

Laboratorijska i klinička obilježja autoimunih hemolitičkih anemija dijagnosticiranih u Kliničkom bolničkom centru Osijek

Vartušek, Majda

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:152:964693>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-25**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK
PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO
LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

Majda Vartušek

LABORATORIJSKA I KLINIČKA
OBILJEŽJA AUTOIMUNIH
HEMOLITIČKIH ANEMIJA
DIJAGNOSTICIRANIH U KLINIČKOM
BOLNIČKOM CENTRU OSIJEK

Završni rad

Osijek, 2021.

Rad je ostvaren u Zavodu za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti KBC Osijek.

Mentor rada: doc. dr. sc. Vlatka Periša

Rad ima 21 list i 5 tablica.

Veliku zahvalu dugujem svojoj mentorici, doc. dr. sc. Vlatka Periša, na neopisivom trudu, uloženom vremenu, stručnoj pomoći, strpljenju i savjetovanju tijekom cijelog procesa pisanja završnog rada.

Posebno zahvaljujem svojim roditeljima i sestri, koji su mi pružili ljubav, bezuvjetnu podršku, motivaciju te vjeru u moj uspjeh. Želim se zahvaliti i svojoj sestrični, koja mi je na ovom putovanju omogućila veliki stručni napredak i poticala me da slijedim svoje snove. Hvala vam, jer znam da ćete uvijek biti moj najveći oslonac i potpora.

Zahvaljujem svojim prijateljima za veliku podršku i brigu te što su cijelo vrijeme vjerovali u mene.

Sadržaj

1. UVOD	1
1.1 Autoimuna hemolitička anemija	1
1.1.1 Klinička slika	2
1.1.2 Podjela autoimunih hemolitičkih anemija.....	3
1.1.3 Laboratorijska dijagnostika.....	5
1.1.4 Liječenje.....	6
2. CILJ.....	8
3. ISPITANICI I METODE	9
3.1 Etička načela	9
3.2 Ispitanici.....	9
3.3 Metode	9
3.4 Statističke metode	9
4. REZULTATI.....	10
4.1 Demografska i klinička obilježja pacijenata s novodijagnosticiranom autoimunom hemolitičkom anemijom (AIHA) sa Zavoda za hematologiju Kliničkog bolničkog centra Osijek	10
4.2 Podjela autoimunih hemolitičkih anemija prema uzroku u pacijenata s novodijagnosticiranom autoimunom hemolitičkom anemijom (AIHA) sa Zavoda za hematologiju Kliničkog bolničkog centra Osijek	11
4.3 Imunohematološka podjela autoimune hemolitičke anemije u pacijenata s novodijagnosticiranom autoimunom hemolitičkom anemijom (AIHA) sa Zavoda za hematologiju Kliničkog bolničkog centra Osijek	11
4.4 Laboratorijska obilježja pacijenata s novodijagnosticiranom autoimunom hemolitičkom anemijom (AIHA) sa Zavoda za hematologiju Kliničkog bolničkog centra Osijek	12
4.5 Imunološke pretrage pacijenata s novodijagnosticiranom autoimunom hemolitičkom anemijom (AIHA) sa Zavoda za hematologiju Kliničkog bolničkog centra Osijek	13
5. RASPRAVA	14
6. ZAKLJUČAK.....	16
7. SAŽETAK	17
8. SUMMARY	18
9. LITERATURA	19
10. ŽIVOTOPIS	21

POPIS KRATICA

AIHA (engl. *autoimmune hemolytic anemia*) – autoimuna hemolitička anemija

ANA (engl. *antinuclear antibody*) – antinuklearno antitijelo

anti-dsDNA (engl. *anti-double stranded DNA*) – antitijela na dvostruku uzvojniciu DNA

CAD (engl. *cold agglutinin disease*) – bolest hladnih aglutinina

CAS (engl. *cold agglutinin syndrome*) – sekundarni sindrom hladnih aglutinina

CLL (engl. *chronic lymphocytic leukemia*) – kronična limfocitna leukemija

CMV (engl. *cytomegalovirus*) – citomegalovirus

CRP (engl. *C reactive protein*) – C reaktivni protein

CVID (engl. *common variable immune deficiency*) – obična varijabilna imunodeficijencija

DAT (engl. *direct antiglobulin (direct Coombs) test*) – direktni Coombsov antiglobulinski test

DKS (engl. *differential blood count*) – diferencijalna krvna slika

EBV (engl. *Epstein-Barr virus*) – Epstein-Barr virus

HBV (engl. *hepatitis B virus*) – virus hepatitis B

HCV (engl. *hepatitis C virus*) – virus hepatitis C

HIV (engl. *human immunodeficiency virus*) – virus humane imunodeficijencije

Htc (engl. *hematocrit*) – hematokrit

IAT (engl. *indirect antiglobulin (indirect Coombs) test*) – indirektni Coombsov antiglobulinski test

IgG (engl. *immunoglobuline G*) – imunoglobulin G

IM (engl. *infectious mononucleosis*) – infektivna mononukleoza

IVIG (engl. *intravenous immunoglobulin*) – intravenozni imunoglobulin

KKS (engl. *complete blood count – CBC*) – kompletna krvna slika

LDH (engl. *lactate dehydrogenase*) – laktat dehidrogenaza

MAC (engl. *membrane attack complex*) – kompleks koji napada membranu

MCH (engl. *Mean Corpuscular Hemoglobin*) – prosječan stanični hemoglobin

MCHC (engl. *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration*) – prosječna stanična koncentracija hemoglobin

MCV (engl. *Mean Corpuscular Volume*) – prosječni volumen eritrocita

PBC (engl. *primary biliary cholangitis*) – primarna bilijarna ciroza

PCH (engl. *paroxysmal cold hemoglobinuria*) – paroksizmalna hemoglobinurija na hladnoću

RA (engl. *rheumatoid arthritis*) – reumatoidni artritis

RDW (engl. *Red Cell Distribution Width*) – indeks širine raspodjele eritrocita prema volumenu

SLE (engl. *systemic lupus erythematosus*) – sistemski eritematozni lupus

VZV (engl. *varicella-zoster virus*) – varicella zoster virus

WAHA (engl. *warm autoimmune hemolytic anemia*) – autoimuna hemolitička anemija uzrokovana toplim autoantitijelima

1. UVOD

1.1 Autoimuna hemolitička anemija

Autoimune hemolitičke anemije (AIHA) su rijetke autoimunosne bolesti uzrokovane autoantitijelima protiv antigena bolesnikovih vlastitih eritrocita što dovodi do njihove pojačane razgradnje i skraćuje njihov karakteristični životni vijek koji traje oko 120 dana.

Intravaskularna hemoliza odnosno raspadanje eritrocita u cirkulaciji može nastupiti nakon traumatskih oštećenja eritrocita, vezanja sustava komplementa na eritrocitne membrane ili djelovanjem egzotoksina. Nasuprot tome razaranje eritrocita u mono-nuklearnom sustavu, odnosno ekstravaskularna hemoliza, posljedica je aktivacije makrofaga specifičnim imunoglobulinima vezanim za membranu eritrocita ili zbog strukturnih promjena eritrocitne membrane. Težina anemija i stopa hemolize ovise o serološkim karakteristikama autoantitijela, kao što su razred protutijela, podrazred protutijela i sposobnost aktivacije sustava komplementa. Ukoliko su u reakciju uključena imunoglobulin (Ig) G autoantitijela hemoliza je ekstravaskularna, a ovisno o podrazredu IgG antitijela, moguća je aktivacija komplementa do C3b komponente. Ukoliko su u reakciju uključena IgM autoantitijela hemoliza je ili ekstravaskularna ili intravaskularna. IgM autoantitijelo snažno aktivira komplement do C3b komponente ili čak može nastaviti aktivaciju do MAC kompleksa (engl. *membrane attack complex*).

Radi naglog napredovanja bolesti organizam pokušava nadoknaditi ubrzano propadanje eritrocita tako da povećava stvaranje i otpuštanje eritropoetina u bubrezima čime povećava eritrocitopoezu barem 5 puta iznad normalne vrijednosti. Nastala hiperplazija eritrocitne loze u koštanoj srži događa se pretvorbom neaktivne žute srži u crvenu (1, 2, 3).

S obzirom da ne postoji genetska predispozicija za razvoj bolesti, AIHA pripada stečenim imunskim hemolitičkim anemijama. Incidencija AIHA-e procjenjuje se na 1 do 3 bolesnika na 100 000 stanovnika godišnje. Ipak, veći rizik od oboljenja imaju žene i ljudi starije životne dobi. Klinički se dijeli na primarnu (idiopatsku) i sekundarnu AIHA. Primarna nastaje zbog poremećaja imunskog odgovora na vlastiti antigen ili sličan imunogen, dok sekundarna nastaje zbog poremećaja imunološke regulacije i poliklonalne aktivacije B limfocita nastalih kao

odgovor na vanjske čimbenike (lijekovi) ili neku drugu bolest poput sistemskog eritematoznog lupusa (SLE) i limfoproliferativnih bolesti (3, 4, 5).

Ukoliko su uzrokovane lijekovima, AIHA možemo podijeliti u tri skupine. Penicilinski (haptenski) tip AIHA može nastati kod bolesnika koji primaju velike doze intravenskog penicilina koji se snažno veže za eritrocitne antigene i uzrokuje hemolizu. Bolest se javlja 7 – 14 dana od početka antibiotske terapije penicilinom, a ubrzo nakon prekida terapije dolazi do oporavka. AIHA uzrokovana primjenom antihipertenziva alfa-metildope nastupa zbog stvaranja autoantitijela, koja su usmjerena na antigene Rh sustava, na eritrocite. AIHA zbog oblaganja kompleksom lijek-protein plazme (antigen)-protutijelo-komplement nastaje uslijed interakcije lijeka s proteinom, što potiče stvaranje protutijela IgG ili IgM klase i formiranje kompleksa koji se veže za eritrocite i aktivira sustav komplementa. Lijekovi koji mogu prouzročiti ovakav tip hemolize su kinidin, rifampicin, probenecid, neki cefalosporini i drugi. Prilikom liječenja potrebno je samo prekinuti uzimanje lijeka koji uzrokuje hemolizu (1).

1.1.1 Klinička slika

AIHA obično ima nagli početak bolesti, a klinička i laboratorijska obilježja koja nastupaju posljedica su pojačanog raspadanja, ali i kompenzatornog pojačanog stvaranja eritrocita. U nekih bolesnika AIHA ne mora biti popraćena pojavom simptoma, pogotovo u slučaju kada je hemoliza eritrocita blaga i postupno se razvija. Tek kada je koncentracija hemoglobina < 90 g/L javljaju se simptomi slični drugim vrstama anemija (umor, slabost, glavobolja, nedostatak koncentracije, osjećaj nedostatka zraka, šum u ušima) i znakovi anemije (bljedoća kože, sluznica i konjunktiva, hladni ekstremiteti zbog centralizacije krvotoka i oslabljen periferni puls) (1, 2).

Simptomi ozbiljnog uništavanja eritrocita mogu uključivati žuticu kože i sklere, vrućicu, bol u prsima (posebno u naporu), nesvjesticu, simptome zatajenja srca (dispneja), pa čak i smrt. Ukoliko proces hemolize traje nekoliko mjeseci ili duže, može kao posljedicu imati uvećanu slezenu (splenomegalija) popraćenu osjećajem nadutosti, a povremeno i nelagode. Ukoliko je uzrok AIHA neki drugi poremećaj, mogu nastupiti simptomi primarnog poremećaja, kao što su otečeni i osjetljivi limfni čvorovi te vrućica (4).

1.1.2 Podjela autoimunih hemolitičkih anemija

Serološki se AIHA, prema termalnim osobinama autoantitijela, može podijeliti na toplu (65 do 70 %), hladnu (20 do 25 %) ili miješanu (8 %) (1, 3).

Ako protutijela pokazuju najjaču reaktivnost s antigenima eritrocita na temperaturi nižoj od 31 °C, uzrokujući aglutinaciju eritrocita u krvnim žilama periferne cirkulacije (intravaskularna aglutinacija), riječ je o AIHA uzrokovanoj hladnim antitijelima. Ona je posredovana hladnim aglutininima i Donath-Landsteinerovim antitijelima. Hladni aglutinini su IgM autoantitijela koja aglutiniraju eritrocite na temperaturi između 0 i 5 °C i vežu se na „I“ antigen na eritrocitnoj membrani. Sustav komplement važan je pri destrukciji, a vezanje se događa na višoj temperaturi (1, 2).

Hladna AIHA može se podijeliti na primarnu (idiopatsku) bolest hladnih aglutinina (engl. *cold agglutinin disease*, CAD) i sekundarni sindrom hladnih aglutinina (engl. *cold agglutinin syndrome*, CAS) koja je posredovana hladnim aglutininima te paroksizmalnu hemoglobinuriju na hladnoći (engl. *paroxysmal cold hemoglobinuria*, PCH), posredovanu hladnim hemolizinima (1, 3).

Bolest hladnih aglutinina, CAD, ima karakterističan monoklonalni IgM zbog čega se može smatrati monoklonalnom gamopatijom, a u nekih bolesnika može se razviti i B-stanična limfoproliferativna bolest (Waldenströmova makroglobulinemija.). Bolest se tipično javlja kod pacijenata između 40. i 80. godine života, a uzrokuje slabost, bljedoću, vrtoglavice i dispneju. Osim navedenog, može uzrokovati žuticu kože i sklere te hemoglobinuriju uz pojavu karakterističnog tamno smeđeg urina. Ostali simptomi koji se mogu pojaviti potaknuti izlaganjem hladnoći uključuju znojenje i hladnoću prstiju i/ili nožnih prstiju te bolno plavičasto ili crvenkasto obojenje kože, gležnjeva i zglobova (akrocijanoza). Sekundarna bolest hladnih aglutinina pojavljuje se zajedno s nizom različitih osnovnih poremećaja kao što su određene zarazne bolesti (infekcija mikoplazmom pneumonije, citomegalovirus – CMV, infektivna mononukleoza – IM), imunoproliferativne bolesti (Ne-Hodgkinov limfom, kronična limfocitna leukemija – CLL, monoklonalna gamopatija nepoznatog značaja) ili autoimune bolesti (1, 6, 7).

PCH se pojavljuje vrlo rijetko i to u primarnom (idiopatskom) obliku ili kod djece kao sekundarni poremećaj nakon virusnih infekcija (zaušnjaci – Mumps virus, ospice – Morbilli virus). PCH započinje stvaranjem snažnih hemolizina, to jest specifičnih autoantitijela poznatih kao Donath-Landsteiner autoantitijela, IgG razreda antitijela usmjerenih na „P“ antigenski

kompleks na eritrocitnoj membrani tijekom izlaganja hladnim temperaturama. Taj kompleks na sebe može vezati i sustav komplementa te uzrokovati hemolizu. Bolest nastaje izlaganjem bolesnika hladnoći, a početak hemolize karakterizira hemoglobinurija, hemoglobinemija, iznenadna pojava drhtavice, malaksalosti, bolovi u nogama, leđima i trbuhu te glavobolja. Također se može pojaviti povećanje jetre i slezene na opipljivu razinu (1, 8).

Ako protutijela u bolesnika pokazuju najjaču reaktivnost s antigenima eritrocita na temperaturi od 37 °C, riječ je o AIHA uzrokovanoj toplim antitijelima (WAHA). Eritrociti su obično obloženi s IgG antitijelima, s IgG i komplementom ili samo s komplementom, a vrlo rijetko s IgA i IgM. Antitijela su većinom usmjerena na antigene Rh sustava na površini eritrocita. WAHA je najčešći tip autoimune hemolitičke anemije, a karakterizirana je laboratorijskim pokazateljima hemolize i pozitivnim Coombsovim testom. U nekih se bolesnika, uz istodobnu pojavu pozitivnog Coombsovog testa, može razviti i imuna trombocitopenija (ITP), odnosno Evansov sindrom, koji podrazumijeva stvaranje autoprotutijela usmjerena protiv različitih antigenskih determinanti na eritrocitima i trombocitima, a koja nisu križno reaktivna. U slučajevima brze i ozbiljne hemolize mogu se javiti bolovi u prsima, smanjena budnost (letargija), zbunjenost, prolazni gubitak svijesti (sinkopa) i deregulacija brzine otkucaja srca i krvnog tlaka (hemodinamska nestabilnost). Osim toga može se vidjeti i povećana slezena (splenomegalija), a WAHA može biti povezana i s povećanim rizikom od nastanka krvnih ugrušaka u venama (venska tromboembolija). Bolest može biti primarna (idiopatska) i sekundarna. Kod primarne WAHA autoantitijelo je specifično za antigen na membrane eritrocita, što ukazuje na nastanak poremećaja imunog odgovora na autoantigen ili sličan imunogen. Dok kod sekundarne AIHA autoantitijela nastaju uslijed poremećaja imunološke regulacije. Uzroci sekundarne WAHA uključuje lijekove, autoimune bolesti poput SLE i RA, kongenitalne imunodeficijencije te limfoidne zloćudne tumore (1, 2, 9).

Miješana AIHA nastaje kao posljedica preranog raspada eritrocita kombinacijom toplih reaktivnih IgG (na 37 °C) i hladnih IgM autoantitijela (niski titar) na optimalnoj temperature između 0 i 4 °C. Miješana AIHA često je povezana s naglim početkom hemolize, a dijeli se na idiopatsku (primarnu miješanu AIHA) i sekundarnu miješanu AIHA koja je najčešće povezana s autoimunim bolestima posebno SLE te limfomima (3, 10).

1.1.3 Laboratorijska dijagnostika

Laboratorijsko ispitivanje AIHA počinje pretragom krvne slike koja uključuje određivanje broja eritrocita, hematokrita (Htc) i koncentracije hemoglobina te izračunavanje eritrocitnih indeksa i broja retikulocita. Osim toga važno je istodobno učiniti analizu kompletne krvne slike (KKS), dakle odrediti broj leukocita, diferencijalnu bijelu krvnu sliku (DKS) i broj trombocita. Eritrocitni indeksi važan su pokazatelj anemije, a računaju se nakon određivanja hematokrita, broja eritrocita i koncentracije hemoglobina. U eritrocitne indekse ubraja se MCV (engl. *Mean Corpuscular Volume* – prosječni volumen eritrocita), MCH (engl. *Mean Corpuscular Hemoglobin* – prosječan stanični hemoglobin), MCHC (engl. *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration* – prosječna stanična koncentracija hemoglobina) i RDW (engl. *Red Cell Distribution Width* – indeks širine raspodjele eritrocita prema volumenu). Najvažniji laboratorijski pokazatelj patofiziologije anemije jest vrijednost retikulocitnog postotka. Retikulocitni indeks (Rtc indeks) služi za objektivnije određivanje mjere veličine eritropoeze odnosno prilikom prekomjernog stvaranja retikulocita (1, 2).

Nakon toga potrebno je obraditi pretrage za ispitivanje hemolize, a to su određivanje broja retikulocita, određivanje laktat-dehidrogenaze (LDH), ukupnog i nekonjugiranog bilirubina te citološki razmaz periferne krvi koji može ukazati na morfološke promjene eritrocita. Na hemolizu upućuje normo /makrocitna anemija (MCV u granicama normale ili povišen), povišeni broj retikulocita (zbog pojačanog kompenzatornog stvaranja eritrocita u koštanoj srži), povišeni nekonjugirani bilirubin (zbog pojačanog raspada eritrocita), povišeni LDH, smanjeni haptoglobin u serumu (protein akutne faze) i citološki razmaz periferne krvi s polikromazijom (veliki plavkasti nezreli eritrociti u kojima ima tragova ribonukleinske kiseline) ili specifičnijim značajkama, poput sferocita (eritrociti sferičnog izgleda bez centralnog bljedila) ili aglutinacije (2, 11).

No bez obzira što ovi parametri ukazuju na hemolizu, niti jedan od testova nije u potpunosti osjetljiv ili specifičan. Na primjer, bolesti jetre mogu imati povećani LDH i/ili smanjeni haptoglobin. Bilirubin može biti normalan s blažom hemolizom, a sferociti nisu uvijek vidljivi na citološkom razmazu. Retikulocitopenija se može pojaviti kod AIHA, ali sekundarno zbog infiltracije koštane srži limfoproliferativnim poremećajem ili zbog infekcije parvovirusom B19.

Nakon što se hemoliza potvrdi, potrebno je učiniti specijalni laboratorijski test za dokaz AIHA, to jest Coombsov antiglobulinski test koji se temelji na sposobnosti životinjskog protutijela usmjerenog protiv ljudskih serumskih proteina (IgG i/ili dijelovi komplekta (obično C3d)) da se vežu za eritrocite, ukoliko su ti proteini vezani za eritrocitnu membranu. Direktni Coombsov antiglobulinski test (DAT) određuje sposobnost anti-IgG i anti-C3 antiseruma da se vežu na IgG i C3 ako se nalaze na eritrocitima i izazovu aglutinaciju. Ponekad je važno odrediti jesu li ti proteini, koji su prisutni na membranama eritrocita, prisutni i u serumu bolesnika jer je količina autoantitijela premašila vezna mjesta na eritrocitima. Tada se koristi indirektni Coombsov antiglobulinski test (IAT), odnosno inkubiraju se normalni eritrociti s bolesnikovim serumom, a nakon toga se primjenjuje DAT. Ako su prisutni znaci hemolize, a DAT je negativan, AIHA se ne smije isključiti (može biti vrlo mala količina IgG vezanog na eritrocite ili vezan IgM ili IgA). Dakle, autoantitijela također mogu biti klase IgM i IgA, a u nekim se slučajevima za njihovo otkrivanje može koristiti prošireni DAT panel. Pozitivni IAT s negativnim DAT-om upućuje na to da nije riječ o autoimunoj bolesti, već o aloantitijelima stečenim prilikom ranijih transfuzija ili tijekom trudnoće. Za otkrivanje osnovnog poremećaja koriste se serumski imunoglobulini i elektroforeza s imunofiksacijom (ukoliko postoji sumnja na hladna autoantitijela, uzorak je potrebno držati na 37 °C dok se serum ne razdvoji). Osim toga, serološkom dijagnostikom može se dokazati prisutnost antitijela na HIV, HBV, HCV te autoantitijela u serumu (anti-dsDNA, antinuklearna antitijela – ANA) (1, 3, 11).

1.1.4 Liječenje

Oblik liječenja ovisi o težini kliničke slike, ali i o tome radi li se o primarnoj ili sekundarnoj AIHA. Ako je AIHA sekundarna u odnosu na osnovnu bolest, dijagnostika i liječenje osnovnog poremećaja obično donosi značajno poboljšanje anemije. U blažim slučajevima obično neće biti potrebno liječenje.

Pojedinci s težim slučajevima tople AIHA najčešće se liječe korikosteroidima poput prednizolona, koji djeluje na način da smanjuje imunosni odgovor i inhibira hemolizu. Visoke koncentracije lijeka korištene na početku terapije postupno se smanjuju tijekom narednih tjedana ili mjeseci. Ako je odgovor na terapiju steroidima nezadovoljavajući ili uzrokuje druge nuspojave (povećani rizik od virusnih i bakterijskih infekcija, osteoporoza, dijabetes), moraju se razmotriti drugi terapijski pristupi poput imunosupresiva (azatioprin, ciklofosamid),

rituksimaba, intravenoznog Ig (IVIG) ili splenektomije. Rituksimab je lijek koji se u početku koristio za liječenje tumora, daje se intravenozno kao sintetsko antitijelo koje djeluje na leukocite smirujući imunološki odgovor. Primjena rituksimaba je vrlo dobar izbor kod izazovnog liječenja Evansovog sindroma u djece. S obzirom da do hemolize eritrocita dolazi u slezeni, splenektomija (uklanjanje slezene) može izliječiti AIHA. U najtežim slučajevima mogu biti potrebne transfuzije krvi (4, 5, 12, 13).

Najbolji način liječenja hladne AIHA je supresija simptoma ili osnovnih poremećaja, koji izazivaju bolest, utopljanjem bolesnika i zaštita ekstremiteta od hladnoće. Splenektomija nema terapijskog učinka dok terapija kortikosteroidima može biti korisna u razdoblju akutne hemolize. U nekim slučajevima se može privremeno primijeniti plazmafereza za uklanjanje reaktivnih autoantitijela (2, 4).

2. CILJ

Ciljevi ovog istraživanja su:

1. Ispitati obilježja (primarna / sekundarna, topla / hladna / miješana protutijela) autoimune hemolitičke anemije u novooboljelih odraslih bolesnika liječenih u Kliničkom bolničkom centru Osijek.
2. Ispitati laboratorijska obilježja autoimune hemolitičke anemije u novooboljelih odraslih bolesnika liječenih u Kliničkom bolničkom centru Osijek (laboratorijske vrijednosti krvne slike, opće biokemije (laktat dehidoregenaza, bilirubin, haptoglobin, C reaktivni protein), imunološke pretrage (anti-dsDNA, C3, C4, antinuklearni faktor, kardiolipinska antitijela)).

3. ISPITANICI I METODE

3.1 Etička načela

Istraživanje je ustrojeno kao presječna studija i odobreno od strane Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku (Ur.broj 2158-61-07- 21-35) u ožujku 2021. godine.

3.2 Ispitanici

U ovo istraživanje su uključeni pacijenti kojima je u razdoblju od 1.12.2018. godine do 30.11.2020. godine u Kliničkom bolničkom centru (KBC) Osijek novodijagnosticirana autoimuna hemolitička anemija (AIHA).

3.3 Metode

Iz medicinskih zapisa Zavoda za hematologiju KBC-a Osijek preuzeta su demografska i klinička obilježja te inicijalna laboratorijska obilježja (laboratorijske vrijednosti krvne slike, opće biokemije, imunoloških pretraga; imunohematološko ispitivanje eritrocita).

3.4 Statističke metode

Za statističku obradu podataka korišten je statistički program SPSS Statistics Inc. (verzija 25.0, Chicago, IL,USA). Rezultati su prikazani opisno, grafički i tablično. Kod numeričkih varijabli (deskriptora) korištena je aritmetička sredina i SD za varijable normalne raspodjele, a medijan i raspon (minimum-maksimum) za varijable asimetrične raspodjele i za dob.

4. REZULTATI

4.1 Demografska i klinička obilježja pacijenata s novodijagnosticiranom autoimunom hemolitičkom anemijom (AIHA) sa Zavoda za hematologiju Kliničkog bolničkog centra Osijek

Istraživanje je uključilo 13 pacijenata kojima je u razdoblju od 1.12.2018. godine do 30.11.2020 godine u KBC-u Osijek novodijagnosticirana AIHA. Od ukupnog broja pacijenata, njih 7 (53,8 %) su žene, a 6 (46,2 %) pacijenata su muškarci. Medijan dobi pri postavljanju dijagnoze pacijenata je 65 godina u rasponu od 34 do 89. U tablici 1 prikazani su simptomi i znakovi pacijenata s novodijagnosticiranom AIHA-om. Pacijenti su se najčešće žalili na slabost, a od kliničkih znakova bljedilo i žutilo kože su bili najčešće uočeni.

Tablica 1. Simptomi i znakovi pacijenata oboljelih od autoimune hemolitičke anemije

	Klinička obilježja	Broj/ ukupno pacijenata
Simptomi	umor	9/11
	slabost	10/11
	dispneja	2/11
	glavobolja	1/11
	vertoglavica	1/11
Znakovi	bljedilo	8/11
	žutica	8/11
	splenomegalija	4/11

4.2 Podjela autoimunih hemolitičkih anemija prema uzroku u pacijenata s novodijagnosticiranom autoimunom hemolitičkom anemijom (AIHA) sa Zavoda za hematologiju Kliničkog bolničkog centra Osijek

AIHA je klasificirana kao primarna kod 4 (30,8 %) pacijenata, dok je kod ostalih 9 pacijenata dijagnosticirana sekundarna AIHA (69,2 %), koja je povezana s različitim osnovnim bolestima. U tablici 2 prikazane su osnovne bolesti koje su sekundarni uzrok AIHA-e. Limfoproliferativne bolesti su najčešći sekundarni uzrok AIHA-e i utvrđene su u 4 pacijenta (44,4 %).

Tablica 2. Prikaz osnovnih bolesti sekundarne autoimune hemolitičke anemije

	Broj pacijenata (N = 9)	Postotak / %
Limfoproliferativne bolesti	4	44,4
Druge maligne bolesti	1	11,1
Autoimune bolesti	2	22,2
Infektivne bolesti	2	22,2

4.3 Imunohematološka podjela autoimune hemolitičke anemije u pacijenata s novodijagnosticiranom autoimunom hemolitičkom anemijom (AIHA) sa Zavoda za hematologiju Kliničkog bolničkog centra Osijek

Prema serološkoj klasifikaciji AIHA-e kod 11 pacijenata (84,6 %) dijagnosticirana je „topla“ AIHA, dok je „hladna“ AIHA bila dijagnosticirana kod jednog (7,7 %) pacijenta, a „miješanu“ AIHA-u imao je jedan (7,7 %) pacijent.

4.4 Laboratorijska obilježja pacijenata s novodijagnosticiranom autoimunom hemolitičkom anemijom (AIHA) sa Zavoda za hematologiju Kliničkog bolničkog centra Osijek

U tablici 3 prikazana su laboratorijska obilježja krvne slike pacijenata s novodijagnosticiranom AIHA-om. Kod svih pacijenata vrijednost hemoglobina je ispod referentnih vrijednosti s medijanom 66 (32-84) g/L.

Tablica 3. Laboratorijske vrijednosti krvne slike

	Medijan	Minimum-maksimum
Eritrociti (Erc) x 10¹² /L	1,76	1,13 - 3,30
Retikulociti (Rtc) x 10⁹/L	140,20	13,30 - 319,00
Hemoglobin (Hb) g/L	66	32 - 84
MCV fL	107,30	80,0 - 133,6
RDW %	19,70	14,00 - 30,90
Leukociti (Lkc) x 10⁹/L	9,50	1,90 - 271,50
Trombociti (Trc) x 10⁹/L	204,00	72 - 317
Limfociti (Limfo) x 10⁹/L	6,59	0,21 - 558,00

MCV, prosječni volumen eritrocita; RDW, indeks širine raspodjele eritrocita prema volumenu

U tablici 4 prikazana su laboratorijska vrijednosti opće biokemije pacijenata s novodijagnosticiranom AIHA-om. Vrijednost LDH je iznad referentnih vrijednosti kod svih pacijenata s medijanom 611 (373 – 1035) U/L kao i vrijednost bilirubina s medijanom 62 (24 – 150) µmol/L .

Kod svih pacijenata snižena je vrijednost haptoglobina i iznosi < 0,08 g/L.

Tablica 4. Laboratorijske vrijednosti opće biokemije

	Medijan	Minimum-maksimum
LDH U/L	611	373 - 1035
Bilirubin, $\mu\text{mol/L}$	62	24 - 150
CRP, mg/L	10	1.5 - 33

LDH, laktat dehidrogenaza; CRP, C reaktivni protein

4.5 Imunološke pretrage pacijenata s novodijagnosticiranom autoimunom hemolitičkom anemijom (AIHA) sa Zavoda za hematologiju Kliničkog bolničkog centra Osijek

U tablici 5 prikazane su vrijednosti titra anti-kardiolipinskih antitijela, koje su se određivale kod manjeg broja pacijenata. Medijan titra anti-kardiolipinskog antitijela IgG je 4,2 (2,6 – 50,4) U/mL, a medijan titra anti-kardiolipinskog antitijela IgM je 1,9 (1,0 – 11,0) U/mL.

Tablica 5. Klasifikacija anti-kardiolipinskih antitijela

	Medijan	Minimum-maksimum
Anti-kardiolipinska antitijela IgG (titar)	4,2	2,6 - 50,4
Anti-kardiolipinska antitijela IgM (titar)	1,9	1,0 - 11,0

Kvantitativnom metodom („skrining test“) utvrđeno je prisustvo autoantitijela u krvi kod manjeg broja pacijenata (N = 6). Kod 50 % pacijenata nalaz je negativan, dok je kod ostala 3 pacijenta antinuklearno antitijelo dobiveno u omjeru 1 : 1000. Anti-dsDNA pozitivan je kod dva pacijenta i vrijednost medijana titra iznosi 1218 (135 – 1218).

5. RASPRAVA

U ovom završnom radu provedeno je istraživanje na 13 pacijenata s novodijagnosticiranom AIHA-om. Ispitana su demografska i klinička obilježja te inicijalna laboratorijska obilježja (laboratorijske vrijednosti krvne slike, opće biokemije, imunoloških pretraga; imunohematološko ispitivanje eritrocita).

AIHA je vrlo heterogena bolest, koja vrlo brzo može postati po život opasna bolest, a nastaje zbog povećanog razaranja autolognih eritrocita posredstvom autoantitijela i/ili sustavom komplementa (14). Prema studijama najčešći znakovi i simptomi AIHA su umor, slabost, bljedoća, žutica (15), koji se prema statističkim podacima pojavljuju kod više od 73 % oboljelih AIHA. Dok se otežano disanje i splenomegalija (15) razvijaju u manje od 20 % pacijenata.

Raspodjela pacijenata prema spolu išla je u korist ženskog spola, što je slučaj i u prospektivnoj opservacijskoj studiji KroHem-a gdje incidencija kod žena iznosi 63,5 % (16). Jedan od mogućih razloga zašto žene češće obolijevaju je zbog gubitka krvi pri porodu ili obilnim menstruacijama (17). Rizik za oboljevanje povećava se s dobi te većinom nastupa nakon 40 godine života, ali može se razviti i u ranoj dječjoj dobi (14, 18). Statistička obrada pokazala je da je medijan dobi pri postavljanju dijagnoze pacijenata, koji iznosi 65 godina u rasponu od 34 do 89, u korelaciji s preliminarnim rezultatima KroHem studije (16). Osim procesa starenja ostali važni rizični faktori koji utječu na razvitak bolesti su genetička predispozicija, imunodeficijencija, infektivne bolesti te limfoproliferativne neoplazme (18). Većina ispitanika, njih 9, razvila je sekundarnu AIHA-u povezanu s različitim osnovnim bolestima među kojima prevladavaju limfoproliferativne bolesti, a nešto manje infektivne i autoimunosne bolesti (SLE). Ukoliko navedeno usporedimo s prospektivnom KroHem-ovom studijom vidimo da je rezultat također viši od 60 %. Nasuprot tome, pacijenti rjeđe obolijevaju od primarne, odnosno idiopatske AIHA, čiji je uzrok nepoznat (16).

AIHA može se serološki klasificirati na nekoliko načina: na temelju termalnih osobina autoantitijela te prema izotipu autoantitijela. Serološka klasifikacija temelji se na DAT ili Coombsovom testu i na IAT ili indirektnom Coombs testu. Topla AIHA (wAIHA) predstavlja najveću prevalenciju (60 – 70 %) i uglavnom se javlja kao posljedica IgG koji se veže za eritrocite na temperaturi oko 37 °C. DAT je tipično pozitivan kod anti-IgG antiseruma ili IgG

plus C pri niskom titru. Druga najčešći oblik je AIHA posredovana hladnim aglutininima i pojavljuje se u 20 – 25 % slučajeva, a za posljedicu ima IgM autoantitijela koja imaju optimalnu temperaturu reakcije na 4 °C i snažno aktiviraju komplement. DAT je pozitivan kod anti-C antiseruma, a u serumu se nalazi visok titar hladnih aglutinina. Naposljetku, mješovita AIHA (5 – 10 % bolesnika) pokazuje zajedničke karakteristike tople i hladne AIHA, s DAT pozitivnim i za IgG i C i za hladne aglutinine s visokim titrom. U tom kontekstu, Pulanić i suradnici (16) utvrdili su da većina bolesnika ima „toplu“ AIHA-u (75 %), dok je „hladnu“ AIHA-u imalo 8 pacijenata, a „miješanu“ AIHA-u manje od 10 % oboljelih. U našem istraživanju zabilježena je incidencija wAIHA od čak 84,6 %.

S obzirom da je AIHA heterogena bolesti, svi oblici bolesti imaju različit stupanj anemije, hemolize i kompenzacije koštane srži za pripadajuće koncentracije hemoglobina i laktat dehidrogenaze, te broj retikulocita (19). Sukladno našem istraživanju, Pulanić i sur. (16) opisuju snižene koncentracije hemoglobina i povišene vrijednosti LDH. Statističkom obradom utvrdili smo da medijan koncentracije hemoglobina pri dijagnozi AIHA iznosi 66 g/L, dok je medijan koncentracije LDH znatno veći od preliminarnе prospektivne studije i iznosi 611 U/L. Naši rezultati ukazuju i na povišenu koncentraciju bilirubina i CRP-a kod svih pacijenata. Kod svih pacijenata snižena je vrijednost haptoglobina i iznosi < 0,08 g/L.

Skrining test za dokazivanje osnovne bolesti koja uzrokuje AIHA-u, poput ispitivanja ANA ili anti-dsDNA na SLE, primjenjuje se za pacijente s kliničkom anamnezom ili ukoliko dijagnoza upućuje na sekundarnu AIHA (20). Statističkom obradom dobili smo pozitivan rezultat ANA titra za 3 pacijenta, od kojih 2 pacijenta ima dijagnosticiranu sekundarnu AIHA prouzrokovanu autoimunom bolešću (SLE).

Obradeni statistički podatci prikazani opisno, tablično i grafički korištenjem statističkog programa SPSS Statistics Inc. usporedivi su s literaturnim podacima.

6. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Većina novooboljelih odraslih bolesnika liječenih u KBC-u Osijek ima „toplu“ AIHA-u.
2. Češća je sekundarna AIHA koja je najčešće povezana s limfoproliferativnim bolestima.
3. Laboratorijske vrijednosti opće biokemije (LDH, bilirubin, CRP) u novooboljelih odraslih bolesnika s AIHA-om u KBC-u Osijek uvijek su povišene.
4. Kod svih pacijenata vrijednost hemoglobina i haptoglobina je ispod referentnih vrijednosti.

7. SAŽETAK

Uvod: Autoimuna hemolitička anemija (AIHA) rijetka je autoimuna bolest uzrokovana stvaranjem autoantitijela protiv antigenskih dijelova eritrocitnih membrana, skraćujući im tako životni vijek i uzrokujući normo- / makrocitnu anemiju.

Cilj: Cilj ovog istraživanja bio je ispitati kliničke i laboratorijske značajke novooboljelih odraslih pacijenata dijagnosticiranih i liječenih u Kliničkom bolničkom Centru (KBC) Osijek.

Materijali i metode: Istraživanje je ustrojeno kao presječna studija i provedeno pomoću medicinskih zapisa Zavoda za hematologiju KBC Osijek u kombinaciji s demografskim i kliničkim karakteristikama te početnim laboratorijskim nalazima odraslih pacijenata s novodijagnosticiranom AIHA u razdoblju od 1. prosinca 2018. do 30. studenog 2020.

Rezultati: Prikupljeni su podaci o 13 bolesnika (53,8 % žene) s novodijagnosticiranom AIHA. Medijan dobi pri dijagnosticiranju AIHA bio je 65 godina (raspon 34–89 godina). Većina bolesnika imala je “toplu” AIHA (N=11, 84,6 %), “hladnu” AIHA-u imao je jedan (7,7 %), a “miješanu” AIHA-u isto jedan (7,7 %) bolesnik. AIHA je kategorizirana kao primarna u 4 (30,8 %) bolesnika, dok je u ostalih sekundarnih (N = 9, 69,2 %) bila povezana s različitim osnovnim bolestima: najčešće s B-limfoproliferativnim neoplazmama (N = 4, 44,4 % sekundarnih), drugim autoimunskim bolestima (N = 2, 22,2 % sekundarnih) i infektivnim bolestima (N = 2, 22,2 % sekundarnih). Medijan koncentracije hemoglobina pri dijagnozi AIHA bio je 66 (32 – 84) g/L, laktat dehidrogenaze 611 (373 – 1035) U/L.

Zaključak: Većina pacijenata bila je ženskog spola i imali su toplu autoimunu hemolitičku anemiju i sekundarni oblik bolesti, najčešće povezan s malignim bolestima (limfoproliferativne bolesti).

Ključne riječi: autoimuna hemolitička anemija, autoantitijela, limfoproliferativne bolesti

8. SUMMARY

Title: Laboratory and clinical characteristics of autoimmune hemolytic anemia in adults diagnosed in University Hospital Centre Osijek

Introduction: Autoimmune hemolytic anemia (AIHA) is a rare autoimmune disease caused by the production of autoantibodies against the self-antigenic parts of erythrocyte membranes, thus shortening their life span and causing normo-/makrocytic anemia.

Aim: The aim of this study was to examine the clinical and laboratory characteristics of newly diagnosed adult patients diagnosed and treated at the Clinical Hospital Centre Osijek.

Materials and Methods: This cross-sectional study was performed using medical records at the Department of Haematology at the Clinical Hospital Centre Osijek combined with demographic and clinical characteristics and initial laboratory findings of adult patients with newly diagnosed AIHA in the period from the 1st of December 2018 to the 30th of November 2020.

Results: Thirteen patients with newly diagnosed autoimmune hemolytic anemia were included, 7 out of 13 were female (53,8 %) and 5 out of 13 (46,2 %) were male patients. The median value of the age at diagnosis of AIHA was 65 years old (range from 34 to 89 years). AIHA was classified as primary in 4 (30,8 %) patients, while in other cases (9 patients, 69,2 %) appeared as the secondary, which is associated with various underlying conditions: most commonly with B-lymphoproliferative neoplasms (4 patients, 44,4 % secondary), other autoimmune diseases (2 patients, 22,2 % secondary) and infectious diseases (2 patients, 22,2 % secondary). Most patients had warm antibody hemolytic anemia (11 patients, 84,6 %), cold antibody hemolytic anemia had only one patient (7,7 %) and mixed antibody hemolytic anemia also had only one patient (7,7 %). The median hemoglobin concentration at the diagnosis of AIHA was 66 g/l (32 – 84 g/l), while lactate dehydrogenase was 611 U/l (373 – 1035 U/l).

Conclusion: Overall, we conclude that most patients had warm antibody hemolytic anemia and a secondary form of the disease, most commonly associated with malignant diseases (lymphoproliferative neoplasms).

Key words: autoimmune hemolytic anemia, autoantibodies, lymphoproliferative neoplasms

9. LITERATURA

1. Labar B. Hematologija. Zagreb: Školska knjiga; 2017. str. 105 – 109, 133 – 156.
2. Pulanić D, Včev A. Anemija – jedna od najčešćih bolesti ili znakova bolesti u medicini. Osijek: Medicinski fakultet, 2014. str. 17 – 28, 55 – 64.
3. Raos M, Pulanić D, Lukić M, Vinković M, Golubić Čepulić B. Klasifikacija autoimunskih hemolitičkih anemija. Bilten Krohema Glasilo Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti. 2019., 2. str. 29 – 31. Dostupno na adresi: <https://www.krohem.hr/wp-content/uploads/2019/11/KroHem-bilten-11.2-za-tisak.pdf#page=31> Datum pristupa: 03.06.2021.
4. Braunstein EM, Johns Hopkins School of Medicine. MSD Manual Consumer Version. Content last modified April 2021. Dostupno na adresi: <https://www.msdmanuals.com/home/blood-disorders/anemia/autoimmune-hemolytic-anemia#> Datum pristupa: 03.06.2021.
5. National Organization for Rare Disorders (NORD). Anemia, Hemolytic, Acquired Autoimmune. 2004. Dostupno na adresi: <https://rarediseases.org/rare-diseases/anemia-hemolytic-acquired-autoimmune/> Datum pristupa: 03.06.2021.
6. Leveille E, Brugnara C. National Organization for Rare Disorders (NORD). Cold Agglutinin Disease. 2020. Dostupno na adresi: <https://rarediseases.org/rare-diseases/cold-agglutinin-disease/> Datum pristupa: 03.06.2021.
7. Schönberger M, Besednik V. Intervencije medicinske sestre kod terapijskih postupaka u pacijenata s hladnom autoimunom hemolitičkom anemijom (AIHA). Sestrinski glasnik. – 23. 2018. str. 25-25
8. Garratty G, Laboratory Medicine, University of California, Los Angeles. National Organization for Rare Disorders (NORD). Paroxysmal Cold Hemoglobinuria. 2012. Dostupno na adresi: <https://rarediseases.org/rare-diseases/paroxysmal-cold-hemoglobinuria/> Datum pristupa: 06.06.2021.
9. Leveille E, Brugnara C. National Organization for Rare Disorders (NORD). Warm Autoimmune Hemolytic Anemia. 2020. Dostupno na adresi: <https://rarediseases.org/rare-diseases/warm-autoimmune-hemolytic-anemia/> Datum pristupa: 03.06.2021.

10. DynaMed. Ipswich (MA): EBSCO Information Services. 1995 - . Record No. *T918184*, Mixed Autoimmune Hemolytic Anemia. 2018. Dostupno na adresi: <https://www.dynamed.com/condition/mixed-autoimmune-hemolytic-anemia> Datum pristupa: 08.06.2021.
11. Hill A, Hill QA. Autoimmune hemolytic anemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2018;2018(1):382-389. Dostupno na adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6246027/> Datum pristupa: 03.06.2021.
12. Malić Tudor K, Čulić S, Armanda V, Kuljiš D. Uspješna primjena rituksimaba u dječaka s Evansovim sindromom - prikaz bolesnika. *Paediatr Croat*. 2017.
13. NHS. Oxford University Hospitals.NHS Foundation Trust. Autoimmune haemolytic anaemia – Information for patients. 2021.
14. Barcellini W, Zaninoni A, Giannotta JA, Fattizzo B. *Journal of Clinical Medicine*. New Insights in Autoimmune Hemolytic Anemia: From Pathogenesis to Therapy. 2020.
15. Bianco C, Coluccio E, Prati D, Valenti L. *Journal of Clinical Medicine*. Diagnosis and Management of Autoimmune Hemolytic Anemia in Patients with Liver and Bowel Disorders. 2021.
16. Pulanić D, Raos M, Periša V, Mitrović Z, Blaslov V, Krečak I, i sur. Prospektivna opservacijska studija KroHem-a o autoimunskim hemolitičkim anemijama – preliminarni rezultati. *KroHem*. 2019.
17. Biggers A, Higuera V. *Medical News Today*. All about autoimmune hemolytic anemia. 2018. Dostupno na adresi: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/312508> Datum pristupa: 26.07.2021.
18. Michalak SS, Olewicz-Gawlik A, Rupa-Matysek J, Wolny-Rokicka E, Nowakowska E, Gil L. Autoimmune hemolytic anemia: current knowledge and perspectives. *BMC. Immunity & Ageing* volume 17, Article number: 38. 2020
19. Barcellini W, Fattizzo B. The Changing Landscape of Autoimmune Hemolytic Anemia. *Frontiers in immunology*. 2020.
20. Pitel P. Autoimmune hemolytic anemia. *Cancer Therapy Advisor. Hospital Medicine*. 2019.

10. ŽIVOTOPIS

Majda Vartušek

Datum i mjesto rođenja: 26. kolovoza 1999., Osijek, Hrvatska

Adresa: Šándora Petöfia 208 A, 31 000, Osijek, Hrvatska

E-adresa: majda.vartusek2@gmail.com

Obrazovanje:

2018. – 2021. Medicinski fakultet Osijek – preddiplomski sveučilišni studij medicinsko
laboratorijske dijagnostike

2014. – 2018. III. gimnazija Osijek

2006. – 2014. Osnovna škola “Retfala” Osijek