavna za otkrivanje delecija, međutim ograničenje ove metode jest to što se moraju poznavati krajnje točke delecije kako bi se mogle stvoriti početnice. (26)

#### 4.1.4. Anemija srpolikih stanica

Anemija srpolikih stanica ili drepanocitoza ili hemoglobinopatija S karakterizirana je eritrocitima srpastog oblika. Razlog promjene oblika je zbog taloženja hemoglobina S unutar eritrocita u stanju hipoksije. (9) Morfološka promjena se odvija u mikrocirkulaciji, začepљуje male krvne žile i uzrokuje mikroinfarkt. (1)

Nasljedni je poremećaj uzrokovan točkastom mutacijom kojom se glutamat zamjenjuje s valinom.

Laboratorijski nalazi prikazuju snižen broj eritrocita, povišen broj eritrocita i MCV. U razmazu periferne krvi se mogu pronaći srpasti eritrociti, target-stanice te Howell-Jolly tjelešca. Životni vijek eritrocita je smanjen na 15 do 25 dana te je u koštanoj srži izražena hiperplazija. Elektroforeza hemoglobina prikazuje hemoglobin S u najvećem postotku (oko 80%), zatim hemoglobin F i najmanje hemoglobin A2. (9)



Slika 7. Periferna krv (MGG 1:1000): srpoliki eritrociti

(preuzeto iz: Labar B, Hauptmann E, ur. Hematologija, 5. izdanje. Zagreb: Školska knjiga, 2017.) (1)

Terapija izbora jest transfuzija eritrocita kojom se smanjuje proizvodnja srpastih eritrocita te se koncentracija hemoglobina S treba održati ispod 30%. Opterećenje željeza se liječi primjenom desferioksaminom, supkutano 5 ili 6 puta tjedno. Kao zamjena mogu se koristiti umjesto ili u kombinaciji i deferasirox i deferipron. (28) Primjena hidroksikarbamida se potiče



sinteza hemoglobina F, raste volumen eritrocita te se smanjuje začepljenje krvnih žila. (9) Drugi lijek koji inhibira nastanak srpastih eritrocita jest voxelator, povećanjem koncentracije hemoglobina. (31)

Moguća je alogena transplantacija bolesnikove koštane srži koja sadrži matične stanice koja proizvodi eritrocite s ispravnim genom za sintezu  $\beta$ -globina. Zahvat ima 95%-tnu uspješnost. (31)

#### **4.1.5. Hemoglobinopatije C, D i M**

Mutacija koja uzrokuje hemoglobinopatiju C jest zamjena lizina s glutaminskom kiselinom u  $\beta$ -globinskom lancu. Klinička slika prikazuje blagu hemolitičku anemiju te nalaz target stanica i mikrosferocita. U hemoglobinopatiji D zamijenjen je glutamin s glicinom. Klinička slika podsjeća na simptome anemije srpolikih stanica. Hemoglobinopatija M je rijetka nasljedna bolest. Uzrokovana je zamjenom tirozina s histidinom te je karakterizirana cijanozom. Smatra se da je hemoglobinopatija M vrsta methemoglobinemije jer se dvovalentni oblik željeza oksidira u trovalentni oblik željeza.

### **4.2. Stečene hemolitičke anemije**

#### **4.2.1. Imunosne hemolitičke anemije**

Postoji tri tipa protutijela koja mogu uzrokovati imunoheolitičku anemiju, a to su: a) stečena aloantitijela nakon transfuzije krvi ili trudnoće, b) protutijela aktivirana na tjelesnoj temperaturi i usmjerena su protiv vlastitih eritrocita, c) protutijela aktivirana na hladnoći, također usmjerena protiv vlastitih eritrocita.

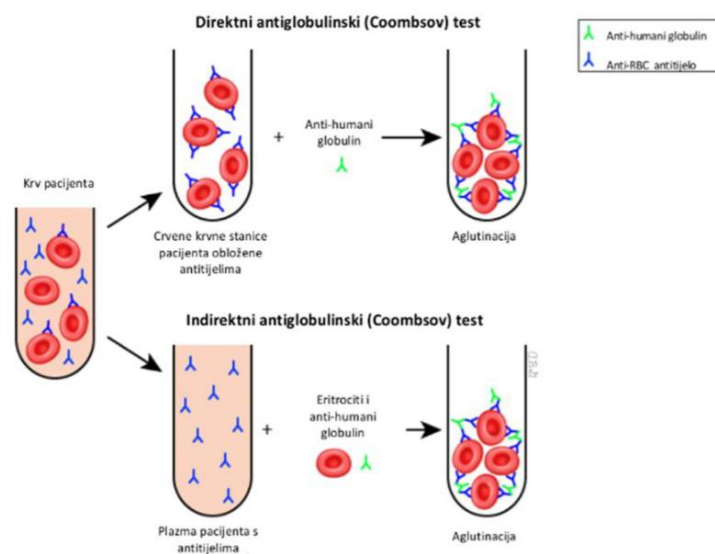
##### **4.2.1.1. Autoimunosne hemolitičke anemije**

Skraćeno AIHA, vrlo rijetka bolest koja nastaje kao posljedica gubitka tolerancije prema vlastitim antigenima. (34) AIHA može biti uzrokovana toplim ili hladnim autoantitijelima te ih još dijelimo na primarne ili idiopatske i na sekundarne AIHA-e. Sekundarna AIHA je češća od primarne. IgG, IgM i IgA su topla protutijela, dok je IgM hladno protutijelo.

Za dokazivanje imunoheolitičke anemije izvodi se Coombsov direktni antiglobulinski test (DAT). Izvodi se na principu povezivanja životinjskog protutijela i ljudskih serumskih proteina

koji se nalaze na membrani eritrocita. Njihovim spajanjem nastaje hemaglutinacija. Najčešće je to kompleks IgG protutijela i dijela komplementa C3.

Indirektni Coombsov test dokazuje jesu li prisutna slobodna antieritrocitna protutijela u serumu. Bolesnikov serum se pomiješa s nizom eritrocita na kojima se nalaze antigeni. Ukoliko dođe do reakcije između eritrocita i protutijela u serumu bolesnika, dodaju se anti-IgG protutijela te nastaje reakcija aglutinacije. Ako je DAT negativan, a indirektni Coombsov test pozitivan, ne radi se o autoimunosnoj bolesti, već je riječ o aloantitijelima koja se stečena u trudnoći ili transfuzijama.



Slika 8. Direktni i indirektni antiglobulinski test

(preuzeto iz: <https://zir.nsk.hr/islandora/object/biotechri%3A879/datastream/PDF/view>)

U autoimunosnoj hemolitičkoj anemiji uzrokovanoj toplim protutijelima protutijela najjače reagiraju s antigenima na eritrocitu na temperaturi 37°C. Glavni razlog zašto se to događa nije u potpunosti razjašnjen. Smatra se da kod primarne AIHA-e je autoantitijelo specifično za protein na eritrocitu, što sugerira da se radi o poremećaju imunološkog odgovora na autoantigen, dok se smatra da kod sekundarne AIHA-e autoantitijela nastaju kao posljedica poremećaja imunosne regulacije. Najčešće su IgG protutijela, sami ili s komplementom, usmjerena na antigene Rh sustava na eritrocitnoj površini. Zatim se obloženi eritrociti razgrađuju u makrofagima slezene. (32)

Zabilježen je porast ove vrste anemije u starijoj dobi kao posljedica primarne bolesti koja zahvaća imunosni sustav, poput autoimunosnih bolesti i limfoproliferativnih zloćudnih bolesti. Jasno su vidljivi laboratorijski pokazatelji hemolize, poput retikulocitoze, povišenih vrijednosti

LDH, indirektna hiperbilirubinemija, pozitivan direktni Coombsov test te u slučaju velike količine autoantitijela pozitivan je i indirektni Coombsov test.

Poznato je da bolesnici s blagim oblikom hemolize ne zahtijevaju terapiju, dok se liječenje sekundarne AIHA-e koncentrira na liječenje primarne bolesti. Liječenje bolesnika s težim oblikom AIHA-e započinje primjenom kortikosteroida te se doziranje titrira prema kliničkoj slici. Zapčinje se s 1 mg/kg/dan peroralnog prednizona ili intravenskog metilprednizolona te se terapija nastavlja dok koncentracija hemoglobina ne bude viša od 100 g/L. (32)

Preporučuje se, uz terapiju, uzimanje bisfosfonata, vitamina D, kalcija, folne kiseline te pratiti glikemiju. Oko 80% bolesnika uđe u remisiju nakon tri do četiri mjeseca, kad se terapija i može prekinuti. No, 40 do 50% bolesnika zahtijeva terapiju održavanja steroidima kako bi se vrijednost hemoglobina održala između 90 i 100 g/L. Preporuča se 15 mg ili manje prednizona, što je i najviše tolerabilna doza za dugoročnu terapiju. (32) Nije poznato koliki broj bolesnika će i ostati u remisiji nakon prekida uzimanja kortikosteroida. Najbolji učinak je vidljiv u primarne AIHA-e te u sekundarne uz sustavni eritemski lupus.

U slučaju neodgovarajuće terapije kortikosteroidima, kao drugi izbor liječenja se preporučuje splenektomija. Zahvat se može učiniti laparoskopski te je potrebno prije zahvata cijepiti se protiv pneumokoka, meningokoka i hemofilusa influence. (32) Postoperativno se primjenjuje tromboprofilaksa niskomolekularnim heparinom, a prekida se uzimanje kortikosteroida. (32)

Ukoliko bolesnik ne može učiniti splenektomiju ili boluje od neliječenog hepatitisa, primjenjuje se rituksimab u dozi od 375 mg/m<sup>2</sup> u četiri doze, 1., 8., 15. i 22. dan. (33) Ukoliko bolesnici nisu pozitivno reagirali na terapiju rituksimaba ili je nastupio relaps unutar godine dana od primanja lijeka, preporučuje se splenektomija. No, u slučaju da se relaps dogodio nakon dugogodišnje remisije, razmatra se ponovna primjena rituksimaba.

Imunosupresivi, poput azatioprina i ciklofosfamida, smatraju se kao zamjena za rituksimab ili steroide u slučaju kad bolest napreduje, dok se alemtuzumab pokazao vrlo toksičan. Transfuzija eritrocita se primjenjuje u slučaju teške anemije, kad je koncentracija hemoglobina manja od 60 g/L. (32)

Primarne AIHA-e imaju nepredvidljiv tijek, često praćen remisijama i recidivima, dok prognoza sekundarne AIHA-e ovisi o primarnoj bolesti. Sustavni eritemski lupus je najčešći uzrok sekundarne AIHA-e, koji pozitivno odgovara na terapiju steroidima, azatioprina i

ciklofosfamida. Sekundarna AIHA uz kroničnu limfocitnu leukemiju može biti uzrokovana lijekovima poput fludarabina. (32) Kao terapija mogu se koristiti steroidi, klorambucil, rituksimab u kombinaciji s ciklofosfamidom i prednisonom kad nema terapijskog odgovora na steroide. Sekundarna AIHA u sklopu non-Hodgkinova limfoma slabo dogovara na primjenu steroida, pa se preporuča liječenjem osnovne bolesti. Također, sekundarna bolest može nastati kao posljedica virusnih infekcija hepatitisom A, C i E te infekcija citomegalovirusom. (32)

Autoimunsona hemolitička anemija uzrokovana hladnim protutijelima karakterizirana je najsnažnijom reakcijom protutijela i antigena na eritrocitima pri temperaturi nižoj od 37°C. Osnovni uzrok, kao i kod AIHA-e uzrokovane toplim protutijelima, nije razjašnjen. Smatra se da su sve AIHA-e uzrokovane hladnim protutijelima sekundarne AIHA-e. Najčešća primarna bolest je limfoproliferativna bolest, a rjeđe infekcija virusima, autoimunosne bolesti i lijekovi. (Michel) Hladni aglutinini su IgM autoantitijela koja aglutiniraju eritrocite na temperaturi između 0 i 5°C. (33) Stupanj hemolize ovisi o titru protutijela u serumu, afinitetu za eritrocite, o temperaturi okoliša te o najvišoj mogućoj temperaturi pri kojoj protutijela mogu uzrokovati aglutinaciju.

Bolest se dijeli na primarnu i sekundarnu. Primarna kronična bolest hladnih aglutinina je definirana u bolesnika s IgM monoklinalnom gamopatijom ili s limfomom bez kliničkih znakova i simptoma, ali uz infiltraciju koštane srži. Sekundarna bolest se pojavljuje kao komplikacija infektivne mononukleoze (Epstein-Barr virusom) i infekcije s mikoplazma pneumonije te u bolesnika s preegzistirajućim limfoproliferativnim bolestima. (34)

Anemija može biti blaga do umjerena, češće je izraženija u hladnijim periodima. Hladni aglutinini se vežu za eritrocite, što uzrokuje intravaskularnu aglutinaciju pri hlađenju krvi u perifernoj cirkulaciji. Klinički se manifestira cijanotičnim ekstremitetima, ušima i nosom. Splenomegalija se može razviti u primarnom obliku AIHA-e, međutim splenektomija nema terapijski učinak, dok se od lijekova primjenjuju klorambucil, ciklofosfamid te rituksimab. Ukoliko bolesnik ne reagira na primjenu rituksimaba, preporuča se uzimanje bortezomiba i ekulizumaba. (32) Akrocijanoza se liječi utopljavanjem bolesnika. U sklopu transfuzijske terapije, primjenjuju se oprani eritrociti zbog moguće akutne hemolize nakon transfuzije. Prognoza za primarne bolesti je nakon liječenja dobra, dok je kod sekundarnih bolesti potrebno liječenje primarne limfoproliferativne bolesti čime se onda i liječi AIHA uzrokovanih hladnim protutijelima.

#### 4.2.2. Neimunosne hemolitičke anemije

Neimunosne hemolitičke anemije mogu biti uzrokovane fizikalnim, biološkim i kemijskim čimbenicima. Fizikalni čimbenici mehaničkom traumom mogu uzrokovati hemolizu unutar krvnog toka na tri različita načina: a) oštećenjem eritrocita prolaskom kroz uske krvne žile na površini tijela ispod kojih se nalazi tvrda podloga, npr. kost, b) oštećenjem eritrocita prolaskom kroz umjetne srčane zalistke i c) kad nataloženi fibrin unutar stjenki krvnih žila oštećuje eritrocite.

Za sindrom fragmentacije eritrocita karakteristična je fragmentacija eritrocita te hemolitička anemija. Anemija se također naziva i mikroangiopatska hemolitička anemija jer se proces odvija u malom krvnom toku. Eritrociti imaju oblik shistocita te nalikuju na kacigu. Kad je broj shistocita u razmazu periferne krvi veći od 1% ili više ili jednako od 2 shistocita u vidnom polju povećanja od 1000 puta, dokazuje se nalaz mikroangiopatske hemolitičke anemije. (36)

Ovaj sindrom je praćen bolestima, poput diseminirane intravaskularne koagulacije, trombotične trombocitopeniče purpure i hemolitično-uremičnog sindroma. (36) Sindrom je često pridružen zloćudnim tumorima, prati neadekvatnu funkciju srčanih valvula, postavljanje šantova u krvni optjecaj, primjenu citostatika, imunosupresivnih i antiagregacijskih lijekova.

Fragmentacije eritrocita događaju se zbog ozljeda krvnih žila jer tzv. sile striženja režu eritrocite poput noža. O bolesti koja dovodi do fragmentacije eritrocita će ovisiti i klinička slika. Prisutna je anemija s retikulocitozom i fragmentirani eritrociti u obliku shistocita. Hemoliza nastaje u 10% bolesnika koji imaju umjetni mitralni ili aortalni zalistak. Prolazak struje krvi preko mehaničkog zaliska uzrokuje oštećenje eritrocita. U bolesnika s aortalnim umjetnim zalistkom je hemoliza izraženija zbog većeg gradijenta tlaka. Aortna stenoza također može uzrokovati hemolizu. Uz retikulocitozu i fragmentirane eritrocite, klinički pokazatelji hemolize su smanjene vrijednosti haptoglobina, porast aktivnosti LDH-a, hemoglobinemija i hemoglobinurija. (36)

Liječenje se koncentrira na liječenje primarne bolesti koja je uzrokovala fragmentaciju eritrocita. Ukoliko je uzrok sepsa, liječi se antibioticima, trombotična trombocitopenična purpura se liječi izmjenom plazme te promjena srčane umjetne valvule kad se želi terapijski primijeniti transfuzija eritrocita.

„Marš“ hemoglobinurija je primjer mehaničkog oštećenja o tvrdu podlogu. Pojavljuje se u mladih muškaraca nakon intenzivnog tjelesnog napora, a simptom je tamni urin netom nakon

tjelesne aktivnosti. (37) Ovaj poremećaj je objašnjen tako što eritrociti tijekom naporne tjelesne aktivnosti prolaze kroz uske krvne žile stopala i potkoljenice koje su stisnute uskom obućom. Pri udarcu stopala o tvrdu podlogu nastane mehaničko oštećenje eritrocita, što za posljedicu ima hemoliza s kasnijom hemoglobinurijom. Simptomi se smiruju prestankom mehaničke traume, simptomi prolaze spontano te nije potrebna terapija.

Za hemolitičku anemiju uzrokovana biološkim čimbenicima se podrazumijeva da mnoge infekcije mogu uzrokovati intravaskularnu hemolizu. To se može dogoditi izravnom invazijom infektivnog mikroorganizma, kao što su malarija, babezioza i bartoneloza. Zatim, mikroorganizmi poput *Clostridium perfringens* ima sposobnost otpuštanja hemolitičkih toksina čime se razara lecitin unutar membrane eritrocita te nastaje hemoliza s razvojem akutnog bubrežnog i jetrenog zatajenja. Naposljetku, mogu nastati autoantitijela protiv antigena eritrocita. Virusi poput Epstein-Barr virusa ili virusa herpes simplex mogu se povezati s nastankom hemolitičke anemije. (38) Ozljede nastale ubodom ose, škorpiona ili pauka također mogu rezultirati teškom hemolizom, dok ugriz zmije rijetko uzrokuje hemolizu.

Hemolitička anemija koja je uzrokovana kemijskim čimbenicima znači da se posljedično razvila nakon otrovanja olovom, arsenom ili solima bakra npr. zbog korištenja tekućina s visokom koncentracijom bakrenih soli tijekom hemodijalize. Hemolizu mogu također uzrokovati natrijev te kalijev klorat.

## 5. ZAKLJUČAK

Detaljnim pregledom i razdiobom anemija na hipoproliferacijske, hemolitičke anemije te anemije koja nastaju poremećajem u sazrijevanju, možemo zaključiti kako je vrlo bitno poznavati mehanizme nastanka pojedine anemije te moguće poremećaje u cilju njihovog dijagnosticiranja te ispravnog liječenja.

Počevši od klasičnog pregleda razmaza periferne krvi i analiziranja kompletne krvne slike, modernizacija je u današnje vrijeme omogućila uporabu i drugih suvremenijih tehnika, poput elektroforeze, elektroforeze s izoelektričnim fokusiranjem, lančana reakcija polimeraze, te osmotske rezistencije. Navedene metode i mnoge druge nam pomažu u svakodnevnom laboratorijskom radu kako bi se mogla diferencirati dijagnoza jednog poremećaja od drugog.

Mnoge anemije nastaju kao sekundarna bolest, no moguće je da je anemija i sama za sebe te da ju prate neki poremećaji. U svakom slučaju, od velike je važnosti poznavati simptomatologiju pojedine bolesti i koristiti adekvatne laboratorijske testove za postaviti dijagnozu kako bi se mogao smanjiti intenzitet anemije ili liječiti primarnu bolest pa i samim time izliječiti anemiju kao sekundarnu bolest.

Nedostatak željeza se nadoknađuje u prvom redu prehranom, zatim u umjerenim i težim oblicima anemije primjenjuje se intravensko ili parenteralno željezo. Moguća je primjena kortikosteroida, a u slučaju razvitka splenomegalije zbog ekstravaskularne hemolize, preporuča se operativni zahvat splenektomija.

## 6. POPIS LITERATURE

1. Labar B, Hauptmann E, ur. Hematologija, 5. izdanje. Zagreb: Školska knjiga, 2017.
2. Yao, C. J., Du, W., Zhang, Q., Zhang, F., Zeng, F., & Chen, F. P. (2013). Fanconi anemia pathway—the way of DNA interstrand cross-link repair. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 68(1), 5-11.
3. Scheinberg, P., & Young, N. S. (2012). How I treat acquired aplastic anemia. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 120(6), 1185-1196.
4. Pulanić, D., Desnica, L., Boban, A., Ostojić Kolonić, S., Valković, T., & Gverić-Krečak, V. (2020). Hrvatske smjernice za dijagnostiku i liječenje stečene aplastične anemije u odraslih. *Bilten Krohema*, 12(1), 42-7.
5. Scheinberg, P. (2012). Aplastic anemia: therapeutic updates in immunosuppression and transplantation. *Hematology 2010, the American Society of Hematology Education Program Book*, 2012(1), 292-300.
6. Cullis, J. O. (2011). Diagnosis and management of anaemia of chronic disease: current status. *British journal of haematology*, 154(3), 289-300.
7. Čulić S, Nakić M, Aurer I, ur. Sideropenična anemija. Zagreb: Medicinska naklada, 2006.
8. Radman I, Vodanović M, Mandac – Rogulj I, i sur. Smjernice za dijagnostiku i liječenje anemije uslijed manjka željeza. *Liječnički Vjesnik 2019*, 141: 1- 13,
9. Premužić-Lampič, M. Hematologija: klinička i laboratorijska. Medicinska naklada, 2000.
10. Roy, C. N. (2010). Anemia of inflammation. *Hematology 2010, the American Society of Hematology Education Program Book*, 2010(1), 276-280.
11. Schilling, R. F. (1991). Anemia of chronic disease: a misnomer. *Annals of internal medicine*, 115(7), 572-573.
12. Hogan, G. R., & Jones, B. (1970). The relationship of koilonychia and iron deficiency in infants. *Journal of Pediatrics*, 77, 1054-1057.
13. Sutton, D. R., Stewart, J. S., Baird, I. M., & Coghill, N. F. (1970). " Free" iron loss in atrophic gastritis, post-gastrectomy states, and adult coeliac disease. *The Lancet*, 296(7669), 387-390.
14. Drüeke, T. B., Barany, P., Cazzola, M., Eschbach, J. W., Grützmacher, P., Kaltwasser, J. P., ... & Van Wyck, D. (1997). Management of iron deficiency in renal anemia: guidelines for the optimal therapeutic approach in erythropoietin-treated patients. *Clinical nephrology*, 48(1), 1-8.
15. Hallberg, L., Hôgdahl, A. M., Nilsson, L., & Rybo, G. (1966). Menstrual blood loss—a population study: variation at different ages and attempts to define normality. *Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica*, 45(3), 320-351.
16. Swensen, A. R., Harnack, L. J., & Ross, J. A. (2001). Nutritional assessment of pregnant women enrolled in the Special Supplemental Program for Women, Infants, and Children (WIC). *Journal of the American Dietetic Association*, 101(8), 903-908.
17. Roche, M., & Layrissé, M. (1966). The nature and causes of" hookworm anaemia.".
18. Brise H, Halberg L. Iron absorption studies II. *Acta Med Scand* 1962; 171:7-73
19. Landucci, G., & Frontespezi, S. (1987). Treatment of iron deficiency conditions in blood donors: controlled study of iron sulphate versus iron protein succinylate. *Journal of international medical research*, 15(6), 379-382.



20. Wickramasinghe, S. N. (1981). The deoxyuridine suppression test: a review of its clinical and research applications. *Clinical & Laboratory Haematology*, 3(1), 1-18.
21. Cattan, D. (2011). Pernicious anemia: what are the actual diagnosis criteria?. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 17(4), 543.
22. Stabler, S. P. (2013). Vitamin B12 deficiency. *New England Journal of Medicine*, 368(2), 149-160.
23. King, M. J., & Zanella, A. (2013). Hereditary red cell membrane disorders and laboratory diagnostic testing. *International journal of laboratory hematology*, 35(3), 237-243.
24. Howes, R. E., Battle, K. E., Satyagraha, A. W., Baird, J. K., & Hay, S. I. (2013). G6PD deficiency: global distribution, genetic variants and primaquine therapy. *Advances in parasitology*, 81, 133-201.
25. Zanella, A., Fermo, E., Bianchi, P., Chiarelli, L. R., & Valentini, G. (2007). Pyruvate kinase deficiency: the genotype-phenotype association. *Blood reviews*, 21(4), 217-231.
26. Clark, B. E., & Thein, S. L. (2004). Molecular diagnosis of haemoglobin disorders. *Clinical & Laboratory Haematology*, 26(3), 159-176.
27. Kelly N. Thalassemia. *Pediatrics in Review*. 2012;33(9):434-5
28. Howard, J., & Davies, S. C. (2007). Haemoglobinopathies. *Paediatrics and Child Health*, 17(8), 311-316.
29. Payen, E., & Leboulch, P. (2012). Advances in stem cell transplantation and gene therapy in the  $\beta$ -hemoglobinopathies. *Hematology 2010, the American Society of Hematology Education Program Book*, 2012(1), 276-283.
30. Musallam, K. M., Taher, A. T., & Rachmilewitz, E. A. (2012).  $\beta$ -thalassemia intermedia: a clinical perspective. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2(7), a013482.
31. Tisdale, J. F., Thein, S. L., & Eaton, W. A. (2020). Treating sickle cell anemia. *Science*, 367(6483), 1198-1199.
32. Michel, M. (2011). Classification and therapeutic approaches in autoimmune hemolytic anemia: an update. *Expert review of hematology*, 4(6), 607-618.
33. King, K. E., & Ness, P. M. (2005, July). Treatment of autoimmune hemolytic anemia. In *Seminars in hematology* (Vol. 42, No. 3, pp. 131-136). WB Saunders.
34. Semple, J. W., & Freedman, J. (2005, July). Autoimmune pathogenesis and autoimmune hemolytic anemia. In *Seminars in hematology* (Vol. 42, No. 3, pp. 122-130). WB Saunders.
35. Serventi-Seiwerth, R., Mikulić, M., Mrić, M., Grubić, Z., Bojanić, I., Štingl, K., & Labar, B. (2011). Allogeneic stem cell transplantation from matched unrelated donor. *Medicina Fluminensis: Medicina Fluminensis*, 47(4), 381-388.
36. Nand, S., Bansal, V. K., Kozeny, G., Vertuno, L., Remlinger, K. A., & Jordan, J. V. (1985). Red cell fragmentation syndrome with the use of subclavian hemodialysis catheters. *Archives of internal medicine*, 145(8), 1421-1423.
37. Palmer, R. A., & Mitchell, H. S. (1943). March haemoglobinuria. *Canadian Medical Association Journal*, 49(6), 465.
38. Beutler, E. (1995). Hemolytic anemia due to infections with microorganisms. *Williams W, Beutler E, Erslev AJ y Lichtman MA. Hematology. Nueva York McGraw-Hill*, 3.