

## DIJAGNOSTIČKI PRISTUP DJETETU S ANEMIJOM

KAROLINA MALIĆ TUDOR, VIŠNJA ARMANDA, DUBRAVKA KULJIŠ, MARTIN DEMO\*

*Anemija predstavlja smanjenje broja eritrocita ili koncentracije hemoglobina u volumnoj jedinici krvi, na vrijednosti manje od 2 standardne devijacije za dob i spol. Anemije prema patofiziologiji možemo podijeliti na: anemije zbog smanjenog stvaranja eritrocita (izolirana aplazija crvene loze, sideroblastična anemija, Fanconijeva anemija, prirođena ili stečena aplastična anemija), anemije zbog infiltracije koštane srži (osteopetroza, bolesti nakupljanja, maligne bolesti), deficitarne anemije (manjak željeza, vitamina B12, folne kiseline), diseritropoetske anemije (kronične bolesti i infekcije, kroničnog bubrežnog zatajenja, endokrinih bolesti, mijelofistične anemije), zbog povećanog razaranja eritrocita (korpuskularne: membranopatije, enzimopatije, hemoglobinopatije; ekstrakorpuskularne: imune i neimune) te na posthemoragijske anemije. Osnovne pretrage kojima započinjemo dijagnostičku obradu djeteta s anemijom su vrijednosti kompletne krvne slike, eritrocitne konstante (MCV, MCH i MCHC), RDW, Rtc, izgled stanica u razmazu periferne krvi. Anemije zbog smanjenog stvaranja eritrocita utvrđujemo analizom aspirata/ biopata koštane srži, kariogramom, molekularnom dijagnostikom i analizom DNA (next gene sequencing). Deficitarne anemije ispituje određujući serumske vrijednosti Fe, UIBC, TIBC, feritina, topljivih serumskih transferinskih receptora, razine vitamina B12 i folne kiseline. Hemolitičke anemije utvrđujemo Coombsovim testom, serumskim vrijednostima bilirubina, LDH, feritina i haptoglobina. Diferentije dijagnostičke metode, ponekad neophodne u postavljanju konačne dijagnoze, dostupne su u specijaliziranim laboratorijima.*

Deskriptori: ANEMIJA, DIJETE, LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

### DIJAGNOSTIČKI PRISTUP ANEMIJAMA

#### Uvod

Anemija predstavlja smanjenje broja eritrocita ili koncentracije hemoglobina u volumnoj jedinici krvi, na vrijednosti manje od 2 standardne devijacije za dob i spol (1). Naziv anemija potječe od grčkih riječi an-negacija i haima-krv, a znači beskrvnost. Eritrociti (Er) nastaju u koštanoj srži procesom eritropoeze gdje diferencijacijom pluripotentne matične stanice nastaju unipotentne eritroidne progenitorske stanice: BFU-E (burst

forming unit - erythroid) i CFU-E (colony forming unit - erythroid), koje na sebi imaju receptore za glavni regulator eritropoeze eritropoetin (EPO) te površinske biljege eritroidne loze: glikoforin A, Rh i ABH antigene. Stadiji u razvoju eritrocita su: proeritroblast, bazofilni eritroblast, polikromatofilni i acidofilni eritroblast, retikulocit i zreli eritrocit. Dozrijevanjem stanice postepeno gube jezgru, a povećavaju sintezu hemoglobina, koja započinje u stadiju bazofilnog eritroblasta. Metali (željezo, kobalt, bakar, cink), vitamin B12 i folna kiselina su neophodni za normalnu eritropoezu (1, 2). Osnovna funkcija eritrocita je doprema kisika svim tkivima radi zadovoljenja njihovih metaboličkih potreba. Stoga anemija uzrokuje tkivnu hipoksiju (1, 2).

- povećanog razaranja eritrocita;
- zbog krvarenja.

#### Anemije zbog smanjenog stvaranja eritrocita

Anemije koje nastaju zbog kongenitalne ili stečene insuficijencije koštane srži posljedica su oštećenja prekursor-skih stanica eritropoeze.

*Diamond Blackfan sindrom (PRCA-pure red cell aplasia)* je autosomno dominantno (AD) nasljedna ribosomopatija, uzrokovana mutacijom DBA1 gena na 19q13.2 kromosomu. Defektna biosinteza ribosoma dovodi do nakupljanja ribosomalnog proteina koji se veže za p53 te aktivacijom BAX proteina, citokroma C i sustava kaspaza dovodi do apoptoze matičnih stanica eritropoeze. Očituje se normocitnom, normokromnom anemijom u dobi od 3-4 mjeseca života, a 50% oboljelih imaju anomalije poput mikrocefalije, hipertelorizma, trifalangealnog, udvostručenog ili rascijepljenog palca,

\*Zavod za hematologiju, onkologiju, kliničku imunologiju i genetiku  
Klinika za dječje bolesti KBC Split

Adresa za dopisivanje:  
Karolina Malić Tudor, dr. med., Specijalist pedijatar, Subspecijalist dječje hematologije i onkologije  
Zavod za dječju hematologiju, onkologiju, imunologiju i medicinsku genetiku  
Klinika za dječje bolesti KBC, Split  
21000 Split, Spinčićeva 1  
E-mail: malictudor.k@gmail.com

#### Podjela anemija

Anemije prema patofiziologiji možemo podijeliti na (Tablica 1):

- anemije zbog smanjenog stvaranja eritrocita;

Tablica 1.  
Podjela anemija

1. Anemije zbog smanjenog stvaranja eritrocita:		2. Anemije zbog povećanje razgradnje eritrocita:	
a) Anemije zbog insuficijencije koštane srži:		a) Korpuskularne	
Kongenitalne		Membranopatije	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- aplastična anemija</li> <li>- Aase's sindrom</li> <li>- izolirana aplazija crvene loze (PRCA-pure red cells aplasia) ili Diamond Blackfan sindrom</li> <li>- pancitopenije (Fanconijeva anemija, Dyskeratosis congenita)</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>- sferocitoza</li> <li>- piropoikilocitoza</li> <li>- eliptocitoza</li> <li>- stomatocitoza</li> <li>- akantocitoza</li> </ul>	
Stečene		Hemoglobinopatije	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Idiopatska aplastična anemija</li> <li>- Tranzitorna eritroblastopenija</li> <li>- Infekcija ParvoB19 virusom</li> <li>- Oštećenja koštane srži lijekovima, toksinima, zračenjem, infekcijama</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>- kvalitativne (drepanocitoza)</li> <li>- kvantitativne (<math>\alpha</math>- i <math>\beta</math>- talasemije)</li> </ul>	
		Enzimopatije	
		<ul style="list-style-type: none"> <li>- manjak glukoza-6-fosfodehidrogenaze</li> <li>- manjak piruvat-kinaze</li> </ul>	
b) Anemije zbog infiltracije koštane srži		b) Ekstrakorpuskularne	
Benigne		Imune	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- osteopetroza</li> <li>- metaboličke bolesti nakupljanja</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>- izoimune</li> <li>- autoimune</li> </ul>	
Maligne		Neimune	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- primarne (leukemije, mijelofibroza)</li> <li>- sekundarne (neuroblastom, limfom)</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>- mehanička</li> <li>- termalna ili oksidativna oštećenja</li> <li>- eritrocita</li> <li>- infektivna</li> <li>- paroksizmalna noćna hemoglobinurija</li> </ul>	
c) Diseritropoetske anemije			
<ul style="list-style-type: none"> <li>- kronične bolesti</li> <li>- kronične infekcije</li> <li>- kronične bolesti bubrega</li> <li>- bolesti jetre</li> <li>- bolesti vezivnog tkiva</li> <li>- malnutricijske</li> <li>- sideroplastične anemije</li> <li>- endokrini poremećaji</li> <li>- trovanje olovom</li> </ul>			
d) Deficitarne anemije			
<ul style="list-style-type: none"> <li>- manjak željeza</li> <li>- manjak vitamina B12</li> <li>- manjak folne kiseline</li> <li>- manjak cinka, bakra</li> <li>- malapsorpcija</li> </ul>			
		3. Anemije zbog povećanog gubitka eritrocita krvarenjem.	

niski rast. Liječi se transfuzijama ozračenih deplazmatiziranih eritrocita (DE), kortikosteroidima i alogenom transplantacijom krvotvornih matičnih stanica (HSCT). Oboljeli imaju povećani rizik

razvoja akutne mijeloične leukemije, mijelodisplazije ili limfoma.

*Aase's sindrom* je autosomno recesivno (AR) nasljedna ribosomopatija, ne-

poznate etiologije, obilježena anemijom i skeletnim anomalijama.

*Sideroplastična anemija* je mitohondropatija s prirođenim ili stečenim po-

remećajem sinteze hema. Kongenitalni oblik se javlja već u dojenačkoj, a blaži oblici u odrasloj dobi. Nastaje zbog AD nasljedne mutacije ALAS1 gena koji kodira pretvorbu glicina i sukcinil Co-A u  $\delta$ -aminolevulinisku kiselinu ili ALAS2 gena na X kromosomu, uslijed čega je onemogućeno stanično preuzimanje Fe od kompleksa Fe-transferin. Unatoč eritroidnoj hiperplaziji u koštanoj srži, eritropoeza je inefektivna, s normocitnom ili mikrocitnom anemijom i prstenastim sideroplastima. Stečeni oblik pripada mijelodisplazijama (RARS - refractory anaemia with ringed sideroblasts).

*Fanconijeva anemija* je AR nasljedni poremećaj uzrokovan mutacijom FANCA gena, na brojnim kromosomima (1,3,6,9,13, X). Glavno obilježje je povećana lomljivost kromosoma, arest staničnog ciklusa u G2/M fazi te Fas-om posredovana apoptoza matičnih stanica koštane srži. Manifestira se od 3-14 godine života. Kod oboljelih su prisutne hiperpigmentacija trupa, vrata i intertriginoznih područja, café-au-lait pjege, niski rast, "Fanconijevo" lice s malim očima, mikrocefalijom, epikantusom, anomalije palca, spolnih organa i mokraćnog sustava. Liječi se transfuzijama ozračenih DE, kortikosteroidima i HSCT-om. 10% oboljelih razvije akutnu mijeloidnu leukemiju.

*Dyskeratosis congenita* je X-vezani nasljedni poremećaj, nastao zbog mutacije DKC1 gena, koji uzrokuje smanjenu aktivnost telomeraza, enzima koji popravljaju oštećenja krajnjih dijelova kromosoma, nastalih pri mitozu. Uslijed nemogućnosti popravka dolazi do skraćivanja duljine telomera i smanjivanja broja progenitorskih stanica eritropoeze te stanica bazalnog sloja kože i oralne sluznice. Poremećaj je obilježen hiperpigmentacijom vrata i gornjeg dijela trupa, displastičnim noktima, leukoplakijom oralne sluznice te povećanom incidencijom leukemija, limfoma i karcinoma epitela. HSCT je jedina djelotvorna terapija.

*Kongenitalna diseritropoetska anemija* se dijeli na: tip I (AR mutacija CDAN1 gena), tip II (AR mutacija CDAN2 gena- HEMPAS) i tip III (AD mutacija KIF23 gena). Obilježena je hipercelularnom koštanoj srži s inefek-

tivnom eritropoezom, zbog preuranjene imtramedularne apoptoze matičnih stanica. Liječi se HSCT-om.

*Idiopatska aplastična anemija* najčešća je stečena insuficijencija koštane srži, nepoznate etiologije. Teški oblik je definiran prisutnošću <25% matičnih krvotvornih stanica u koštanoj srži, teškom granulocitopenijom (ABN <500), trombocitopenijom (Tr <20 G/L) te retikuloцитopenijom (Rtc <20%). Posljedica je aktivacije citotoksičnih T limfocita koji se Fas- ligandom, pomoću IL-2 i  $\gamma$ -IFN, vežu za Fas-receptor na membrani matične stanice, dovodeći do njene apoptoze. Zbog nastale pancitopenije uz slabost, bljedoću i umor, prisutna je povećana sklonost infekcijama te kožnim i sluzničnim krvarenjima. Liječi se imunosupresivnom terapijom (antitimocitni globulin, kortikosteroidi, G-CSF, ciklosporin), HSCT-om te potpornim liječenjem (transfuzijama ozračenih krvnih pripravaka, kelirajućim lijekovima, antibioticima, antifungicima).

*Tranzitorna eritroblastopenija* je najčešća stečena, prolazna, imunološki posredovana eritroidna aplazija. Najčešće se javlja kod djece od 6 mj. do 4 godine života, 1-2 mjeseca nakon preboljele virusne infekcije. IgG antitijela stvorena u virusnoj infekciji vežu se, zbog molekularne mimikrije, za epitope na eritroidnim prekursorskim stanicama, uzrokujući prolaznu inhibiciju eritropoeze s 0% Rtc. Liječi se transfuzijama DE.

*Parvovirus B19* vežući se na "P" Ag na membrani eritroidnih stanica, dovodi do tranzitorne eritroblastopenične krize zbog zastoja u maturaciji na razini proeritroblasta, posebice u nasljednim hemolitičkim anemijama, u kojih može uzrokovati tzv. aplastičnu krizu, s Rtc 0%.

Ostale stečene eritroblastopenije nastaju oštećenjem matičnih stanica u koštanoj srži infekcijama, lijekovima (kemoterapijom), zračenjem ili imunološkim poremećajima (1, 3-5).

Anemije zbog infiltracije koštane srži (mijeloftizične anemije)

Kod *osteopetroze* ili bolesti mramornih kostiju zbog prekomjernog rasta

koštanog tkiva dolazi do obliteracije medularnog prostora, uz progresivnu pancitopeniju i ekstramedularnu hematopoezu s hepatosplenomegalijom. Terapija je HSCT.

*Metaboličke bolesti nakupljanja* poput Gaucherove bolesti (manjak  $\beta$ -glukocerebrozidaze), Niemann-Pickove bolesti (manjak sfingomijelinaze), cistinoze, neuronalne ceroidne lipofuscinoze, uzrokuju infiltraciju koštane srži monocitima i makrofagima ispunjenim nerazgradivim metabolitima te pancitopeniju. Liječe se nadomjesnom enzimatskom terapijom ili HSCT-om.

Infiltracija koštane srži nastaje i u primarnim *malignim bolestima* samog krvotvornog tkiva, kao što su mijelodisplazije (preleukemije) i leukemije ili sekundarnom zahvaćenošću kod limfoma ili neuroblastoma (1, 2).

#### Diseritropetske anemije

Kod *kroničnih infekcija* nastaje citokinima posredovan poremećaj metabolizma željeza. Upalni citokini (IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ) potiču sintezu hepcidina, negativnog regulatora apsorpcije željeza. Hepcidin veže i blokira ferroportin te tako onemogućava transmembranski prijenos željeza iz stanice u međustanični prostor. Željezo ostaje zarobljeno u stanicama monocitno-makrofagnog sustava i ne može se iskoristiti za sintezu Er. Posljedično nastaje normocitna, normokromna anemija, uz sniženo Fe, a povišen feritin. Liječi se etiološki i transfuzijom DE ukoliko je potrebno.

Kod *kronične bolesti bubrega* normocitna, normokromna anemija nastaje zbog smanjene sinteze eritropoetina, zbog djelovanja uremičnih toksina koji skraćuju životni vijek Er uzrokujući blagu hemolitičku anemiju i inhibiraju eritropoezu te zbog gubitaka Er i folata postupkom hemodijalize. Liječi se primjenom rekombinantnog eritropoetina (rhu-EPO), folnom kiselinom i transfuzijama DE.

*Bolesti jetre*, osim poremećaja koagulacije, mogu uzrokovati anemiju. Ciroza jetre dovodi do fragmentacije i skraćenog životnog vijeka Er, a varikozni-

teti jednjaka do postehemoragijske anemije. Wilsonova bolest i nakupljanje Cu u Er uzrok je kronične hemolitičke anemije, a virusni hepatitis može uzrokovati aplastičnu anemiju.

Kod *bolesti vezivnog tkiva i autoimunih bolesti* posredovanjem upalnih citokina ( $\gamma$ -IFN, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-5) nastaje inhibicija lučenja eritropoetina i smanjenje eritropoeze, povećana hemofagocitoza i povećano lučenje hepcidina. Anemija je normocitna, normokromna, s deficitom željeza i povišenim feritinom.

Hormoni hipofize, štitnjače, nadbubrežne žlijezde i gonada utječu na eritropoezu. Stoga, kod *endokrinih poremećaja* poput Cushingovog sindroma, hipotiroidizma, kongenitalne adrenalne hiperplazije nastaje normocitna, normokromna anemija. Liječi se nadomjesnom hormonskom terapijom.

*Trovanje olovom* uzrok je oštećenja i precipitacije mitohondrija u Er u obliku bazofilnih punktacija te mikrocitne, hipokromne anemije (1, 2).

#### Deficitarne anemije

*Sideropenična anemija* (IDA- iron deficiency anaemia) je najčešća hematološka bolest u djece i najčešća deficitarne anemija. Posljedica je nedovoljnog unosa željeza hranom, povećanih potreba za Fe tijekom rasta i intenzivnog bavljenja sportom, povećanih gubitaka Fe krvarenjem ili poremećene resorpcije Fe uzrokovane enteropatijom. Željezo je neophodno za održavanje eritropoeze, ali i za normalan razvoj i funkcioniranje imunskog i neurološkog sustava. Liječi se peroralnim preparatima željeza (1, 6-8).

IRIDA (iron refractory iron deficiency anaemia) je AR mutacija TM-PRSS6 gena na 6. kromosomu koji kodira sintezu HFE jetrenog proteina (human homeostatic iron regulator protein). HFE protein regulira sintezu hepcidina. Mutacija dovodi do povećanog stvaranja hepcidina, smanjene resorpcije Fe i mikrocitne, hipokromne anemije. Liječi se parenteralnom primjenom pripravka željeza (9).

*Megaloblastična anemija* nastaje zbog smanjenog unosa vitamina B12 ili folne kiseline ili rijetkih prirodnih poremećaja njihovog metabolizma. Smanjen unos vitamina B12 vidamo kod laktoovo vegetarijanaca, vegana i malnutricije. Deficit folata posljedica je predugog kuhanja zelenog povrća, prehrane kozjim mlijekom, dugotrajnog gladovanja, lijekova (hidroksiurea, citarabin, metotreksat) ili povećanih potreba kod kroničnih hemolitičkih anemija. Obilježje ove anemije je poremećaj sinteze DNA, nesrazmjer u razvoju jezgre i citoplazme gdje je jezgra nezrelija (nukleo-citoplazmatska disocijacija), prisutni megaloblasti u koštanoj srži i makrocitna anemija. Liječi se nadomjesnom terapijom, uz napomenu da su kod prirodnih poremećaja potrebne vrlo visoke doze vitamina B12(1.10).

*Bakar* (Cu) je važan sastojak brojnih enzima koji sudjeluju u transportu elektrona i Fe te oksidativnoj fosforilaciji. Njegov nedostatak nastaje oštećenjem probavnog sustava kirurškim zahvatom, kod prekomjernog unosa cinka (Zn), malapsorpcije i kod nasljedne Menkesove bolesti. Može dovesti do anemije, leukopenije i mijelodisplazije. Liječi se nadomjesnom terapijom (1, 2).

*Cink* (Zn) je katalizator brojnih enzima, važnih za DNA replikaciju, RNA transkripciju i proliferaciju stanica. Njegov manjak nastaje nedovoljnim unosom hranom ili nedovoljnom apsorpcijom kod prirodnih (acrodermatitis enteropathica) i stečenih bolesti tankog crijeva (Chronova bolest, sindrom kratkog crijeva, operativni zahvati). Liječi se nadomjesnom terapijom (1, 2).

#### Anemije zbog povećane razgradnje eritrocita

Hemolitičke anemije mogu biti: korpuskularne i ekstrakorpuskularne. Korpuskularne anemije su nasljedne hemolitičke anemije koje nastaju zbog intrinzičkih poremećaja eritrocita. Dijele se na: membranopatije, hemoglobinopatije i enzimopatije.

*Sferocitoza* je AD (75% slučajeva) ili AR nasljedna membranopatija. Uzrokovana je mutacijom gena koji kodiraju

sintezu proteina eritrocitne membrane: ankirina,  $\alpha$ - i  $\beta$ -spektrina, 4.1 i band 3 proteina. Najčešći su nedostaci ankirina i spektrina koji remete vertikalne membranske interakcije proteina i lipida. Dolazi do gubitka lipidnog dvosloja, smanjuje se omjer površine i volumena Er koji zauzimaju sferičan oblik i postaju povećano propusni za ione Na<sup>+</sup>. Takvi Er se u većoj mjeri sekvstriraju u slezeni. Težina kliničke slike ovisi o veličini deficita proteina membrane. Obilježena je različitim stupnjem anemije, žutice, splenomegalijom i razvojem žučnih kamenaca. Liječi se transfuzijama DE, folnom kiselinom, splenektomijom i kolecistektomijom. U novorođenačkoj dobi provodi se fototerapija, a ponekad i eksangvinotransfuzija (1, 13, 14).

*Hereditarna eliptocitoza* je AD nasljedna membranopatija uzrokovana mutacijama gena za sintezu  $\alpha$ - i  $\beta$ -spektrina, proteina 4.1 ili glikoforina C koji dovode do poremećaja horizontalne interakcije membranskih proteina i povećane propusnosti za ione Na<sup>+</sup>.

*Hereditarna piropoikilocitoza* je AR nasljedna mutacija gena za  $\alpha$ -spektrin. Abnormalni spektrin je termički nestabilan, denaturira na 45- 46°C te uzrokuje hemolizu Er.

*Hereditarna stomatocitoza* je AD nasljedni poremećaj sinteze membranskog proteina stomatina, pa je membrana Er prekomjerno propusna za ione Na<sup>+</sup> i K<sup>+</sup>. Er imaju prorez poput usta. Kod "prekomjerno hidriranih" stomatocita Na<sup>+</sup> i H<sub>2</sub>O pojačano ulaze u Er uzrokujući bubrežne stanice, dok "dehidrirani" stomatociti imaju povećan sadržaj K<sup>+</sup> u stanicama.

*Akantocitoza* je obilježena akantocitima, Er s nepravilnim trnastim nastavcima. Javlja se kod abetalipoproteinemije (1).

*Hemoglobinopatije* su genetski uzrokovane abnormalnosti  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ili  $\delta$  globinskih lanaca. Postoji više od 1400 mutacija. Mogu biti kvalitativne i kvantitativne.

*Drepanocitoza* ili bolest srpastih eritrocita (HbS) je AD nasljedna kvalitativna hemoglobinopatija, nastala zbog

mutacije gena na 11. kromosomu, kodonu 6, (Glu→Val), koji kodira sintezu  $\beta$  globinskog lanca. Nastali HbS je smanjeno topljiv u deoksigeniranom stanju te stvara polimerne snopove precipitiranog Hb koji izduljuju Er dovodeći do srpastog izgleda. Bolest je obilježena umjerenom do teškom hemolitičkom anemijom, stvaranjem žučnih kamenaca, vazookluzivnim krizama uz infarkcije, disfunkciju i nekrozu pogođenih organa, prijevremenim moždanim udarom, spleničnom skvestracijom i povećanom sklonošću infekcijama (pneumonija, meningitis). Liječi se transfuzijama DE, hidroksiureom koja potiče stvaranje fetalnog hemoglobina (HbF) i smanjuje drepaniranje Er te HSCT-om.

*Hemoglobinopatija C* nastaje zamjenom (Liz→Glu) u  $\beta$  globinskom lancu, zbog mutacije gena na 11. kromosomu, 6. kodonu. HbC je smanjeno topljiv i stvara romboidne kristale u Er. Kod *hemoglobinopatije D* glutamin je zamijenjen glicinom na  $\beta$  globinskom lancu. Anemija je blaga. *Hemoglobinopatija E* nastaje zamjenom (Glu→Liz), na  $\beta$  globinskom lancu, na 11. kromosomu, 26. kodonu.

*Nestabilni hemoglobini* su posljedica AD mutacije gena koji kodiraju sintezu mjesta vezanja molekule hema na  $\beta$  globinskim lancima. Najčešća je Morbus Köln. Nastali nestabilni Hb precipitira zagrijavanjem na 50°C. Anemija je kronična, hemolitička, praćena splenomegalijom. Liječi se izbjegavanjem oksidativnih lijekova, transfuzijama DE, folnom kiselinom i splenektomijom (1, 2).

*Talasemije* su kvantitativne AR nasljedne hemoglobinopatije. Sinteza  $\alpha$  globinskih lanaca kodirana je pomoću 4 gena koji su smješteni na 16. kromosomu. Njihovom mutacijom nastaju  $\alpha$  talasemije koje su obilježene smanjenim stvaranjem  $\alpha$  globinskih lanaca, povećanim stvaranjem  $\beta$  i  $\gamma$  globinskih lanaca te nastankom  $\gamma 4$  Hb Barth. Težina kliničke slike varira od najtežeg hidropsa fetalisa (talasemia major), HbH kronične hemolitičke anemije do mikrocitne anemije (talasemia minor). Liječe se transfuzijama DE, kelirajućim agensima i HSCT.  $\beta$ - talasemije nastaju zbog mutacije gena za sintezu  $\beta$  globinskih lanaca, smještenog na 11. kromosomu. Najteži

oblik je  $\beta$ -talasemija major (mediteranska ili Cooley-eva anemija) s povećanim stvaranjem HbF i HbA2. Nastaje teška kronična hemolitička anemija, s hiperplastičnom koštanom srži i promjenama na kostima, žuticom, hepatosplenomegalijom, kroničnim ulkusima na nogama, brončanom bojom kože i retardacijom rasta i razvoja. Liječi se transfuzijama DE, kelatima, hidroksiureom i HSCT-om. Provođe se istraživanja moguće primjene genske terapije.  $\beta$ -talasemia minor je blaga mikrocitna hipokromna anemija koja ne zahtijeva liječenje, kao ni hemoglobinopatija Lepore  $\beta\delta$ , nastala fuzijom navedenih globinskih lanaca (1, 12, 15).

*Enzimopatije* su korpuskularne hemolitičke anemije, nastale zbog nasljednih poremećaja metabolizma eritrocita. Najčešći je deficit enzima glukoza-6-fosfodehidrogenaze (G-6-PD), ključnog enzima heksoza monofosfatnog shunta, koji održava glutation u reduciranom obliku i sprječava oksidativna oštećenja Hb. Bolest se očituje hemolitičkim krizama, nastalim u akutnim infekcijama ili nakon izlaganja oksidansima u hrani (bob-favizam) ili lijekovima (sulfonamidi, antimalarici). Liječi se izbjegavanjem štetnih agensa, transfuzijama DE. Manjak piruvat-kinaze je AR nasljedna mutacija PKLR gena na 1. kromosomu, najvažniji je enzima anaerobnog puta razgradnje glukoze. Mutacija uzrokuje smanjenje energetskog potencijala Er, njihovo brže propadanje i hemolitičku anemiju različite težine. Liječi se transfuzijama DE, folnom kiselinom, kelirajućim agensima, splenektomijom (1, 2, 12).

*Ekstrakorpuskularne hemolitičke anemije* mogu biti imune i neimune. Imune dijelimo na izoimune i autoimune. Izoimune su uzrokovane stvaranjem aloantitijela protiv eritrocitnih Ag ABO i Rh sustava. Nastaju pri transfuziji nepodudarne krvne grupe ili kod hemolitičke bolesti bolesti novorođenčeta. Autoimune hemolitičkih anemije (AIHA) nastaju stvaranjem "toplih", "hladnih" ili "toplohladnih" Donath-Landsteiner autoantitijela. Uzrokovane su uslijed infekcije ili primjene lijekova. Kod AIHA s "toplim" At nastaju IgG autoantitijela protiv "Rh" eritrocitnog Ag. Aktiviraju se pri tjelesnoj temperaturi od 37°C. Uzrok su naglo nastaloj životno ugrožavajuće hemolize

s bljedoćom, žuticom i tamnim urinom te splenomegalijom. Liječi se transfuzijama DE, imunosupresivnom terapijom (kortikosteroidi, IVIG), imunomodulirajućim lijekovima (ciklosporin, mikofenolat mofetil), rituximabom (anti CD20 monoklonskim protutijelom) te bortezomibom koji inducira apoptozu B limfocita. AIHA s "hladnim" autoantitijelima nastaju zbog stvaranja IgM usmjerenih protiv "I" Ag na membrani Er. Javljaju se kod infekcija s Mycoplasma pneumoniae, infektivne mononukleoze i parotitisa. Izlaganjem hladnoći nastaje hemoliza Er. Liječi se izbjegavanjem hladnoće, utopljanjem, transfuzijama DE, antibioticima i plazmaferezom. Paroksizmalna hladna hemoglobinurija je uzrokovana stvaranjem IgG autoantitijela protiv "P" Ag membrane eritrocita. To su toplo-hladna Donath-Landsteiner At. Nastaje kod virusnih infekcija. Liječi se utopljanjem, DE, kortikosteroidima i plazmaferezom (1, 18, 19).

*Neimune hemolitičke anemije* su posljedica mehaničkih, termalnih, oksidativnih ili infektivnih oštećenja Er. Primjer su mikroangiopatske hemolitičke anemije kod HUS-a i TTP-a te hipersplenizam. Poseban oblik je paroksizmalna noćna hemoglobinurija (PNH), stečena klonska bolest, nastala mutacijom PIGA gena na X kromosomu. Uslijed mutacije dolazi do nedostatka CD 55 i CD 59 komplement-regulatornih proteina te nastaje komplementom posredovana intravaskularna hemoliza Er. Liječi se kortikosteroidima, imunosupresivnom terapijom, HSCT-om te eculizumabom (monoklonoalno At protiv C5 komponente komplementa) (1, 2).

#### Morfološka podjela anemija

Anemije možemo podijeliti prema prosječnom staničnom volumenu (MCV) na: mikrocitne, normocitne i makrocitne anemije.

*Mikrocitne anemije* (MCV <70 fL) su: sideropenična, sideroblastična, talasemije, anemije kod trovanja olovom, kod nedostatka Cu, Zn, anemija kronične bolesti, IRIDA.

*Normocitne anemije* (MCV 72-79 fL) su: diseritropoetske anemije, mije-

loftizičke anemije, kod mješovitog manjka željeza i vitamina B12, anemije zbog krvarenja ili hipersplenizma.

*Makrocitne anemije* (MCV >85 fL) su: megaloplastična, mijelodisplastične (Diamond-Blackfan, Fanconi, Dyskeratosis congenita), aplastična anemija i PNH (1, 2).

#### Obrada anemija

1. Detaljna *osobna (hetero-) anamneza* počevši od trudnoće i poroda te postnatalnog tijeka. Povećan rizik za sideropeničnu anemiju je prisutan kod djece majki anemičnih u trudnoći, u višerotkinja, u višeplođnim trudnoćama, kod prijevremeno rođenih te kod perinatalnog ili postnatalnog krvarenja. Potrebno je ispitati prehrambene navike djeteta. Smanjen unos hrane bogate željezom, a preveliki dnevni unos mlijeka, uzrokuju sideropeničnu anemiju. Prehrana kozjim mlijekom može dovesti do manjka folne kiseline i megaloplastične anemije. Važan je podatak o učestalosti infekcija, postojanju kronične bolesti probavnog sustava, jetre, bubrega ili autoimunih bolesti jer mogu biti uzrok diseritropoetske anemije. Pojava anemije nakon uzimanja određenih lijekova ili hrane (leguminoza) upućuje na manjak G-6-DP. U adolescentica treba utvrditi trajanje, učestalost i jačinu menstrualnog krvarenja jer može uzrokovati značajnu sideropeničnu ili posthemoragijsku anemiju. Pri uzimanju obiteljske anamneze važni su nam podaci o pojavi žutice, žučnih kamenaca, splenomegalije u ranoj dobi, o provedenoj kolecistektomiji ili splenektomiji, o učestalim transfuzijama krvnih pripravaka, što upućuje na nasljedne hemolitičke anemije (1, 2).

2. *Fizikalni pregled.* Najizraženiji simptom anemije je bljedoća kože i vidljivih sluznica. Ikterična koža i bjeloočnice ukazuju na hemolizu. Djeca se žale na slabost, umor, nepodnošenje fizičkog napora i hladnoće. Razdražljiva su, pospana, teže se koncentriraju, postižu lošiji uspjeh u školi. Imaju krhku kosu i nokte. Može se javiti "pica" - jedenje nejestivih stvari poput žbuke, zemlje ili papira. Tahikardija i sistolički šum nad prekor dijem nastaju kompenzatorno zbog smanjenja udarnog volumena srca u anemiji.

Glositis je znak manjka vitamina B12, a angularni heilitis manjka Fe. Izražena fronalna tubera, jagodične kosti i maksilarni lukovi te splenomegalija upućuju na nasljednu hemolitičku anemiju i posljedičnu ekspanziju krvotvornog tkiva koštane srži. Anomalije skeleta upućuju na sindrome prirođenih insuficijencija koštane srži. Uvećani limfni čvorovi, jetra i slezena znak su invazivne ili infektivne bolesti. Neurološki poremećaji nastaju kod manjka vitamina B12 ili hipotireoze (1, 2).

3. *Laboratorijske pretrage.* Obrada anemije započinje pretragom kompletne krvne slike (KKS), diferencijalne krvne slike (DKS) te korpuskularnih elemenata: MCV (prosječni stanični volumen), MCH (prosječna stanična količina hemoglobina) i MCHC (prosječna koncentracija hemoglobina u jednoj litri obujma eritrocita). Određivanje distribucije volumena eritrocita ili RDW (red cell distribution width) mjerilo je anizocitoze. Vrijednosti se kreću između 11,5 i 14,5%. RDW je povećan u sideropeničnoj anemiji, a normalnih vrijednosti kod talasemije. Mentzer-ov indeks je omjer MCV i broja eritrocita (MCV/Er). Vrijednosti <13 upućuju na talasemiju, a >13 na sideropeničnu anemiju. Određivanje relativnog i apsolutnog broja retikulocita (Rtc), pokazatelja eritropoeze i funkcije koštane srži, pomaže u dijagnosticiranju anemija. Povećani Rtc (>20%) obilježje su posthemoragijskih i hemolitičkih anemija, dok su sniženi Rtc (<5%) tipični za anemije uzrokovane smanjenim stvaranjem eritrocita. Preciznije podatke pruža računanje retikulocitnog indeksa prema formuli:  $Rtc\ index = Rtc\% \times Htc$  ispitnika/0,45. Kod posthemoragijskih i hemolitičkih anemija će biti >3%, a kod smanjenog stvaranja eritrocita <3% (1, 6, 7).

*Citomorfološka analiza razmaza periferne krvi* je vrijedna pretraga koja nam omogućava uvid u veličinu eritrocita i posebne morfološke odlike pojedinih eritrocitnih poremećaja. Anizocitoza označava prisustvo Er različitih veličina, a poikilocitoza njihov različitih oblik. Mikrocitni i hipokromni eritrociti su prisutni kod sideropenične anemije, a mikrociti i target stanice (poput mete) s povećanim omjerom površine i volumena (P/V) kod talasemije i drugih hemoglobinopa-

tija (Hb AC, CC, SS, SC, HbD). Obilježje sferocita je kuglast oblik, gubitak bikonkavnosti, hiperkromazija uz povećan MCHC te smanjen omjer P/V. Prisutni su kod hereditarne sferocitoze, ABO inkompatibilnosti, autoimunih hemolitičkih anemija, manjka G-6-PD, te kod mikroangipatskih hemolitičkih anemija.

Akantociti, ("nazubljeni" eritrociti) nastaju zbog povećane količine kolesterola u membrani kod abetalipoproteinemije i manjka vitamina E. Drepanociti (srpoliki Er) su posljedica HbS hemoglobinopatije i posljedične precipitacije hemoglobina pri niskom Ph ili O<sub>2</sub>. Fragmentirani eritrociti (shistociti, helmet stanice) se javljaju kod DIK-a i mikroangiopatskih hemolitičkih anemija. Eliptociti su obilježje hereditarne eliptocitoze, a stomatociti hereditarne stomatocitoze. Bazofilno punktirane eritrocite vidimo kod trovanja olovom, talasemija. Howell-Jolly tjelešca i Cabotovi prstenovi predstavljaju ostatke jezgre i prisutni su kod megaloplastične i perniciozne anemije te diseritropoetskih anemija. Heinzova tjelešca su depoziti denaturiranog hemoglobina, vidljivi kod talasemija i enzimopatija (7, 10, 14). Kod refraktornih slučajeva potrebno je učiniti citomorfološku analizu aspirata/ biopata koštane srži radi utvrđivanja normoplastične, megaloplastične ili sideroplastične eritropoeze. Dodatnim bojanjem stanica željezom mogu se prikazati depoziti željeza u citoplazmi eritrocita kod sideroplastične anemije.

Dijagnoza *sideropenične anemije* postavlja se temeljem ↓Er, ↓Hgb, povećanog ukupnog (TIBC) i nezasićenog kapaciteta transferina (UIBC). Saturacija transferina je <10%. Razina Fe u krvi je snižena kao i feritin, biomarker ukupne zalihe Fe u organizmu. Izražaj topljivih serumskih transferinskih receptora (tsTR) na membrani Er je obrnuto proporcionalan količini željeza u organizmu, pa će biti povišeni u sideropeniji. Sniženi su kod anemija kronične upale, kronične bolesti i aplastičnih anemija. Omjer tsTR/feritin >1,5 javlja se kod sideropenije, a <1,5 kod anemije kronične bolesti. U razmazu periferne krvi vidljiva je mikrocitoza (↓MCV) i hipokromija (↓MCH) Er, uz anizocitozu (RDW >14,5%) i poikilocitozu. Određivanje

slobodnog eritrocitnog protoporfirina je pretraga koja nam može dati najranije podatke o deficitu željeza u organizmu. Ugradnjom Fe u slobodni protoporfirin nastaje hem. Uslijed manjka Fe u anemiji se povećava količina slobodnog protoporfirina, a normalna je kod talasemija. Kod nedostatka Fe u protoporfirin se ugrađuje Zn, pa je omjer Zn protoporfirin/hem povećan u sideropeniji. Omjer  $t\text{TR}/\log$  feritin predstavlja odnos funkcionalnog odjeljka Fe (unutarstaničnih potreba) i pohranjenog Fe u organizmu, pa će biti povećan kod sideropenije, a snižen kod anemije kronične upale i kronične bolesti. Ove pretrage su dostupne u specijaliziranim laboratorijima. Ukoliko sumnjamo na malapsorpciju rade se dodatne pretrage: stolica na okultno krvarenje, kalprotektin, antitijela na celijakiju, alergološka testiranja na nutritivne alergene (posebice na kravlje mlijeko), scintigrafija crijeva (Meckelov divertikul) (1, 2, 7). IRIDA se manifestira izrazitom mikrocitozom u laboratorijskim nalazima (MCV 45-65 fL) i smanjenjem zasićenosti transferina <5%. Potvrđuje se pokusom apsorpcije željeza (9).

*Sideroblastična anemija* je obilježena normocitnom, mikrocitnom ili rjeđe makrocitnom anemijom, retikulocitopenijom, povećanim RDW-om i povećanom razinom Fe u serumu. U koštanoj srži je prisutna eritroidna hiperplazija uz inefektivnu eritropoezu, dimorfna populacija Er (hipokromni mikrocitni Er izmiješani s normocitnim Er) te prstenasti sideroblasti s depozitima nakupljenog Fe u mitohondrijima koji okružuju jezgru u obliku prstena (1). Određivanje razine hepcidina je test dostupan samo u specijaliziranim laboratorijima, Hpcidin je povećan kod upala, infekcija i malignih bolesti, a snižen kod sideropenije.

*Megaloblastična anemija* je obilježena  $\downarrow$ Er,  $\downarrow$  Hgb, uz  $\uparrow$ MCV i  $\uparrow$ RDW. U razmazu periferne krvi vidljive su makrocitoza i anizocitoza, Er s Cabotovim prstenovima i Howell-Jolly tjelešcima te neutrofilni s hiperegmentiranim jezgrama. U koštanoj srži je prisutna nuklearno-citoplazmatska disocijacija. Zbog inefektivne eritropoeze i stvaranja poremećenih prekursorskih stanica, već u koštanoj srži dolazi do propadanja Er uz  $\uparrow$ LDH, nekonjugirani bilirubin, Fe i

feritin u plazmi, a  $\downarrow$ UIBC i haptoglobin. Broj Rtc je smanjen, a s vremenom dolazi do pada broja L i Tr što može imitirati aplastičnu anemiju. Dijagnoza se potvrđuje određivanjem razine vitamina B12 i folne kiseline u plazmi. Perniciozna anemija (manjak unutrašnjeg faktora IF) se dokazuje Schilling-ovim testom, mjerenjem razine anti-IF protutijela i histaminskim testom gastrične sekrecije. Nema specifičnog direktnog testa za malapsorpciju vitamina B12 niti folne kiseline. Vitamin B12 je kofaktor pretvorbe metilmalonil-CoA u sukcinil-CoA, pa su kod njegovog manjka povišene vrijednosti homocisteina i metilmalonske kiseline. Kod nedostatka folne kiseline smanjena je pretvorba homocisteina u metionin, što rezultira porastom homocisteina u plazmi. Također, radi smanjene količine metilen-tetrahidrofolata i poremećene metilacije deoksiuridata u deoksitimidilat te nastalog viška uracila, dolazi do loma DNA i aresta u dozrijevanju Er. Stoga će supresijski test deoksiuridinom koji mjeri sintezu DNA (pretvorbu deoksiuridata u timidilat) biti pozitivan kod manjka folne kiseline, a negativan je kod deficita vitamina B12. Test se radi u specijaliziranim laboratorijima (1, 2, 10).

*Hemolitičke anemije* su obilježene  $\downarrow$ Er i  $\downarrow$ Hgb,  $\uparrow$  ukupnim i nekonjugiranim bilirubinom,  $\uparrow$ LDH,  $\downarrow$ haptoglobinom i hemopeksinom, hemoglobinurijom i urobilinogenurijom. U razmazu periferne krvi vidljivi su shistociti, sferociti, target stanice, fragmentirani eritrociti. Prisutni su znaci povećane eritropoeze:  $\uparrow$ Rtc,  $\uparrow$ MCV,  $\uparrow$ RDW te eritroidna hiperplazija u koštanoj srži uz omjer eritroidne/mijeloidne loze umjesto 1:5 na 1:1).

*Sferocitoza* je obilježena  $\downarrow$ Er,  $\downarrow$ Hgb,  $\uparrow$  MCHC i RDW,  $\uparrow$ Rtc, negativnim DAT testom i prisutnošću više od 15% sferocita u razmazu periferne krvi. Temeljni potvrdni test je smanjena osmotska rezistencija Er (povećana fragilnost), gdje se utvrđuje osjetljivost Er na osmotski stres, pri izlaganju hipotoničnim otopinama NaCl. Autohemoliza Er tijekom 24-48 h će biti povećana, uz normalizaciju nakon dodatka glukoze. 51Cr obilježeni Er pokazuju skraćen životni vijek (1, 14).

*Enzimopatije* se dokazuju specifičnim enzimskim testovima i testom au-

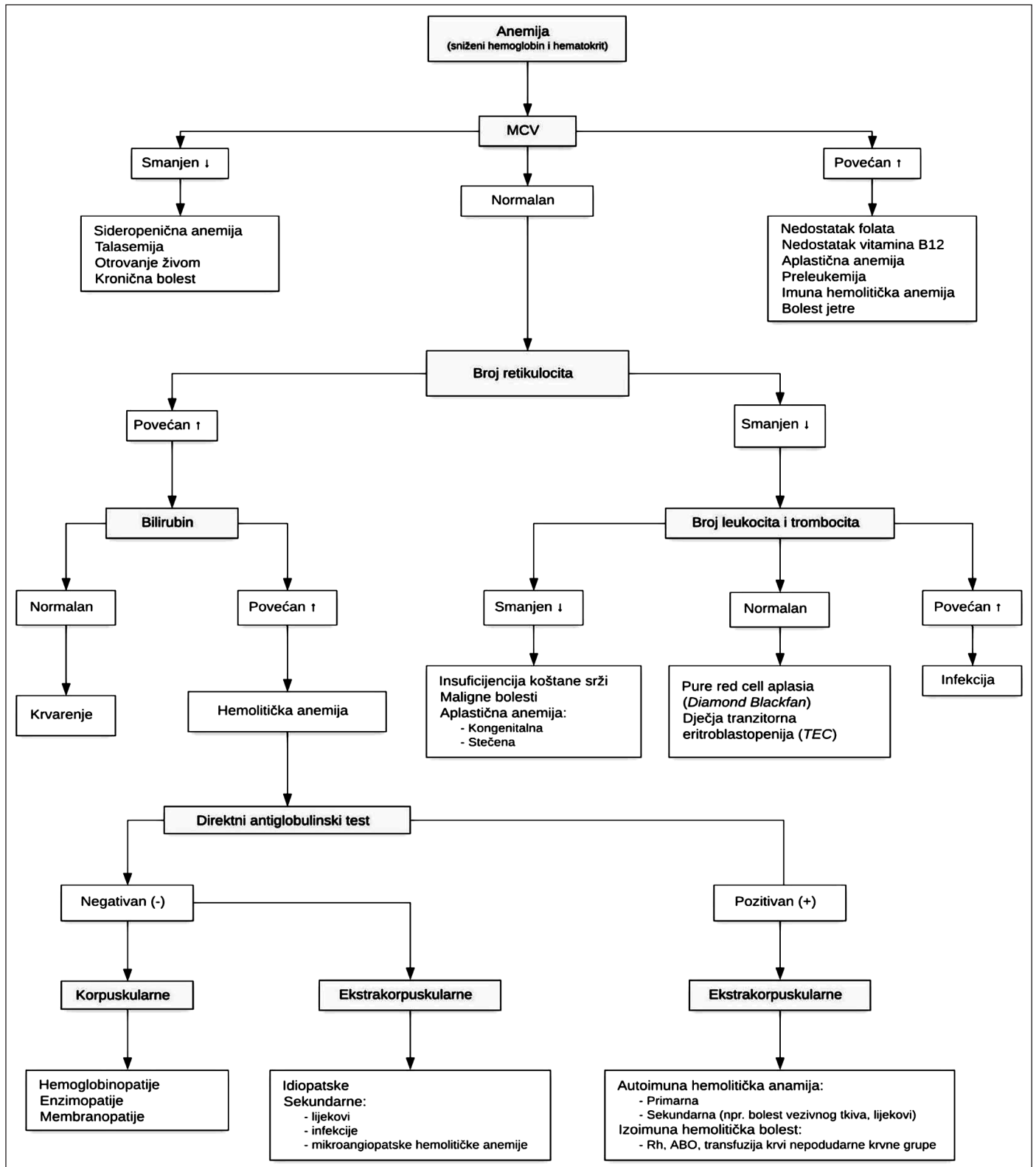
tohemolize, koji se korigira dodatkom ATP-a. Kod manjka G-6-DP u razmazu periferne krvi vidljiva su Heinzova tjelešca u Er (1, 2).

*Drepanocitoza* je obilježena  $\downarrow$ Er,  $\downarrow$ Hgb (60-100 g/L), normocitnom, normokromnom anemijom,  $\uparrow$ RDW,  $\uparrow$ Rtc i nalazom drepanocita u razmazu periferne krvi. Dokazuje se elektroforezom Hgb s 80-96% HbS kod homozigotnog oblika bolesti. Tijekom trudnoće se dijagnoza bolesti postavlja analizom mutacije DNA biopata korionskih resica (1, 2, 12).

Kod *talasemija* u nalazima KKS prisutna je mikrocitna, hipokromna anemija uz  $\downarrow$ MCV,  $\downarrow$ MCH,  $\downarrow$ MCHC,  $\uparrow$ Rtc, te target stanice i bazofilno punktirani Er u razmazu periferne krvi.  $\beta$ -talasemije se mogu dokazati Ef Hgb ( $\downarrow$ HbA,  $\uparrow$ HbA2 i HbF).  $\alpha$ -talasemije i druge hemoglobiopatije se mogu dokazati u specijaliziranim laboratorijima uporabom spektrometrije masa, tekućom kromatografijom i direktnom analizom globinskih gena sekvencioniranjem DNA (1, 15-17).

Kod *ekstrakorpuskularnih hemolitičkih anemija* u nalazima krvnih pretraga prisutni su:  $\downarrow$ Er,  $\downarrow$ Hgb,  $\uparrow$ Rtc,  $\uparrow$ nekonjugirani bilirubin i LDH,  $\downarrow$ haptoglobin. U razmazu periferne krvi često se vide sferociti. Kod AIHA s "toplim" protutijelima DAT će utvrditi prisutnost IgG vezanih na površinu Er, a IAT prisutnost protutijela u serumu bolesnika, pri inkubaciji od 37°C. Kod AIHA s "hladnim" protutijelima DAT na IgG će biti negativan, a pozitivan na C3b komponentu komplementa, uz dokaz slobodnih IgM u serumu bolesnika (1, 18-20). Paroksizmalna hladna hemoglobinurija se utvrđuje pozitivnim DAT-om na C3b i dokazom Donath-Landsteiner IgG hladnih hemolizina. Paroksizmalna noćna hemoglobinurija se dijagnosticira protočno-citometrijskim određivanjem PNH klona (izražaja CD55/59 na membrani Er i FLAER/CD24 na membrani granulocita) (1, 18-20).

Sindromi prirođenih insuficijencija koštane srži dijagnosticiraju se genskim analizama u specijaliziranim laboratorijima (NGS next gene sequencing). Kod Diamond-Blackfan anemije povećan je izražaj "i" Ag na Er, povišene su vrijed-



Slika 1. Manual of Pediatric Hematology and Oncology; Fifth Edition; Philip Lanzkowsky, M.B., Ch.B., M.D., Sc.D. (honoris causa), F.R.C.P., D.C.H., F.A.A.P. 2011.

nosti adenzin deaminaze u Er i ↑HbF. Fanconijeva anemija se utvrđuje testom povećane lomljivosti kromosoma u kulturi fibroblasta, nakon izlaganja klasto-

genim agensima (mitomicin, diepoksi-butan). α fetoprotein (AFP) može biti povišen u serumu bolesnika (1, 12).

### Zaključak

Anemije predstavljaju heterogenu skupinu bolesti. Pri obradi anemičnog bolesnika nakon anamneze i fizikalnog

pregleda, važne podatke prikupiti ćemo analizom KKS, Rtc, korpuskularnih elemenata Er te citomorfološkom analizom razmaza periferne krvi. Učinjena obrada pružiti će nam smjernice daljnjih specifičnih pretraga, u svrhu postavljanja konačne dijagnoze bolesti.

#### Kratice:

Er - eritrociti  
 Fe - željezo  
 Rtc - retikulociti  
 PRCA - pure red cell aplasia  
 AD - autosomno dominantno  
 DE - deplazmatizirani eritrociti  
 HSCT - hematopoietic stem cells transplantation  
 G-CSF - granulocyte colony stimulating factor  
 IL-6 - interleukin-6  
 TNF- $\alpha$  - tumor necrosis factor- $\alpha$   
 IFN- $\gamma$  - interferon- $\gamma$   
 rhu-EPO - rekombinantni eritropoetin  
 IDA - iron deficiency anemia  
 IRIDA - iron refractory iron deficiency anemia  
 HFE - human homeostatic iron regulatory protein  
 AR - autosomno recesivno  
 AIHA - autoimuna hemolitička anemija  
 IVIG - intravenski imunoglobulin  
 PNH - paroksizmalna noćna hemoglobinurija  
 MCV - mean corpuscular volume  
 MCH - mean corpuscular hemoglobin  
 MCHC - mean corpuscular hemoglobin concentration  
 RDW - red cells distribution width  
 IF - intrinsic factor  
 DAT - direktni antoglobulinski test  
 ATP - adenozin trifosfat  
 Ef - elektroforeza  
 AFP - alfa fetoprotein

#### NOVČANA POTPORA/FUNDING

Nema/None

#### ETIČKO ODOBRENJE/ETHICAL APPROVAL

Nije potrebno/None

#### SUKOB INTERESA/CONFLICT OF INTEREST

Autori su popunili *the Unified Competing Interest form* na [www.icmje.org/coi\\_disclosure.pdf](http://www.icmje.org/coi_disclosure.pdf) (dostupno na zahtjev) obrazac i izjavljuju: nemaju potporu niti jedne organizacije za objavljeni rad; nemaju financijsku potporu niti jedne organizacije koja bi mogla imati interes za objavu ovog rada u posljednje 3 godine; nemaju drugih veza ili aktivnosti koje bi mogle utjecati na objavljeni rad./ *All authors have completed the Unified Competing Interest form at www.icmje.org/coi\_disclosure.pdf (available on request from the corresponding author) and declare: no support from any organization for the submitted work; no financial relationships with any organizations that might have an interest in the submitted work in the previous 3 years; no other relationships or activities that could appear to have influenced the submitted work.*

#### LITERATURA

- Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood, 8th ed. Philadelphia: Elsevier//Saunders; 2015.
- Lanzkowsky's Manual of Pediatric Hematology and Oncology, 6th ed. Elsevier; 2010.
- The genomics of inherited bone marrow failure: from mechanism to the clinic. Wegman-Ostrosky T, Savage SA. Br J Haematol. 2017; 177 (4): 526-42. doi: 10.1111/bjh.14535.
- Inherited bone marrow failure syndromes: considerations pre- and posttransplant. Alter BP. Blood. 2017; 130 (21): 2257-64. doi: 10.1182/blood-2017-05-781799.
- Molecular approaches to diagnose Diamond-Blackfan anemia: The EuroDBA experience. Lydie Da Costa, Marie-Francoise O'Donohue, Birgitvan Dooijeweertf et al; Eur J Med Genet. 2018; 61 (11): 664-73. doi: 10.1016/j.ejmg.2017.10.017.
- Management of iron deficiency anemia: A survey of pediatric hematology/oncology specialists; Powers JM, McCavit TL, Buchanan GR. Pediatr Blood Cancer. 2015; 62 (5): 842-6. doi: 10.1002/psc.25433.
- Thomas DW, Hincliffe RF, Briggs C et al. British Committee for Standards in Haematology. Guideline for the laboratory diagnosis of functional iron deficiency. Br J Haematol. 2013; 161: 639-48.
- Diagnosis and management of iron deficiency in children with or without anemia: consensus recommendations of the SPOG Pediatric Hematology Working Group. Mattiello V, Schmutge M, Hengartner H, von der Weid N, Renella R; SPOG Pediatric Hematology Working Group. Eur J Pediatr. 2020.
- Iron-Refractory Iron Deficiency Anemia Yilmaz Keskin E, Yenicesu İ. Turk J Haematol. 2015; 32 (1): 1-14. doi: 10.4274/tjh.2014.0288.
- Megaloblastosis: from morphos to molecules. Das KC, Das M, Mohanty D, Jadaon MM, Gupta A, Marouf R, Easow SK. Med Princ Pract. 2005; 14 (1): 2-14.
- Efficacy of oral methylcobalamin in treatment of vitamin B12 deficiency anemia in children. Verma D, Chandra J, Kumar P, Shukla S, Sengupta S. Pediatr Blood Cancer. 2017; 64 (12).
- Roberta Russo, Immacolata Andolfo, Francesco Manna et al. Multi-gene panel testing improves diagnosis and management of patients with hereditary anemias. Am J Hematol. 2018; 93 (5): 672-82.
- Barcellini W, Fattizzo B. Clinical applications of hemolytic markers in the differential diagnosis and management of hemolytic anemia. Dis Markers 2015.
- Old and new insights into the diagnosis of hereditary spherocytosis. Ciepiela O. Ann Transl Med. 2018; 6 (17): 339. doi: 10.21037/atm.2018.07.35.
- Laboratory diagnosis of thalassemia. Brancaleoni V, Di Piero E, Motta I, Cappellini MD. Int J Lab Hematol. 2016; 38 (1): 32-40. doi: 10.1111/ijlh.12527.
- Alpha-thalassaemia. Hartevelde CL, Higgs DR. Orphanet J Rare Dis. 2010; 5: 13. doi: 10.1186/1750-1172-5-13.
- Mutational analysis of thalassemia in transfusion-dependent beta-thalassemia patients from central India. Shrivastava M, Bathri R, Chatterjee N. Asian J Transfus Sci. 2019; 13 (2): 105-9. doi: 10.4103/ajts.
- Clinical Applications of Hemolytic Markers in the Differential Diagnosis and Management of Hemolytic Anemia. Barcellini W, Fattizzo B. Dis Markers. 2015; 2015: 635-70. doi: 10.1155/2015/635670.
- Diagnosis and management of newly diagnosed childhood autoimmune haemolytic anaemia. Recommendations from the Red Cell Study Group of the Paediatric Haemato-Oncology Italian Association. Ladogana S, Maruzzi M, Samperi P, Perrotta S, Del Vecchio GC, Notarangelo LD, Farruggia P, Verzegnassi F, Maserano N, Saracco P, Fasoli S, Miano M, Girelli G, Barcellini W, Zanella A, Russo G. AIHA Committee of the Italian Association of Paediatric Onco-haematology (AIEOP). Blood Transfus. 2017; 15 (3): 259-67. doi: 10.2450/2016.0072-16.
- Second-line therapy in paediatric warm autoimmune haemolytic anaemia. Guidelines from the Associazione Italiana Onco-Ematologia Pediatrica (AIEOP). Ladogana S, Maruzzi M, Samperi P, Condorelli A, Casale M, Giordano P, Notarangelo LD, Farruggia P, Giona F, Nocerino A, Fasoli S, Casciana ML, Miano M, Tucci F, Casini T, Saracco P, Barcellini W, Zanella A, Perrotta S, Russo G. AIHA Committee of the Associazione Italiana di Ematologia ed Oncologia Pediatrica. Blood Transfus. 2018; 16 (4): 352-7.

### Summary

#### DIAGNOSTIC APPROACH TO THE CHILD WITH ANEMIA

Karolina Malić Tudor, Višnja Armanda, Dubravka Kuljiš, Martin Demo

*Anemia can be defined as a reduction in number of red blood cells or hemoglobin concentration in volume unit of blood, on value lesser than 2 standard deviations for age and gender. According to the etiology anemia is classified as anemia due to the impaired red cell formation (pure red cell aplasia, sideroblastic anemia, Fanconi anemia, congenital or acquired aplastic anemia), anemia due to the infiltration of bone marrow (osteopetrosis, storage diseases, malignancies), iron, vitamin B12 or folic acid deficiency anemia, dyserythropoetic anemias (anemia in chronic disease and illness, in chronic renal failure, endocrine diseases, myelophthisic anemia), corpuscular haemolytic anemia (membranopathy, ensimopathy, hemoglobinopathy), extracorporeal immune and nonimmune anemia and posthaemorrhagic anemia. Basic laboratory evaluation are: complete blood count with erythrocyte constants MCV, MCH and MCHC, RDW, number of the reticulocytes and morphology of red blood cells in peripheral blood smear. Bone marrow failure anemia can be diagnosed with analysis of bone marrow aspirate/biopsy, kariogram, molecular diagnostics and DNA analysis (next gene sequencing). Diagnostic tests for deficiency anemia are: Fe, UIBC, TIBC, ferritin, soluble transferrin receptors, vitamin B12 and folic acid. Hemolytic anemia can be defined with Coombs test, bilirubin, LDH, ferritin and haptoglobin. More differentiated diagnostic methods are available in specialized laboratories.*

Descriptors: ANEMIA, CHILD, LABORATORY DIAGNOSTICS

Primljeno/Received: 25. 2. 2020.

Prihvaćeno/Accepted: 15. 3. 2021.