

DIJAGNOSTIČKI PRISTUP DJETETU S ANEMIJOM

VIŠNJA ARMANDA, SRĐANA ČULIĆ, DAVOR PETROVIĆ*

Anemija je smanjena količina hemoglobina ili eritrocita u volumnoj jedinici krvi. Prema patogenezi anemije dijelimo na: anemije zbog poremećaja u sazrijevanju eritrocita (sideropenična, sideroblastična, megaloblastična), hipoproliferacijske (anemija kronične bolesti, anemija u kroničnom bubrežnom zatajenju, anemija u endokrinim bolestima, mijelofizična anemija), bolesti krvotvorne matične stanice (aplasična anemija nasljedna ili stečena, izolirana aplazija crvene loze, mijelodisplazije) i hemolitičke (nasljedne-membranopatije, enzimopatije, hemoglobinopatije; stečene imune - autoimune, izoimune, stečene neimune-paroksizmalna noćna hemoglobinurija, sindrom fragmentacije eritrocita - mikroangiopatska hemolitička anemija, hemolitičko-uremijski sindrom, diseminirana intravaskularna koagulacija). Svaki od spomenutih poremećaja zahtijeva različiti dijagnostički pristup. U dijagnostici koristimo: vrijednosti kompletne krvne slike s eritrocitnim konstantama (MCV, MCH, MCHC), RDW, izgled stanica u razmazu periferne krvi, retikulocite, razinu eritropoetina te analizu aspirata i/ili biopta koštane srži, kariogram, molekularnu dijagnostiku i HLA tipizaciju tkiva. Anemije zbog poremećaja u sazrijevanju ispituju se pomoću serumskih vrijednosti Fe, UIBC, TIBC, feritina, topljivih serumskih transferinskih receptora, razine vitamina B12 i folne kiseline. Hemolitičke anemije dokazujemo Coombsovim testom te serumskim vrijednostima feritina, haptoglobina i LDH. Daljnji dijagnostički pristup rabi, po uvidu u osnovne nalaze, sofisticirane metode molekularne i genske dijagnostike.

Deskriptori: ANEMIJA, LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA, DJECA

Uvod

Anemija je smanjena količina hemoglobina ili eritrocita u volumnoj jedinici krvi. Normalne vrijednosti hemoglobina i hematokrita ovise o dobi djeteta te prilikom interpretacije laboratorijskih nalaza ovu činjenicu treba uzeti u obzir. Tijekom uzimanja obiteljske anamneze potrebno je obratiti pozornost na pojavu splenomegalije, žutice i žučnih kamenaca u ranoj dobi u obitelji. Klinička slika ovisi o težini anemije, a klinički simptomi (bljedilo, pospanost, iritabilnost, smanjeno podnošenje fizičkog napora) gotovo su zanemarivi dok vrijednost he-

moglobina ne bude <7-8 g/dL. Bljedilo je najčešće izraženo na jeziku, noktima i dlanovima. Često se čuje i šum na srcu. Kako hemoglobin pada simptomi se pogoršavaju sve do tahikardije, srčane dilatacije, tahipneje te opće slabosti kod teških oblika anemije. Ovim člankom pokušali smo postaviti smjernice za podjelu i dijagnostiku različitih vrsta anemije što je do sada bio problem.

Podjela anemija

Anemije prema patogenezi klasificiramo na:

- anemije zbog poremećaja u sazrijevanju eritrocita;
- hipoproliferacijske anemije;
- anemije zbog bolesti krvotvorne matične stanice (KMS, CD34);
- anemije zbog pojačanog razaranja eritrocita, hemolitičke.

Druga je podjela temeljem eritrocitnih konstanti na:

- mikrocitne hipokromne;
- normocitne normokromne;
- makrocitne normokromne.

Anemije zbog poremećaja u sazrijevanju eritrocita

Anemije zbog poremećaja sazrijevanja posljedica su manjke vitamina ili elemenata nužnih za sintezu hemoglobina. Poremećaj je moguć na razini jezgre (manjak B12 ili folne kiseline) ili na razini citoplazme (sideropenije). Predstavnicima su sideropenična, sideroblastična i megaloblastična anemija.

Sideropenična anemija nastaje zbog nedovoljnog unosa željeza hranom, povećane potrebe za željezom tijekom rasta ili intenzivnog bavljenja sportom, gubitka krvi i poremećaja resorpcije. Razlikujemo nekoliko faza sideropenije:

- latentna sideropenija,
- manifestna sideropenija,
- sideropenična anemija.

Blaže anemije su normocitne normokromne, teže mikrocitne hipokromne. Osobito je važno istaknuti da nedostatak željeza u organizmu naročito u fetalno doba, dojenačko doba te u prve dvije godine života, može ostaviti trajne posljedice po zdravlje djeteta jer je željezo veoma važna komponenta koja sudjeluje u razvoju i funkcioniranju neurološkog i imunskog sustava (1). Sideropenija se liječi pripravcima željeza.

Sideroblastična anemija je anemija u koje je povećana koncentracija željeza u koštanoj srži i u kojoj mogu biti prisutni prstenasti sideroblasti. Postoji nasljedni i stečeni oblik. Kod nasljednog oblika poremećen je enzim hem sintetaza dok je stečeni oblik povezan sa sindromom mijelodisplazije koji može pratiti tumorsku bolest. Simptomi su blaga, umjerena ili teška anemija, a liječenje je uzročno.

Megaloblastična anemija je ona kod koje se u koštanoj srži nalaze megaloblasti, a u perifernom razmazu makrociti. Najčešće je posljedica manjke folne kiseline ili vitamina B12. Mehanizam nastanka je poremećena sinteza DNK. Stanice karakterizira nukeocitoplazmatska disocijacija. Razlozi su nutritivni (vegetarijanci), malapsorpcija i povećani gubici (bolest jetre, lijekovi) (2).

Hipoproliferacijske anemije

Anemija kronične bolesti je normocitna normokromna anemija ili mikrocitna hipokromna, a pojavljuje se kod većine kroničnih infektivnih i malignih bolesti te pri traumatskom oštećenju tkiva. Ona je, uz sideropeničnu anemiju, najčešći oblik anemije.

Anemija u kroničnom bubrežnom zatajenju najčešće je posljedica bubrežne insuficijencije, zbog čega je smanjeno ili je izostalo stvaranje eritropoetina, a koštana srž je inhibirana toksičnim produktima koji se ne mogu eliminirati. Liječenjem se korigira metabolički poremećaj uz potporno davanje transfuzija te primjenu rekombinantnog eritropoetina (Rhu-Epo).

Anemija u endokrinim bolestima prati hipopituitarizam, hipotireozu, hipogonadizam, insuficijenciju kore nadbubrežne žlijezde uz poremećaj meta-

bolizma željeza i smanjenu reutilizaciju željeza u tkivu. Popravlja se korekcijom endokrinološkog poremećaja.

Mijelofizična anemija nastaje zbog infiltracije koštane srži stranim stanicama, najčešće zloćudnim, a rjeđe upalnim ili granulomatoznim (sarkoidoza, tuberkuloza). Može nastati i zbog pohranjenih metaboličkih produkata npr. lipida. Strane stanice remete strukturu hematopoetskog tkiva pa se u krvi pojavljuju nezreli oblici hematopoetskih stanica.

Bolesti krvotvorne matične stanice

U bolesti KMS spadaju nasljedna i stečena aplasična anemija.

Nasljedna aplasična anemija je autosomno recesivna bolest definirana ubrzanom apoptozom eritroidnih prekursora. Molekularnom dijagnostikom nađe se veći broj slučajnih kromosomskih lomova, a poremećaj je na razini fac gena.

Stečena aplasična anemija patofiziološki je poremećaj KMS-a čiji je broj smanjen, slabije se diferenciraju i sazrijevaju. Najčešće nastaje nakon primjene kemoterapije ili zračenja (3). Etiološki može biti odgovoran i imunski mehanizam (visoka prevalencija HLA-DR2 antigena). Dijeli se na veoma tešku (neutrofili <0,2) i tešku (neutrofili >0,2). Može nastati i nakon uzimanja određenih lijekova, kemijskih supstancija, infekcije Epstein Barr virusom (EBV), humanim herpes virusom (HHV) i virusom humane imunodeficijencije (HIV) ili u sklopu imunskih bolesti. Djelovanje ovih noksizaziva oštećenje DNA i apoptozu. Etiologija idiopatske aplasične anemije je još uvijek nepoznata. Osim imunomoduliranog razaranja KMS-a u koštanoj srži nova istraživanja ukazuju na poremećenu interakciju između mikrookoline stromalnog dijela srži i KMS-a (4).

Izolirana aplazija crvene loze je autoimuna bolest karakterizirana teškom normocitnom anemijom, retikulocitopenijom i nedostatkom eritroblasta iz inače normalne koštane srži. Razlikuje se nasljedni (Blackfan-Diamond) i stečeni oblik bolesti (virus, autoimune bolesti, limfoproliferativne bolesti, lijekovi).

Mijelodisplazije karakterizira neefektivno stvaranje ili displazija mijeloidnih elemenata u koštanoj srži. Bolesnici često razvijaju tešku anemiju koja zahtijeva učestale transfuzije. Bolest se često pogoršava do progresivnog oštećenja koštane srži, a može se transformirati u mijeloidnu leukemiju (5).

Hemolitičke anemije

Hemolitičke anemije mogu biti nasljedne i stečene.

Nasljedne hemolitičke anemije su membranopatije zbog poremećaja membrane eritrocita (sferocitoza, eliptocitoza, akantocitoza, stomatocitoza), enzimopatije zbog poremećaja enzima u eritrocitu kao što su deficit glukoza 6 fosfat dehidrogenaze (G6PDH) i deficit piruvat kinaze (PK) te hemoglobinopatije kvantitativne (talasemije) i kvalitativne (HbS, HbC, nestabilni Hb).

U stečene hemolitičke anemije spadaju:

- autoimune (toplih i hladnih protutijela);
- aloimune ili izoimune (hemolitička transfuzijska reakcija, hemolitička bolest novorođenčeta);
- sindrom fragmentacije eritrocita (diseminirana intravaskularna koagulacija, hemolitičko uremički sindrom, meningokokna sepsa);
- uzrokovane mikroorganizmima (plazmodij, klostridij), kemijskim i fizikalnim tvarima (lijekovi, opekline);
- sekundarne uzrokovane bolestima jetre i bubrega.

Membranopatije, od kojih je najčešća *sferocitoza* koja nastaje zbog poremećaja strukturnog proteina spektrina. Manjak korelira s kliničkom slikom. Zbog poremećaja membrane eritrocit je promijenjenog oblika, sferocitan te otežano prolazi kroz slezenu, a zbog manjke glukoze ubrzano se razgrađuje. *Stomatocitoza* je posljedica dva membranska defekta. Povećana je propustljivost za Na i K te su povećane količine lipida u

*Klinički odjel za hematologiju, onkologiju, imunologiju i medicinsku genetiku
Klinika za dječje bolesti KBC Split
Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

Adresa za dopisivanje:
Višnja Armanda, dr. med.
Klinički odjel za hematologiju, onkologiju, imunologiju i medicinsku genetiku
Klinika za dječje bolesti KBC Split
21000 Split, Spinčićeva 1
E-mail: visnja.armanda@yahoo.com

membrani. *Akantocitoza* je posljedica nedostatka beta-lipoproteina pa eritrociti imaju 50-70% više kolesterola u membrani. Laboratorijski se nalazi blaga do umjerena anemija uz splenomegaliju. Liječenje je splenektomija.

Enzimopatije su anemije u koje spada nedostatak G6PDH, a nasljeđuje se X vezano. Uzrokuje ga nedovoljno stvaranje reduciranog oblika nikotinamid adenin dinukleotid fosfat-oksidade (NADPH), što uzrokuje smanjenu koncentraciju reduciranog glutationa pa su eritrociti osjetljivi na oksidans. Lijekovi ili određena hrana (bob) uzrokuju denaturaciju Hb i oksidacijski stres. Liječenje je simptomatsko uz izbjegavanje konzumacije tvari koje uzrokuju oksidacijski stres.

Hemoglobinopatije su anemije nastale zbog poremećaja hemoglobina. Dije se na kvalitativne i kvantitativne. Gen za Hb lociran je na 11 i 16 kromosomu, a alfa i beta lanac sastoje se od oko 120 aminokiselina. Danas je moguće locirati i odrediti svaku supstituciju aminokiselina koja uzrokuje sindrom patološkog Hb. Poznato je više od 400 tipova patološkog Hb. Nekoliko njih prevladava, kao što su HbS, HbC i HbD.

Kvalitativne hemoglobinopatije

Anemija srpastih stanica nastaje zbog toga što u stanjima hipoksije HbS postaje netopiv, stvara kristale što rezultira nastankom mikroinfarkta u mikrocirkulaciji. Laboratorijski se dokazuje elektroforezom hemoglobina (EFHb) u kojoj se nađe patološki HbS, a u razmazu krvi deformirane, srpaste eritrocite. *Hemoglobinopatija C* u homozigotnom obliku rezultira tek blagom anemijom. *Hemoglobinopatija D* je najčešća u sjeveroistočnoj Indiji i Kavkazu. Homozigotni oblik rezultira blagom anemijom. Sindrom nestabilnog Hb nasljeđuje se autosomno dominantno. Manifestira se u prvih 6 mjeseci života kada je 30-40% Hb zamijenjeno nestabilnim. Ne može se dokazati pomoću EFHb-a nego zagrijavanjem seruma na 50°C. Očituje se splenomegalijom i najčešće umjerenom anemijom.

Kvantitativne hemoglobinopatije

Talasemije su anemije klasificirane prema tome radi li se o smanjenom stvaranju alfa ili beta-globinskih lanaca. Beta-globinski lanac kodiran je jednim genom na kromosomu 11, a alfa-lanac je kodiran s dva usko povezana gena na kromosomu 16. Dije se prema težini kliničke slike na talasemiju minor, intermedija i major, a prema genetici podjela ovisi o vrsti globinskog lanca (alfa, beta). Teško je objasniti pojam talasemije jer nije riječ o jednoj bolesti nego o skupini poremećaja sa sličnom kliničkom slikom. Još veću zabunu stvara činjenica da je do pojave genetske dijagnostike postojala samo klinička podjela talasemija. Najbolju klasifikaciju daje odvojeni prikaz kliničke slike i genskih promjena.

Alfa talasemija nastaje zbog delecije alfa gena dok je *beta talasemija* (mediteranska) rezultat potpunog manjka beta lanca. Postoji više od 100 genskih poremećaja koji rezultiraju ovom slikom (6).

Stečene hemolitičke anemije najčešće su imune, a dije se na aloimune i autoimune. Imune hemolitičke anemije uzrokuju 3 vrste protutijela. To su stečena aprotutijela usmjerena protiv transfundiranih eritrocita nastala nakon transfuzije ili nastala tijekom trudnoće usmjerena protiv djetetovih eritrocita te autoprotutijela koja se aktiviraju na tjelesnoj temperaturi i autoprotutijela koja aktivira hladnoća, a usmjerena su protiv vlastitih eritrocita.

Hemolitička bolest novorođenčeta (fetalna eritroblastoz) najčešća je stečena hemolitička anemija dječje dobi. Nastaje kao rezultat inkompatibilnosti trudnice i ploda u ABO, anti-D ili non-D Rh sustavu (7).

Autoimuna hemolitička anemija (AIHA) nastaje zbog pojave protutijela na vlastite eritrocite najčešće tijekom infekcija ili pri uporabi lijekova (penicilin, cefalosporin). Ove anemije imaju akutan ili kroničan tijek. Akutni tijek čest je u djece s kliničkom slikom hepatosplenomegalije i hemolitičke krize. Oporavak je najčešće spontan. Kronični tijek povezan je uz maligne (limfomi) ili autoimune bolesti (lupus). AIHA topli protutijela vezana uz eritrocite su imunoglobulini

IgG klase, a AIHA hladna protutijela su imunoglobulini IgM klase (pojave se pri infekciji virusom ili mikoplazmom). Nakon pothlađivanja u razmazu krvi se nađu tipični sferociti.

Sindrom fragmentacije eritrocita je intravaskularno mehaničko traumatsko razaranje eritrocita koje nastaje kada normalni eritrociti prolaze kroz oštećene arteriole i fragmentiraju se pa se u razmazu periferne krvi nađu shistociti (8).

Zbog oštećenja stijenke malih krvnih žila pokreće se mehanizam intravaskularne koagulacije. Prolaskom kroz takvu mikrovaskulaturu eritrociti se oštete i propadaju. Nastaje zbog *hemolitičko uremijskog sindroma* (HUS) koji je ponajprije bolest bubrega, a karakterizira je akutno zatajenje bubrega, hemoliza i diseminirana intravaskularna koagulacija (DIK). Smrtnost je oko 50%. Ovaj sindrom može se pojaviti i kod DIK-a.

Dijagnostika

Dijagnoza anemije započinje pretragom kompletne krvne slike (KKS), diferencijalne krvne slike (DKS), retikulocita (RTC) i izgleda stanica u razmazu periferne krvi. Nakon toga se dijeli prema eritrocitnim konstantama na: normocitne, mikrocitne i makrocitne sa retikulocitozom ili bez nje. Još nekoliko specifičnih testova bit će dostatno za definitivnu dijagnozu.

Anemije zbog poremećaja u sazrijevanju eritrocita

Anemije zbog manjka željeza dijagnosticiraju se pomoću KKS-a, eritrocitnih konstanti, retikulocita, distribucije širine eritrocita (engl. *Red Blood Cell Distribution Width* - RDW), razine serumskog željeza, TIBC, razine serumskog feritina, aspiracije koštane srži. Obično se nalaze niže vrijednosti MCV, hemoglobina, serumskog feritina i željeza te povišene vrijednosti TIBC. Kao važna pretraga u procjeni ove anemije rabe se topljivi transferinski receptori (TfR) koji su, u ovom slučaju, povišeni. Upotreba TfR olakšava kliničku dijagnozu anemije manjka željeza, osobito ako istovremeno imamo i anemiju kronične bolesti ili maligne bolesti probavnog sustava (9, 10).

Hipoproliferacijske anemije

Anemija kronične bolesti dijagnosticira se pomoću KKS (normocitna, normokromna) bez retikulocitoze, RDW-a koji raste što je mnogo senzitivnija metoda od opisa izgleda eritrocita. Skraćen je vijek eritrocita uz blago poremećene vrijednosti parametara hemolize i povećane koncentracije reaktanata akutne faze. Osim spomenutih koristit će se i pretrage specifične za bolest bubrega ili endokrinog sustava.

Anemije zbog bolesti krvotvorne matične stanice

Aplastična anemija dijagnosticira se osnovnim pretragama KKS-a, izgledom stanica u razmazu periferne krvi (pancitopenija, toksične granulacije u neutrofilima, makrocitoza, snižen apsolutni broj monocita), niskom vrijednosti retikulocita i hipoplazijom koštane srži s povećanim udjelom masnih stanica, rezidualnom limfocitozom, plazma stanicama i stromalnim elementima. U izolirane aplazije crvene loze u aspiratu koštane srži nađe se oskudna eritrocitopoeza.

Anemije zbog pojačanog razaranja eritrocita

Hemolitičke anemije membranopatije definiraju se izgledom eritrocita (sferocitoza, eliptocitoza, akantocitoza, stomatocitoza), enzimopatije određivanjem deficita G6PDH ili PK, a hemoglobinopatije pomoću EFHb-a (Tablica 1).

Uz anemiju i retikulocitozu u razmazu periferne krvi nađu se eritrociti različitog oblika (sferociti, eliptociti, akantociti, ovalociti, stomatociti), a u koštanoj srži hiperplazija eritrocitne loze. Vijek eritrocita je skraćen, nekonjugirani bilirubin u serumu, urobilinogen u urinu te željezo u urinu su povišeni, a haptoglobin je u serumu snižen.

Kod membranopatija, osim promijenjenog izgleda eritrocita zbog ubrzane razgradnje, nalazi se polikromazija, eritroblasti te eritrociti s Hovell-Jollyjevima tjelešcima. Rabi se i denzitometrijsko određivanje bjelančevina membrane koje definira podtipove hereditarne sferocitoze te genetska dijagnostika svake od spomenutih membranopatija (eliptocitoza - mutacija gena za alfa i beta spektrin; sferocitoza-mutacija gena na

Tablica 1.
Hemolitičke anemije

Vrsta anemije	Podjela	Pretrage
	membranopatije (sferocitoza, eliptocitoza, stomatocitoza, akantocitoza, ovalocitoza)	KKS, RTC LDH, haptoglobin, feritin, TfR, bilirubin, željezo Urobilinogen u urinu Razmaz periferne krvi Denzitometrijsko određivanje membranskih proteina Genetska dijagnostika Kod akantocitoze abetalipoproteinemija
Nasljedne	enzimopatije (deficit G6PDH i PK)	KKS, RTC LDH, haptoglobin, feritin, TfR, bilirubin, željezo Urobilinogen u urinu Razmaz periferne krvi uz bojanje metilenskim modrilom (Heinzova tjelešca) Direktni dokaz nedostatka enzima Genska dijagnostika
	hemoglobinopatije (talasemija: major, intermedija, minor; anemija srpastih stanica; hemoglobinopatija C, D)	KKS, RTC MCV LDH, haptoglobin, feritin, TfR, bilirubin, željezo, TIBC Elektroforeza Hb Genska dijagnostika
Stečene	izoimune (fetalna eritroblastoz, posttransfuzijska reakcija) autoimune (s toplim i hladnim protutijelima)	KKS, RTC LDH, haptoglobin, feritin, TfR, bilirubin, željezo, TIBC Razmaz periferne krvi IAT, DAT DAT s anti-IgG, anti-IgA, anti-IgM, anti-C3c i anti-C3d

kromosomu 1, 8, 14, 15 ili 17). Akantocitozu karakterizira slobodni kolesterol nakupljen u eritrocitnoj membrani i laboratorijski abetalipoproteinemija. Uz deficit G6PD, u enzimopatija, bojanjem metilenskim modrilom mogu se naći Heinzova tjelešca u eritrocitu uz fragmentaciju istih što se rabi kao test probira. Genskom dijagnostikom deficita PK nalazimo mutaciju dvaju različitih gena na kromosomu 15.

Naknadno se kod hemoglobinopatija određuju mutacije globina, odnosno promjene u sastavu aminokiselina u globinskim lancima pa je kod talasemije, uz pokazatelje hemolize, potrebno dokazati koji globinski lanac je promijenjen prema čemu se određuje vrsta talasemije (12). β -talasemiju major (mediteranska anemija) karakterizira potpuni nedostatak beta-lanca. Laboratorijski je prisutna teška hipokromna mikrocitna anemija s retikulocitozom, a u perifernom razmazu krvi povećan je broj eritroblasta, target stanica i eritrocita s bazofilnim punktacijama. EFHb ukazuje na gotovo potpuni nedostatak hemoglobina A. Hemoglobin A2 normalan je ili blago povišen. Citogenetski se nađe točkasta mutacija unutar genskog kompleksa, u začetniku gena ili u području genetskog pojačivača. Postoji preko 200 različitih genetskih poremećaja koji uzrokuju ovu vrstu talasemije.

Heterozigotna β -talasemija minor je česti oblik talasemije koji se očituje hipokromnim, mikrocitnim eritrocitima s urednim nalazom crvene krvne slike i bez simptoma. U EFHb se nađe udio hemoglobina A2 >3,5%. Diferencijalnodijagnostički u talasemije minor za razliku od anemije manjka željeza, eritrociti su mali, ali je njihov broj normalan ili veći jer organizam kompenzira poremećaj. Ukoliko je vrijednost Hb-a iznad 10 g/dl, a MCV manji od 75 cu mikrona, najvjerojatnije je riječ o talasemiji. Također je potrebno imati kvantitativni nalaz Hb-a A2 i F.

U većini laboratorija, običnom EFHb-a, neće se dobiti vrijednost A2 Hb-a ali će se dobiti vrijednost HbH ili HbE te će se moći postaviti sumnja na drugu hemoglobinopatiju. β -talasemija intermedija je srednje teški oblik tala-

semije s vrijednostima Hb-a 7-10 g /dl. U anemije srpastih stanica ili hemoglobinopatije S eritrocit poprima srpasti izgled a u elektroforezi prevladava HbS. U hemoglobinopatije C prisutni su blagi laboratorijski znakovi hemolize uz prisutnost stanica poput mete, romba ili mikrosferocita. Hemoglobinopatija D kliničkom slikom podsjeća na anemiju srpastih stanica. Genetski se može dokazati zamjena glutamina u položaju 121 β -globinskog lanca s glicinom. Prenatalna molekularna dijagnostika hemoglobinopatija određuje DNK iz amnijske tekućine ili biopta korionskih resica mapiranjem gena kojim se utvrđuje mutacija. Drugi način je analiza polimorfizma duljine restrikcijских fragmenata (engl. *Restriction Fragment Length Polymorphism - RFLP*).

Kod AIHA u laboratorijskim nalazima vide se znakovi hemolize uz prisutnost autoprotutijela na eritrocite (Coombsov test), povišena je laktat dehidrogenaza (LDH), indirektna bilirubinemija, retikulocitoza i snižen haptoglobin. Normalne vrijednosti LDH ne isključuju hemolizu. Retikulocitoza može nedostajati u početku AIHA-e ili ako je snižena funkcija koštane srži (npr. nakon kemoterapije). Često se u razmazu periferne krvi mogu naći mikrosferociti. Mikrosferociti su prekriveni autoprotutijelima zbog čega izgube svoj bikonkavni oblik. Kod jače hemolize otpuštaju se veće količine Hb-a u krv koji se onda također može naći i u urinu (hemoglobinurija). Odmah po sumnji na AIHA potrebno je napraviti indirektni antiglobulinski test (IAT) i direktni antiglobulinski test (DAT) (Tablica 1). IAT potvrđuje postojanje autoprotutijela na eritrocite u serumu. U rijetkim slučajevima klinička slika može izrazito upućivati na AIHA-u, a da DAT bude negativan (13).

Da bi se potvrdio negativni nalaz potrebno je DAT ponoviti i s anti-IgG, anti-IgA, anti-IgM, anti-C3c i anti-C3d. Ako postoji depozit komplementa (C3c/C3d) bez prisutnosti autoprotutijela mora se razmisliti je li riječ o bifaznim protutijelima ili prisutnosti CA-Ab (IgM), WA-Ab (IgM, IgA). Daljnjim pretragama, najbolje na temperaturi od 37°C, dokazuje se prisutnost IgA ili IgM protutijela koja mogu uzrokovati fulminatnu i fa-

talnu hemolizu. IgM protutijela je teško potvrditi jer smo ih isprali tijekom izrade direktnog Coombsovog testa. Optimalna temperatura za IgM vezanje i vršenje DAT-a je krucijalna. Ako postoji spontana aglutinacija nakon inkubacije bolesnikovog seruma na 16°C mora se posumnjati na AIHA uzrokovanu IgM klasom protutijela (14).

Zaključak

Ovim člankom pokušali smo razlučiti i definirati anemiju kao bolest, podjelu anemija te dijagnostičke specifičnosti svake od spomenutih vrsta. Osnovne dijagnostičke pretrage čine KKS, razmaz perifernog krvi, eritrocitne konstante (MCV, MCH, MCHC) i RTC čiji nas nalaz dalje vodi prema specifičnim pretragama i bliže konačnoj dijagnozi.

Autori izjavljuju da nisu bili u sukobu interesa.
Authors declare no conflict of interest.

LITERATURA

- Čulić S. Utjecaj nedostatka željeza na različite organske sustave. U: Čulić S, Nakić M, Aurer I. ur. Sideropenična anemija, Medicinska naklada, Zagreb 2006; 83-97.
- Aslinia F, Mazza JJ, Yale SH. Megaloblastic anemia and other causes of macrocytosis. Clin Med Res. 2006; 4 (3): 236-41.
- Čulić S. Eritropoetin u terapiji specifičnih oblika anemije. Paediatr Croat 2002; 46: 71-7.
- Găman A, Găman G, Bold A. Acquired aplastic anemia: correlation between etiology, pathophysiology, bone marrow histology and prognosis factors. Rom J Morphol Embryol. 2009; 50 (4): 669-74.
- Korthof ET, Békássy AN, Hussein AA. Management of acquired aplastic anemia in children. Bone Marrow Transplant. 2013; 48 (2): 191-5.
- Cunningham MJ. Update on thalassemia: clinical care and complications. Hematol Oncol Clin North Am. 2010; 24 (1): 215-27.
- Dajak S, Stefanović V, Capkun V. Severe hemolytic disease of fetus and newborn caused by red blood cell antibodies undetected at first-trimester screening (CME). Transfusion. 2011; 51 (7): 1380-8.
- Lesesve JF, Salignac S, Lecompte T. Contribution of the complete blood cell count to the efficiency of fragmentation haemolytic anaemia diagnosis. Ann Biol Clin (Paris). 2001; 59 (5): 551-8.

- Koulaouzidis A, Said E, Cottier R, Saeed AA. Soluble transferrin receptors and iron deficiency, a step beyond ferritin. A systematic review. J Gastrointest Liver Dis. 2009; 18 (3): 345-52.
- Hagve TA, Lilleholt K, Svendsen M. Iron deficiency anaemia-interpretation of biochemical and haematological findings. Tidsskr Nor Laegeforen. 2013; 133 (2): 161-4.

- Ohba R, Furuyama K, Yoshida K, i sur. Clinical and genetic characteristics of congenital sideroblastic anemia: comparison with myelodysplastic syndrome with ring sideroblast (MDS-RS). Ann Hematol. 2013; 92 (1): 1-9.
- Giambona A, Passarello C, Renda D, Maggio A. The significance of the hemoglobin A(2) value in screening for hemoglobinopathies. Clin Biochem. 2009; 42 (18): 1786-96.

- Kamesaki T, Oyamada T, Omine M, Ozawa K, Kajii E. Cut-off value of red-blood-cell-bound IgG for the diagnosis of Coombs-negative autoimmune hemolytic anemia. Am J Hematol. 2009; 84 (2): 98-101.
- Zeerleder S. Autoimmune haemolytic anaemia-a practical guide to cope with a diagnostic and therapeutic challenge. Neth J Med. 2011; 69 (4): 177-84.

Summary

DIAGNOSTIC APPROACH TO THE CHILD WITH ANEMIA

V. Armanda, S. Čulić, D. Petrović

According to the pathogenesis anemia is classified as anemia due to defective red cell maturation (iron-deficiency, sideroblastic, megaloblastic), hypoproliferative (anemia of chronic disease, anemia in chronic renal failure, anemia of endocrine diseases, myelophthisic anemia), failure of haematopoietic stem cells (aplastic anemia, congenital or acquired, pure red cell aplasia, myelodysplasia) and hemolytic (hereditary-membranopathy, enzymopathy, hemoglobinopathy; acquired-autoimmune, izoimmune; acquired non immune, red cell fragmentation syndrome, microangiopathic hemolytic anemia-hemolytic uremic syndrome, disseminated intravascular coagulation). Each of these disorders requires different diagnostic approach. For diagnosis we recommend: complete blood count with erythrocyte constants (MCV, MCH, MCHC), RDW, shape of blood cells in peripheral blood smear, reticulocytes, erythropoietin levels, and analysis of bone marrow aspirate/biopsy, kariogram, molecular diagnostics, and HLA tissue typing. For anaemia due to maturation disorders we recommend Fe, UIBC, TIBC, ferritin, serum soluble transferrin receptors, levels of vitamin B12 and folic acid. Hemolytic anemia is diagnosed by Coombs test, ferritin, haptoglobin and LDH. Further diagnostic approach, in view of the main findings, is differentiated by sophisticated methods of molecular and genetic diagnostics.

Descriptors: ANEMIA, LABORATORY DIAGNOSIS, CHILDREN

Primljeno/Received: 6. 3. 2013.
Prihvaćeno/Accepted: 29. 3. 2013.