

Patogeneza autoimune hemolitičke anemije

Krtić, Sara

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka / Sveučilište u Rijeci**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:193:660764>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-27**

Repository / Repozitorij:



[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Biotechnology and Drug Development - BIOTECHRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI
ODJEL ZA BIOTEHNOLOGIJU
Preddiplomski sveučilišni studij
„Biotehnologija i istraživanje lijekova“

Sara Krtić

Patogeneza autoimune hemolitičke anemije

Završni rad

Rijeka, 2023.

SVEUČILIŠTE U RIJECI
ODJEL ZA BIOTEHNOLOGIJU
Preddiplomski sveučilišni studij
„Biotehnologija i istraživanje lijekova“

Sara Krtić

Patogeneza autoimune hemolitičke anemije

Završni rad

Rijeka, 2023.

UNIVERSITY OF RIJEKA
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY
Undergraduate university study programme
„Biotechnology and drug research“

Sara Krtić

Pathogenesis of autoimmune hemolytic anemia

Undergraduate thesis

Rijeka, 2023.

Mentor rada: prof. dr. sc. Hana Mahmutefendić Lučin

Završni rad obranjen je dana 21. srpnja 2023. godine pod povjerenstvom:

1. izv. prof. dr. sc. Ivana Munitić
2. doc. dr. sc. Daniela Kalafatović
3. prof. dr. sc. Hana Mahmutefendić Lučin

Rad ima 30 stranica, 4 slike, 2 tablice i 41 literaturni navod.

SAŽETAK

Autoimuna hemolitička anemija (AIHA) heterogena je skupina bolesti uzrokovana napadom vlastitih protutijela, autoprotutijela, na antigene eritrocita. Dijeli se na primarnu AIHA, nastalu kao posljedica imunološke reakcije, te sekundarnu, nastalu uslijed poremećaja imunološke regulacije. Incidencija AIHA iznosi 1 do 3 slučaja na 100 000 osoba godišnje, a dijagnosticira se direktnim (DAT) i indirektnim (IAT) antiglobulinskim testom. Na temelju dijagnostičkih testova i osobina autoprotutijela, AIHA se dijeli na toplu (wAIHA), hladnu (cAIHA) i miješanu. Nadalje, hladna se AIHA, prema etiopatogenezi, dijeli na bolest hladnih aglutinina (CAD) te sindrom hladnih aglutinina (CAS). Paroksizmalna hladna hemoglobulinurija (PCH) rijedak je oblik autoimune hemolitičke anemije u kojemu se autoprotutijela vežu na eritrocite na niskim temperaturama, a komplement aktiviraju pri visokim temperaturama. Uz aktivaciju sustava komplementa i stvaranje membranskog napadajućeg kompleksa (MAC), hemoliza može biti uzrokovana aktivacijom ADCC mehanizma ili fagocitozom eritrocita od strane makrofaga. Poremećaji gena regulacije imunskog sustava, infekcije, okoliš, lijekovi i tumorske tvorbe mogući su uzroci nastanka AIHA. Obzirom na heterogenost bolesti i različite imunopatogene mehanizme nastanka AIHA, terapije se mogu uvelike međusobno razlikovati. Prva su linija liječenja glukokortikosteroidi, potom slijede rituksimab, ali i splenektomija. Imunosupresivni lijekovi, ciklosporin, azatioprin i ciklofosamid, čine treću liniju terapije. U tijeku su klinička ispitivanja novih terapija koje uključuju inhibiciju fagocitoze eritrocita (fostamatinib, nipocalimab), inhibiciju Brutonove tirozin kinaze (rilzabrutinib i ibrutinib), inhibiciju proteasoma (bortezomib), anti-CD38 monoklonska protutijela (daratumumab, isatuximab), inhibiciju mTOR (sirolimus) i inhibiciju proteina komplementa (ekulizumab, pegcetakoplan, sutimlimab).

KLJUČNE RIJEČI: autoimuna hemolitička anemija (AIHA), autoprotutijela, hemoliza, direktni antiglobulinski test (DAT), glukokortikosteroidi.

SUMMARY

Autoimmune hemolytic anemia (AIHA) is a heterogeneous group of diseases caused by the attack of endogenous antibodies (autoantibodies) on erythrocyte antigens. It is divided into primary AIHA, which results from an immune response, and secondary AIHA, which is caused by disorders of immune regulation. The incidence of AIHA is 1 to 3 cases per 100,000 people per year, and it is diagnosed by direct (DAT) and indirect (IAT) antiglobulin tests. Based on the diagnostic tests and the characteristics of the autoantibodies, AIHA is divided into warm (wAIHA), cold (cAIHA), and mixed forms. In addition, cold AIHA is subdivided into cold agglutinin disease (CAD) and cold agglutinin syndrome (CAS), depending on the etiopathogenesis. Paroxysmal cold hemoglobinuria (PCH) is a rare form of autoimmune hemolytic anemia in which autoantibodies bind to erythrocytes at low temperatures and activate the complement system at high temperatures. With activation of the complement system and formation of the membrane attack complex (MAC), hemolysis may be caused by activation of the ADCC mechanism or phagocytosis of erythrocytes by macrophages. Disorders of genes regulating the immune system, infection, environment, drugs, and tumor formation are possible causes of AIHA. Considering the heterogeneity of the disease and the different immunopathogenic mechanisms of AIHA, therapies may differ widely. The first line of treatment is glucocorticosteroids, followed by rituximab, but also splenectomy. Immunosuppressive drugs, cyclosporine, azathioprine, and cyclophosphamide, make up the third line of therapy. Clinical trials of new therapies include erythrocyte phagocytosis inhibition (fostamatinib, nipocalimab), Bruton tyrosine kinase inhibition (rilzabrutinib and ibrutinib), proteasome inhibition (bortezomib), monoclonal antibodies to CD38 (daratumumab, isatuximab), mTOR inhibition (sirolimus), and complement protein inhibition (eculizumab, pegcetacoplan, sutimlimab).

KEYWORDS: autoimmune hemolytic anemia (AIHA), autoantibodies, hemolysis, direct antiglobulin test (DAT), glucocorticosteroids.

Popis skraćenica

6-MP - 6-merkatopurin

ADCC - stanična citotoksičnost ovisna o protutijelima

AIHA - autoimuna hemolitička anemija

AKT - protein kinaza B

ATP - adenzin trifosfat

BCR - B-stanični receptor

BPO - benzil penicioilna skupina

BTK - Brutonova tirozin kinaza

cAIHA - hladna autoimuna hemolitička anemija

CTLA-4 - citotoksični T-limfocitni antigen 4

DAT - direktni antiglobulinski test

DNA - deoksiribonukleinska kiselina

FKBP - FK506 vezujući protein

GKS - glukokortikosteroidi

GTP protein - gvanozin-trifosfat vezujući protein

HA - hemolitička anemija

Hb - hemoglobin

HLA - sustav humanog leukocitnog antigena

IAT - indirektni antiglobulinski test

Ig - imunoglobulin

IL - interleukin

IV - intravenozno

KLL - kronična limfocitna leukemija

MAC - membranski napadajući kompleks

mAIHA - miješana autoimuna hemolitička anemija

MCHC - prosječna koncentracija hemoglobina u litri krvi

MCV - prosječni volumen eritrocita

MHC - glavni kompleks histokompatibilnosti

mTOR - ciljana molekula rapamicina u sisavaca

NFAT - nuklearni faktor aktiviranih T stanica

NF- κ B - nuklearni faktor κ B

NK stanice - stanice prirodne ubojice

PCH - paroksizmalna hladna hemoglobinurija

PI3K - fosfoinozimid 3-kinaza

RBC - crvene krvne stanice

SYK - tirozin kinaza slezene

TCR - T-stanični receptor

TGF- β - transformirajući faktor rasta β

TNF- α - tumorski faktor nekroze α

Tregs - T regulatorne stanice

wAIHA - topla autoimuna hemolitička anemija

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Anemije.....	1
1.2. Hemolitičke anemije.....	2
1.3. Autoimune hemolitičke anemije	2
2. EPIDEMIOLOGIJA AIHA	3
3. KLASIFIKACIJA I DIJAGNOSTIKA AUTOIMUNE HEMOLITIČKE ANEMIJE. 5	
3.1. Topla AIHA.....	7
3.2. Hladna AIHA	7
3.3. Miješana AIHA.....	8
4. IMUNOPATOGENEZA AIHA.....	8
4.1. Hemoliza posredovana IgG protutijelima.....	9
4.2. Hemoliza posredovana IgM protutijelima.....	10
4.3. Disregulacija citokina u AIHA.....	11
4.4. Utjecaj genskog izražaja na AIHA	12
4.5. AIHA posredovana lijekovima	13
4.6. Utjecaj bolesti i infekcija na razvoj AIHA	14
6. LIJEČENJE AIHA.....	16
6.1. Liječenje wAIHA	16
6.2. Liječenje bolesti hladnih aglutinina (CAD)	18
6.3. Liječenje ostalih oblika AIHA	19
6.4. Transfuzija krvi u AIHA.....	20
6.5. Buduće metode liječenja AIHA i klinička ispitivanja	20
6.5.1. Inhibicija fagocitoze u terapiji AIHA	20
6.5.2. Inhibicija BTK u terapiji AIHA	22
6.5.3. Inhibicija proteasoma u terapiji AIHA	23
6.5.4. Primjena anti-CD38 protutijela u terapiji AIHA	24
6.5.5. mTOR inhibicija u terapiji AIHA	24
6.5.6. Inhibicija komplementa u terapiji AIHA	25
7. SVRHA RADA.....	26
8. LITERATURA	27
9. ŽIVOTOPIS.....	31

1. UVOD

1.1. Anemije

Stanje smanjenog broja crvenih krvnih stanica ili njihovog smanjenog kapaciteta prijenosa kisika u organizmu definira se, prema Svjetskog zdravstvenoj organizaciji, kao anemija (slabokrvnost) [1]. Anemije su relativno česti poremećaji, a procjenjuje se da je 40% djece, 37% trudnica i 30% žena u svijetu anemično [2]. Najčešća anemija je sideropenična anemija koja nastaje kao posljedica nedostatka željeza u krvi.

Anemije su primarno karakterizirane smanjenom koncentracijom hemoglobina (Hb) u krvi, što najčešće podrazumijeva i smanjeni broj eritrocita. Ukoliko je koncentracija Hb niža od 110 g/L u djece, 120 g/L u mladih žena i 130 g/L u muškaraca, smatra se da je osoba anemična [3]. Manjak hemoglobina kao prijenosnika kisika uzrokuje nedovoljnu oksigenaciju tkiva pa posljedično i umor, slabost, dispneju, vrtoglavicu ili gubitak svijesti [2], [4]. U bolesnika se mogu razviti poremećaji funkcije tkiva i organa uzrokovani hipoksijom te se aktiviraju kompenzacijski mehanizmi s ciljem smanjenja učinaka hipoksije na organizam. Preraspodjela krvnog optoka, pojačana sinteza eritropoetina u bubrezima i smanjenje afiniteta hemoglobina za kisik glavni su kompenzacijski mehanizmi u pacijenata oboljelih od slabokrvnosti. Koji će se mehanizam aktivirati te u kojem intenzitetu, ovisi o brzini razvitka anemije i njezinom uzroku.

Širok spektar uzroka anemija stvorio je različite kriterije prema kojima se anemije raspoređuju u pojedine skupine, od kojih su glavne: a) anemije uzrokovane poremećajem u stvaranju i sazrijevanju eritrocita, b) anemije uzrokovane nepravilnom građom i sintezom hemoglobina (hemoglobinopatije), c) anemije koje nastaju uslijed povećane razgradnje crvenih krvnih stanica (hemolitičke anemije), d) anemije uzrokovane prevelikom gubitkom krvi [4].

1.2. Hemolitičke anemije

Hemolitičke anemije (HA) su stanja uzrokovana pojačanom razgradnjom eritrocita. Etiološki se dijele u dvije velike skupine: a) korpuskularne hemolitičke anemije, uzrokovane poremećajima unutar samih eritrocita, i b) ekstrakorpuskularne hemolitičke anemije, koje su, u pravilu, autoimune etiologije [4]. U korpuskularne hemolitičke anemije ubrajamo nasljedne metaboličke poremećaje eritrocita (manjak glukoza-6-fosfat dehidrogenaze ili piruvat-kinaze), te poremećaje građe eritrocitne membrane. S druge strane, ekstrakorpuskularne hemolitičke anemije su uzrokovane poremećajima izvan eritrocita, a prvenstveno podrazumijevaju patogenetske mehanizme unutar imunološkog sustava, tj. stvaranje autoprotutijela protiv eritrocitnih antigena, koje može nastati kao posljedica infekcija, ali i preosjetljivosti na lijekove [4].

Hemolitičke anemije uzrokuju aktivaciju brojnih kompenzacijskih mehanizama u organizmu. Pojačana razgradnja eritrocita potiče bubrege na pojačano lučenje eritropoetina. Stoga se u koštanoj srži povećava eritropoeza, čime se nadoknađuje manjak eritrocita nastao uslijed hemolize. Opskrbljivanje tkiva kisikom će u tom slučaju biti poboljšano, ili čak i normalno, no znakovi će hemolize biti izraženi u obliku povećane koncentracije bilirubina u plazmi. Hiperbilirubinemija odgovorna je za stvaranje hemolitičke žutice, jednog od kliničkih znakova hemolitičke anemije. Nadalje, kako bi se povećala doprema kisika tkivima, pojačava se i aktivnost kardiovaskularnog sustava koja se očituje u obliku hiperdinamične cirkulacije [4].

1.3. Autoimune hemolitičke anemije

Autoimune bolesti nastaju kao posljedica reakcije imunološkog sustava protiv tvari, organa i tkiva normalno prisutnih u vlastitom organizmu. Autoimuna hemolitička anemija (AIHA, eng. Autoimmune hemolytic anemia) heterogena je bolest uzrokovana hemolizom (uništavanjem) crvenih krvnih stanica domaćina. U ovom slučaju, hemoliza eritrocita

nastaje uslijed napada vlastitih protutijela, autoprotutijela, na eritrocitne antigene pacijenta, zbog čega ova vrsta anemije pripada autoimunim bolestima [5]. Čimbenika je za razvoj AIHA, kao i u drugim autoimunim bolestima mnogo, što ju čini multifaktorijalnom bolešću [6]. Mogući uzroci su prestanak tolerancije imunološkog sustava na vlastite antigene, križna reakcija antigena namijenjenih protiv drugog antigena s eritrocitnim antigenima te promjena eritrocitnih antigena zbog prisutnosti bakterija ili virusa [4], što ćemo kasnije detaljnije opisati (poglavlje 4.6.)

Autoprotutijela koja se vežu na antigene eritrocita mogu biti „topla“ ili „hladna“. „Topla“ su imunoglobulini (Ig) razreda IgG koji reagiraju s eritrocitima na 37°C. S druge strane, „hladna“ protutijela razreda IgM reagiraju s eritrocitima na temperaturama nižima od 37°C [4]. Toplinske karakteristike autoprotutijela dovele su do podjele AIHA na dvije skupine: toplu AIHA i hladnu AIHA. Budući da su imunološki mehanizmi različiti za toplu i hladnu autoimunu hemolitičku anemiju, različiti su i principi terapije [5] (poglavlja 6.1., 6.2. i 6.3.).

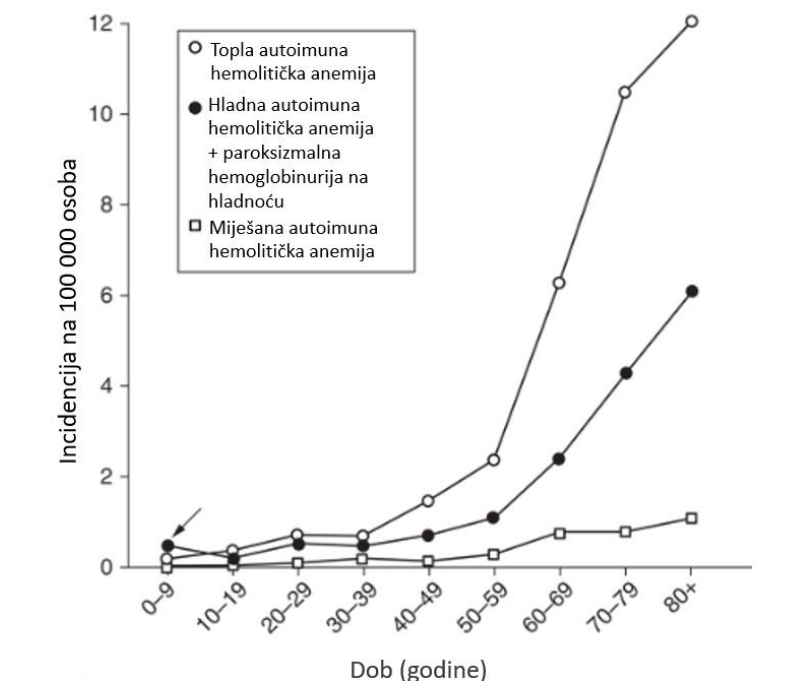
Razvije li se AIHA kao posljedica poremećaja imunološke reakcije, bez konkretnog drugog razloga, klasificira se kao primarna, odnosno idiopatska. Nastane li pak kao posljedica poremećaja imunološke regulacije, svrstava se u sekundarnu AIHA. Poremećaji imunološke regulacije uključuju druge autoimune bolesti, djelovanje lijekova, limfoproliferativne poremećaje kojima pripadaju Hodgkinova bolest, ne-Hodgkinov limfom, Waldenströmova makroglobulinemija. Stoga se incidencija AIHA povećava nakon četrdesete godine života. Ipak, bitno je napomenuti da osobe bilo koje životne dobi mogu razviti AIHA, uključujući djecu [7].

2. EPIDEMIOLOGIJA AIHA

Incidencija autoimune hemolitičke anemije iznosi 1 do 3 slučaja na 100 000 osoba godišnje, zbog čega se smatra vrlo rijetkom bolešću [5]. Topla AIHA čini 2/3 slučajeva i predstavlja najčešći oblik [8]. Rizik od oboljenja raste sa starošću, a bolest se uobičajeno javlja u osoba starijih od 50

godina. Naime, procesi starenja povećavaju težinu oksidativnog stresa, ali i promjene u građi eritrocitne membrane, što rezultira starenjem eritrocita i njihovom preranom smrću.

Tijek bolesti varira od blagih do teških oblika, u kojima oboljeli mogu biti životno ugroženi. U djece se uobičajeno javlja akutni i prolazni oblik jer su uzroci najčešće virusne infekcije. U odraslih se češće javlja kronični oblik, osobito kada se AIHA razvije kao sekundarna bolest. Stopa preživljavanja u odraslih osoba iznosi 91% nakon jedne godine, 75% nakon pet i 73% nakon 10 godina. Postotak smrtnosti iznosi 4%, a smrt je najčešće posljedica infekcije, Evansova sindroma ili akutnog zatajenja bubrega [5].

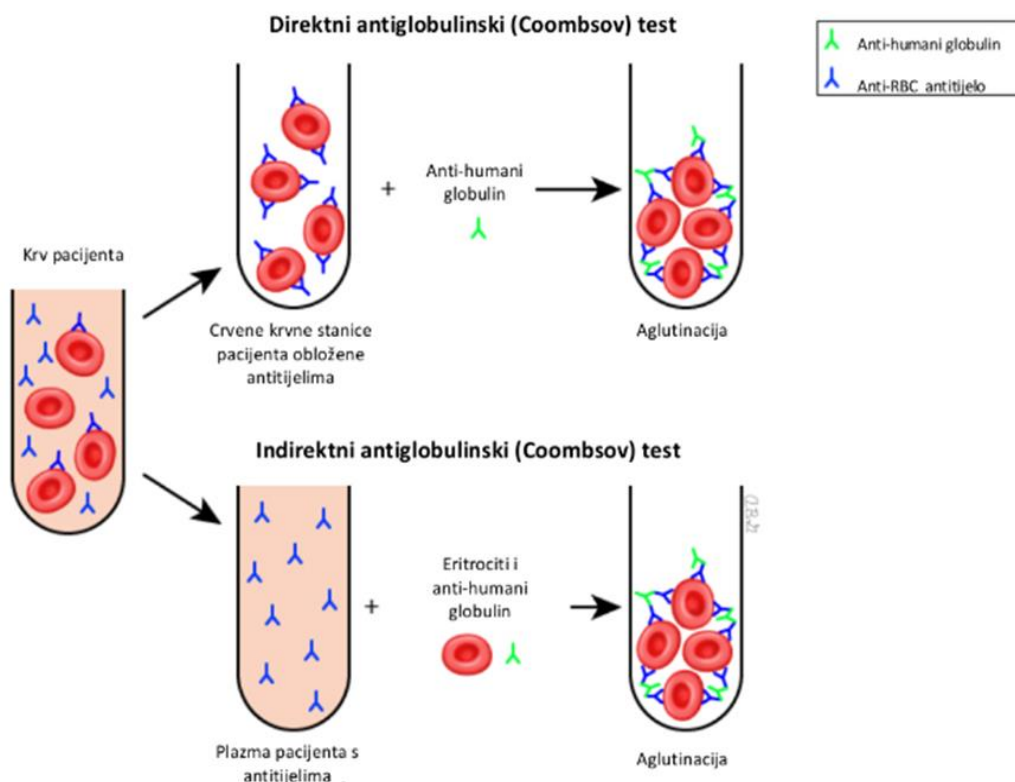


Slika 1. Incidencija autoimune hemolitičke anemije na 100 000 rizične populacije prema dobi, u trenutku pojave. Preuzeto i prevedeno iz [9].

3. KLASIFIKACIJA I DIJAGNOSTIKA AUTOIMUNE HEMOLITIČKE ANEMIJE

Glavni je uzrok AIHA vezanje autoprotutijela na antigene izražene na površini eritrocita. Stoga se njihova klasifikacija primarno i temelji na karakteristikama protutijela odgovornih za hemolizu eritrocita. Učestalost hemolize i težina anemije ovise o izotipu autoprotutijela, njihovim toplinskim karakteristikama te sposobnosti aktivacije sustava komplementa. Prva dva kriterija najkorisnija su za klasifikaciju autoimune hemolitičke anemije, a temelje se na dva dijagnostička testa: Coombsovom ili izravnom antiglobulinskom testu (DAT, eng. *direct antiglobulin test*) i neizravnom Coombsovom testu, odnosno neizravnom antiglobulinskom testu (IAT, eng. *indirect antiglobulin test*) [5], [10].

Antiglobulinski test je metoda kojom se dokazuje prisutnost protutijela ili proteina sustava komplementa na membrani eritrocita pomoću anti-humanog globulina, uslijed čega se razvija vidljiva reakcija aglutinacije. Pozitivni DAT ukazuje da su se autoprotutijela iz plazme pacijenta vezala na njegove crvene krvne stanice. S druge strane, indirektnim antiglobulinskim testom se utvrđuje prisutnost protutijela u krvnoj plazmi pacijenata (slika 2). Također se mogu utvrditi toplinske karakteristike, razred, te sposobnost protutijela da aktivira sustav komplementa [11].



Slika 2. Izravni i neizravni (Coombsov) test. Izravni antiglobulinski test (DAT; direktni Coombsov test) provodi se dodavanjem antihumanog globulina u eritrocite pacijenata. Indirektni antiglobulinski test (IAT; neizravni Coombsov test) provodi se dodavanjem plazme pacijenta eritrocitima davatelja, nakon čega slijedi dodavanje antihumanog globulina. U svakom slučaju, prisutnost aglutinacije crvenih krvnih stanica kada se doda anti-humani globulin ukazuje na pozitivan rezultat. DAT: Aglutinacija se događa kada se anti-humani globulin (zeleno) križno poveže s anti-RBC (anti-eritrocitno) protutijelom (plavo) koje je vezano za antigen na eritrocitima pacijenta. IAT: Aglutinacija se događa kada se anti-humani globulin (zeleno) križno poveže sa anti-RBC protutijelom (plavo) iz plazme ili seruma pacijenta u koji su dodani testni eritrociti. *Preuzeto i prevedeno iz [12].*

Prema temperaturnom rasponu djelovanja autoprotutijela, autoimuna hemolitička anemija dijeli se na toplu AIHA (wAIHA, eng. *warm autoimmune hemolytic anemia*), hladnu AIHA (cAIHA, eng. *cold autoimmune hemolytic anemia*) i miješanu AIHA (mAIHA, eng. *mixed autoimmune hemolytic anemia*) (tablica 1) [10].

Tablica 1. Klasifikacija autoimune hemolitičke anemije (AIHA). *Prilagođeno prema [5].*

Autoprotutijela	Topla AIHA	CAD	Miješana AIHA	PCH
Razred	IgG	IgM	IgG i IgM	IgG
Optimalna temperatura aglutinacije	37°C	4°C	4°C i 37°C	Reakcija na 4°C Hemoliza na 37°C
Specifičnost	Rh sustav	I/i sustav	/	P antigen
Pozitivan DAT test	IgG/ IgG + C	C	IgG + visok titar hladnih IgM	Pozitivan Donath-Landsteinerov test

3.1. Topla AIHA

Topla AIHA najčešći je serološki tip koji se javlja u oboljelih osoba (60 do 70%). Autoprotutijela razreda IgG, optimalno reaktivna na 37°C, posreduju wAIHA [5]. Osim imunoglobulina G, eritrocite rjeđe mogu oblagati i IgA i IgM protutijela. Ovaj tip AIHA je, u pravilu, usmjeren protiv antigena eritrocita iz Rh sustava krvnih skupina [13]. U wAIHA DAT je pozitivan samo s monospecifičnim anti-IgG antiserumima ili IgG+C (C=komplement, ukazuje na prisutnost C3d i C3c fragmenata proteina komplementa u krvi) u niskom titru (<64) [6].

3.2. Hladna AIHA

Druga vrsta autoimunih hemolitičkih anemija po učestalosti je hladna AIHA, koja je uzrokovana IgM autoprotutijelima. Nepatogeni poliklonalni imunoglobulini razreda IgM optimalno reagiraju pri temperaturama od 0°C do 4°C, dok patogeni monoklonalni imunoglobulini M uobičajeno reagiraju na temperaturama od 30°C do 32°C [14]. U hladne je AIHA DAT pozitivan samo s anti-C antiserumima, a hladni su aglutinini prisutni u visokom titru.

Najčešći su oblici cAIHA, prema etiopatogenezi, bolest hladnih aglutinina (CAD, eng. *cold agglutinin disease*) te sindrom hladnih aglutinina (CAS, eng.

cold agglutinin syndrome), oboje posredovani hladnim IgM protutijelima (tzv. *hladnim aglutininima*). Bolest hladnih aglutinina predstavlja primarni oblik cAIHA (posljedica je klonskih limfoproliferativnih poremećaja). CAS nalikuje CAD-u, ali je kod njega prisutna osnovna infektivna ili maligna bolest [5].

Hladni aglutinini uzrokuju i paroksizmalnu hladnu hemoglobinuriju (PCH, eng. *paroxysmal cold hemoglobinuria*), rijedak oblik AIHA (1 do 5% slučajeva). PCH je posredovana IgG protutijelima koja se vežu na niskim temperaturama, fiksiraju komplement na eritrocitima i aktiviraju ga na 37°C, što rezultira teškom intravaskularnom hemolizom. Dijagnosticira se Donat-Landsteinerovim testom [5].

3.3. Miješana AIHA

Miješana autoimuna hemolitička anemija nastaje kao posljedica djelovanja hladnih IgM, ali i toplih IgG protutijela. Oboljeli najčešće razvijaju kroničan oblik AIHA s teškom hemolizom [15], a smatra se da je za hemolizu odgovorna topla komponenta [16]. Imunohematološkim metodama potrebno je odvojeno dokazati obje komponente (toplu i hladnu), čime testiranje postaje izazovno budući da su sve faze pozitivnih vrijednosti (DAT pozitivan za IgG i C s visokim titrom hladnih aglutinina) [5].

4. IMUNOPATOGENEZA AIHA

Autoimuna hemolitička anemija nastaje uslijed povećanog uništavanja crvenih krvnih stanica anti-eritrocitnim protutijelima, sa ili bez aktivacije sustava komplementa. Povećano razaranje eritrocita rezultat je prvenstveno mogućnosti autoprotutijela da potaknu staničnu citotoksičnost ovisnu o protutijelima (ADCC, eng. *antibody-dependent cellular cytotoxicity*). Ona je posredovana stanicama koje posjeduju Fc receptore, kao što su stanice NK i makrofazi. Završne komponente kaskade komplementa također uzrokuju uništavanje eritrocita stvaranjem

membranskog napadajućeg kompleksa (MAC, eng. *membrane attack complex*), izazivajući izravnu osmotsku lizu eritrocita. Izravno razaranje eritrocita zbog oštećenja membrane primarno se odvija intravaskularno i u jetri, dok se fagocitoza i ADCC mehanizam događaju u slezeni i limfoidnim organima [5].

Patogenost autoprotutijela, pripadnost određenom razredu, učinkovitost aktivacije sustava komplementa i toplinske karakteristike glavni su čimbenici imunopatogeneze AIHA. Međutim, autoprotutijela nisu jedini faktori koji utječu na nastanak i razvoj AIHA. Poremećaji gena regulacije imunskog sustava, okoliš, infekcije, tumorske tvorbe i lijekovi samo su jedni od brojnih mogućih uzroka autoimune hemolitičke anemije.

4.1. Hemoliza posredovana IgG protutijelima

Protutijela usmjerena protiv eritrocitnih antigena proizvode limfociti B, izvršne stanice humoralne imunosti. Aktivacija limfocita B, potaknuta antigenom, izaziva proliferaciju stanica specifičnih za antigen te njihovu diferencijaciju u plazma stanice. Zadaća je plazma stanica aktivno izlučivanje protutijela. Primarna protutijela su razreda IgM, a potom nastaju i ostali razredi, između ostalog i IgG, od kojih su IgG1 i IgG3 odgovorni za fiksiranje komplementa i opsonizaciju [17].

IgG1 i IgG3 autoprotutijela opsoniziraju eritrocite specifičnim vezanjem na eritrocitne antigene Fab regijom (eng. *fragment antigen binding*). Tako opsonizirani eritrociti krvotokom odlaze u slezenu, gdje će se Fc regije (eng. *fragment crystalline*) IgG protutijela vezati na Fc receptor izražen na makrofazima i neutrofilima. Fc receptor na površini makrofaga naziva se i receptor visokog afiniteta za Fc regije teških lanaca γ , odnosno Fc γ RI. Vezanje IgG opsonina i Fc γ RI receptora potiče proces fagocitoze. Time stvoreni fagosom se, unutar fagocita, kasnije spaja s lizosomom, vezikulom koja u sebi sadrži mnoge proteolitičke enzime, reaktivne kisikove spojeve te dušikove okside sa svrhom razgradnje fagocitirane crvene krvne stanice [17].

Nadalje, eritrociti obloženi IgG1 i IgG3 protutijelima mogu biti uništeni od strane NK stanica ADCC mehanizmom. NK stanice na svojoj površini izražavaju CD16, odnosno FcγRIII aktivacijski receptor koji se veže za Fc dio IgG protutijela. Vežanje FcγRIII i IgG protutijela, koja prepoznaju površinske eritrocitne antigene, potiče stvaranje signala odgovornih za pražnjenje granula NK stanica ispunjenih proteinima koji će razoriti opsonizirani eritrocit (preforini i granzimi) [17].

Bifazna IgG autoprotutijela ili Donath-Landsteinerova protutijela u PCH vežu se na eritrocite pri 4°C, ali aglutinaciju pokreću tek pri temperaturi od 37°C. Hemolizu uzrokuju aktivacijom komplementa sve do stvaranja MAC kompleksa. Uništavanje eritrocita odvija se intravaskularno, dok se ostatak eritrocita opsoniziranih C3b proteinima komplementa fagocitira u jetri od strane makrofaga [13].

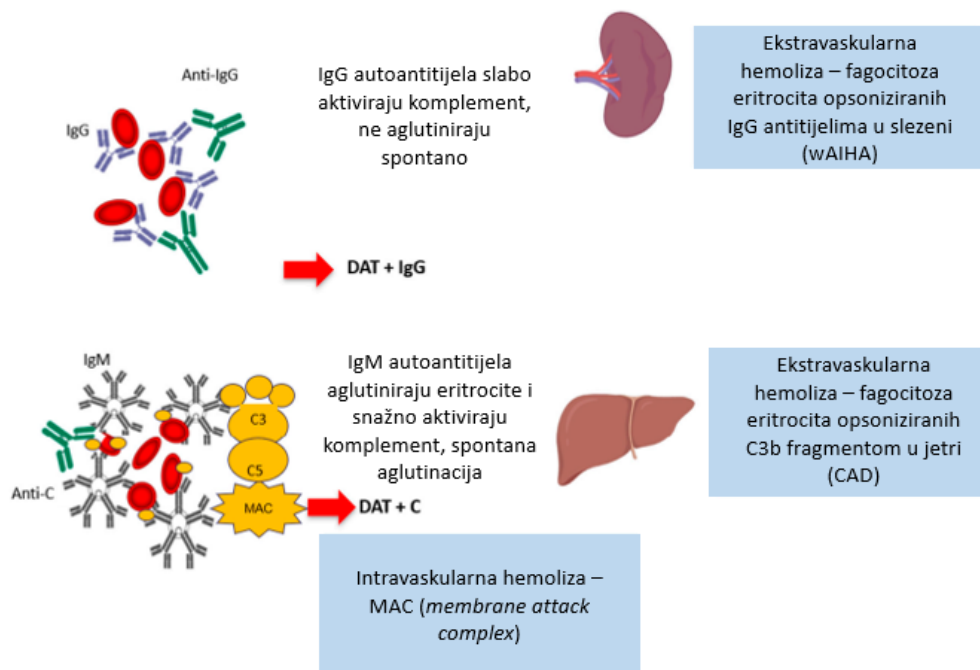
4.2. Hemoliza posredovana IgM protutijelima

IgM protutijela stvaraju pentamere koji mogu snažno fiksirati komplement na površini ciljne stanice, u ovom slučaju eritrocita. Optimalna temperatura njihova djelovanja iznosi 4°C, no toplinska amplituda doseže 34°C. Takvi imunoglobulini M, reaktivni na temperaturama bliskim krajnjoj vrijednosti amplitude, najštetnija su skupina protutijela sposobna uzrokovati teške oblike AIHA sa stopom smrtnosti od oko 20% [5].

Vežanjem hladnog IgM autoprotutijela za antigene eritrocita, susjedne regije Fc protutijela postaju dostupne za vežanje C1 proteina komplementa. Potom dolazi do aktivacije cijele kaskade proteina. Od produkata koji nastaju bitno je spomenuti kompleks C4b2a, odnosno C3 konvertazu koja cijepa C3 protein komplementa. Time nastaje C3b fragment koji se također veže na površinu opsoniziranog eritrocita. Takvi eritrociti cirkuliraju organizmom, a kada se vrate u središnje dijelove tijela s temperaturom od 37°C, IgM autoprotutijela odvajaju se od membrane, a C3b ostaje vezan. Neki od C3b fragmenata vežu se na C4b2a kompleks, čime nastaje C5

konvertaza (C4b2a3b kompleks) koja proteolitički cijepa C5 protein komplementa na manji C5a fragment, koji djeluje kao anafilatoksin. Na veći se fragment (C5b) vezuju ostali proteini komplementa: C6, C7, C8, C9, čime stvaraju membranski napadajući kompleks (MAC) i uzrokuju perforaciju ciljne stanice (slika 3) [17].

Topla IgM autoprotutijela također snažno aktiviraju komplement, no samo su privremeno vezana na eritrocitnu membranu kako bi aktivirala sustav komplementa. Nakon što aktiviraju komplement i eritrocit se opsonizira C3b fragmentom, fagocitoza od strane makrofaga dalje se odvija u jetri [5].



Slika 3. Patogeni mehanizam uništavanja crvenih krvnih stanica. *Preuzeto i prevedeno iz [5].*

4.3. Disregulacija citokina u AIHA

Aktivacija humoralnog imunološkog odgovora posredovana T limfocitima od velike je važnosti u gubitku autotolerancije u AIHA. Pojačani humoralni odgovor Th2 stanica te autoprotutijelima posredovano razaranje eritrocita

u pacijenata se očituje povećanim koncentracijama interleukina-4, IL-6 i IL-10. Smanjena inhibicija Th2 odgovora posljedica je niskih koncentracija interferona- γ u oboljelih, što rezultira pojačanjem AIHA posredovane autoprotutijelima. Koncentracije IL-12 i IL-2, odgovorne za diferencijaciju CD4⁺ stanica u Th1 stanice, uobičajeno su povišene u pacijenata. Povećana je aktivnost i NK stanica, CD8⁺ citotoksičnih limfocita T i aktiviranih makrofaga. Povećana koncentracija TGF- β (transformirajući faktor rasta), uz prisutnost IL-6, pogoduje diferencijaciji i aktivaciji proupalnih Th17. S druge strane, stanice koje smanjuju autoimuni odgovor, kao periferni T regulatorni CD4⁺ limfociti (Tregs), prisutne su u pacijenata u nižim koncentracijama u odnosu na zdrave pojedince, čineći tako još jedan faktor koji pogoduje razvitku autoimune bolesti [5].

4.4. Utjecaj genskog izražaja na AIHA

Autoimuna hemolitička anemija povezana je s mutacijama gena odgovornih za sazrijevanje T i B limfocita, homeostazu interleukina u organizmu i prepoznavanje antigena. Za poremećaje prepoznavanja antigena odgovorne su mutacije HLA lokusa: HLA-B8, BW6, DQ i DR, ali i preraspodjele gena IGHV4-34, IGKV3-20 i IGHV3 koji kodiraju varijabilne regije teških i lakih lanaca Ig. AIHA se razvija često u sklopu primarne imunodeficijencije čija je genetska pozadina stoga bitna u razmatranju genetske pozadine AIHA. Za primarne imunodeficijencije odgovorne su mutacije na RAG1, KRAS, ADAR1, CTLA4, TNFRSF6, STAT3, PIK3CD, CBL i LRBA genima. Mutacije KMT2D i CARD11 gena (uobičajeno odgovornih za sazrijevanje imunološkog sustava) također su karakteristične za primarne imunodeficijencije, ali i CAD te Kabuki sindrom. U 4% slučajeva Kabuki sindroma, poremećaja karakteriziranog intelektualnim nedostatkom i malformacijama, uključena je i AIHA. Osim toga, u pacijenata s AIHA povećana je učestalost G polimorfizma CTLA-4 gena (citotoksičnog T-limfocitnog antigena 4) i AG konfiguracije gena za limfotoksin- α , citokin koji posreduje širok niz upalnih i imunostimulativnih odgovora [6].

4.5. AIHA posredovana lijekovima

AIHA posredovana lijekovima (slika 4) smatra se rijetkom bolešću. Uspoređujući ju s ostalim oblicima AIHA, gruba je procjena da zahvaća jednu od milijun osoba godišnje. Nažalost, samo se teški oblici hemolize podvrgavaju odgovarajućim istraživanjima kako bi se utvrdilo da je lijek odgovoran za razvoj AIHA, što može biti jedan od razloga procjene niske incidencije bolesti [18]. Među brojnim lijekovima koji uzrokuju AIHA, prevladavaju tri skupine: (1) antimikrobnici (42%), (2) antiflogistici (15%) te (3) antineoplastici (11%).

Dvije su skupine autoimunih hemolitičkih anemija posredovanih lijekovima: (1) AIHA izazvana protutijelima koja potiču imunološki sustav isključivo u prisutnosti lijeka te ovise o njemu, i (2) AIHA izazvana protutijelima neovisnim o lijeku [6].

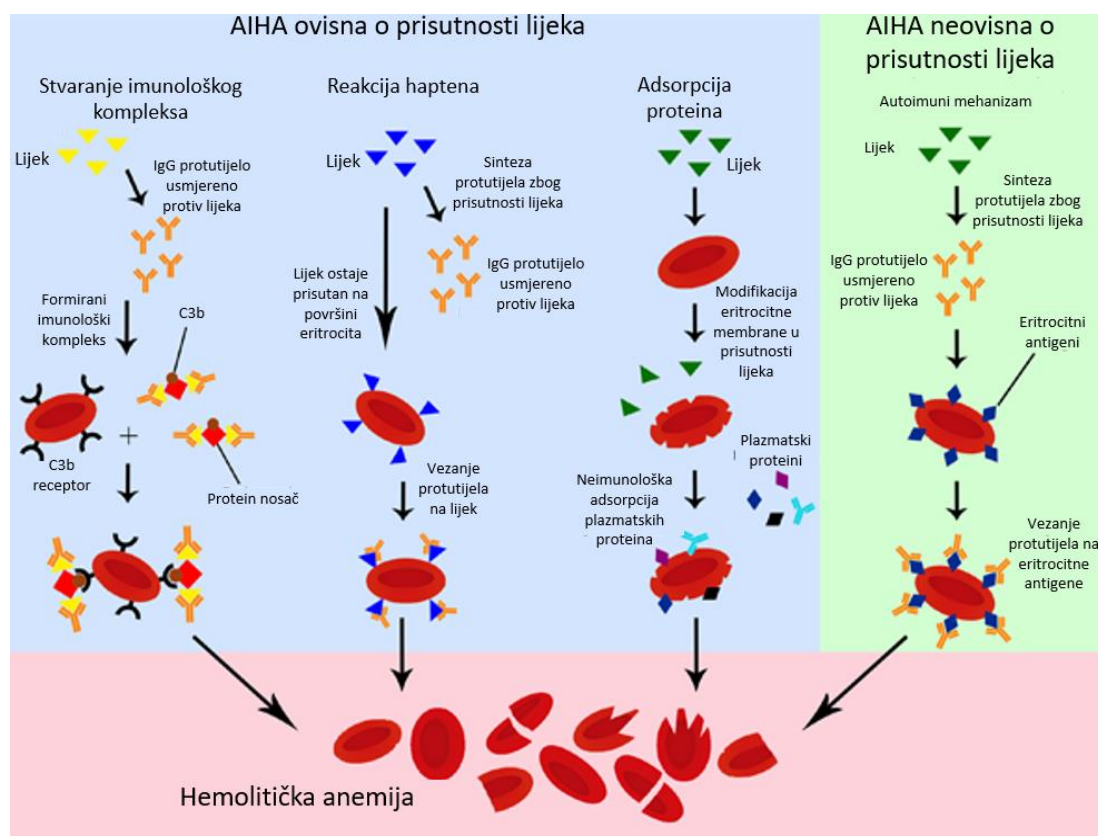
Protutijela sintetizirana isključivo u prisutnosti lijeka najčešće su potaknuta prisutnošću penicilina ili ceftriaksona. Penicilin sa sobom nosi BPO (eng. *benzyl penicilloyl group*) koja djeluje kao haptent, kovalentno se veže na površinu eritrocita te potiče imunološki sustav na sintezu protutijela. IgG protutijela prepoznaju miješani epitop, vežu za njega i izazivaju fagocitozu od strane makrofaga u slezeni [6].

Protutijela neovisna o lijeku mogu se pojaviti nakon lijekova metildope, fludarabina i kladribina. Metildopa mijenja oblik Rh antigena na površini eritrocita. Takav promijenjeni antigen imunološki sustav prepoznaje kao stran i potiče stvaranje protutijela. Sintetizirana IgG autoprotutijela se potom vežu na promijenjene Rh antigene, opsoniziraju eritrocit i potiču ekstravaskularnu fagocitozu [6].

Treći slučaj uključuje lijekove koji izazivaju sintezu IgM protutijela, aktivaciju komplementa i intravaskularnu hemolizu. Kinidin, jedan od takvih lijekova, djeluje kao haptent na koji se veže IgM. Kompleks lijek-protutijelo potom cirkulira unutar krvnih žila, a IgM intravaskularno veže i fiksira komplement na površinu eritrocita. U konačnici, MAC kompleks uzrokuje

hemolizu. Uz kinidin, hemolizu uzrokuju i kinin, rifampicin, izoniazid, fenacetin, hidroklorotiazid te mnogi drugi [5].

Posljednji je predloženi mehanizam modifikacija eritrocitne membrane neimunom adsorpcijom proteina. Lijekovi poput cefalosporina modificiraju membranu eritrocita kako bi se na nju neimunološki vezali proteini poput albumina, fibrinogena, C3 proteina komplementa ili IgG protutijela. Eritrociti koji neimunološki adsorbiraju IgG daju pozitivne rezultate monocitno monoslojnog testa ukazujući na mogućnost interakcije takvih eritrocita s makrofazima, što bi rezultiralo smanjenim brojem crvenih krvnih stanica [18].



Slika 4. Mehanizam autoimune hemolitičke anemije posredovane lijekovima.

Preuzeto i prevedeno iz [19].

4.6. Utjecaj bolesti i infekcija na razvoj AIHA

Jedan je od najjednostavnijih mehanizama nastanka autoimunosti modifikacija eritrocitnih antigena uslijed djelovanja infektivnih agenasa. Nekoliko je patogena povezano s AIHA; mycoplasma pneumoniae,

mycobacterium tuberculosis, sifilis, parvovirus B19, hepatotropni virus, HIV, brucella [5]. Naime, tijekom infekcije zarazni organizmi mogu proizvoditi peptidne antigene slične epitopima na našim antigenima. Obzirom da naš imunološki sustav reagira na mikrobne peptide, može doći do križnog prepoznavanja i napada na vlastite antigene. Takva se križna reakcija naziva molekularna mimikrija [17]. Bitno je napomenuti da HIV infekcija, neovisni čimbenik rizika za AIHA, može potaknuti stvaranje autoprotutijela pomoću molekularne mimikrije [20].

Prema Burnetovoj teoriji klonske selekcije, bitan mehanizam za stvaranje autoprotutijela podrazumijeva pojavu tzv. zabranjenih klonova, koji nastaju tijekom B limfoproliferativnih sindroma kao što je kronična limfocitna leukemija (KLL). Novija istraživanja kronične limfocitne leukemije ukazuju da KLL stanice olakšavaju autoimunost izravnom prezentacijom antigena, ali i proizvodnjom nefunkcionalnih T regulatornih stanica [5]. Naime, aktivacijom limfocita T, KLL stanice stimuliraju neravnotežu zastupljenosti Th17 limfocita u odnosu na Treg stanica, što dovodi do prevladavanja proupalnog fenotipa kod pacijenta. Neoplastične stanice također imaju sposobnost proizvodnje autoprotutijela, no uglavnom se radi o poliklonskim imunoglobulinima G, koje proizvode nemaligni autoreaktivni limfociti B [5].

5. KLINIČKA SLIKA AIHA

Simptomi autoimune hemolitičke anemije mogu se razlikovati ovisno o podtipu bolesti. U nekih pacijenata oboljelih od wAIHA hemoliza je blaga i postupno se razvija, zbog čega može proći nezapaženo. Teška hemoliza javlja se sa simptomima i znakovima sličnim drugim vrstama anemija; umor, dispneja, slabost, hipotenzija, bljedoća, žutilo kože [21]. Kao posljedica aktivne hemolize može se razviti splenomegalija, gdje se u povećanoj slezeni pojačano uklanjaju razoreni eritrociti. Nadalje, u 1/3 oboljelih javlja se i hepatomegalija, odnosno povećanje jetre. Teška klinička slika može biti posljedica infekcija (primjerice nakon splenektomije) ili

primarnih bolesti čiji simptomi prevladavaju u sekundarnog oblika AIHA. Plućna embolija, infarkt miokarda i moždani udar mogući su ishodi teških oblika AIHA u kojima prevladava intravaskularna hemoliza [5].

Akrocijanoza, stanje bezbolnog i trajnog modrila šaka, rjeđe stopala, izazvano vazospazmom malih krvnih žila u koži, javlja se u osoba oboljelih od bolesti hladnih aglutinina (CAD). U slučaju hlađenja prstiju, ušiju ili nosa, dolazi do aktivacije IgM protutijela i njihova vezanja na površinu eritrocita, što uzrokuje aglutinaciju. Dugotrajno izlaganje niskim temperaturama može uzrokovati ishemiju i nekrozu [22].

Paroksizmalna hladna hemoglobinurija (PCH) uglavnom se javlja u osoba mlađih od 18 godina s hemolizom povezanom s prehladom i infekcijama. U PCH je hemoliza uglavnom intravaskularna, zbog čega oboljeli nemaju uvijek značajne kliničke simptome. Simptomi su, uz simptome temeljne bolesti, groznica ili vrućica, glavobolja, bolovi u nogama ili leđima, grčevi u trbuhu, tamna mokraća i žutica [8].

6. LIJEČENJE AIHA

6.1. Liječenje wAIHA

Primarna terapija u osoba oboljelih od tople AIHA podrazumijeva davanje *glukokortikosteroida* (GKS), kako bi se smanjio imunološki odgovor organizma. Primjena prednizona (oralno) u razdoblju od tri do četiri tjedna u dozi od 1 mg/kg/dan kontrolira hemolizu i povećava razinu hemoglobina u eritrocitima. Potonja se terapija pokazala učinkovitom u 80% slučajeva. Ukoliko nema napretka u liječenju nakon tri tjedna primjene GKS, primjenjuje se kombinirana terapija [8]. Uz GKS pacijentima se propisuje i anti-CD20 protutijelo *rituksimab*. Rituksimab se veže za CD20 antigen, membranski protein izražen na svim B stanicama, čime uzrokuje njihovu apoptozu aktivacijom komplementa i ADCC mehanizma. Dodatno, moduliranjem ravnoteže Th1 i Th2 stanica, smanjuje izlučivanje citokina, kao što su IL-12, IL-17, TNF- α i interferon- γ [23]. Rituksimab u kombinaciji

s glukokortikosteroidima daje bolje rezultate, čime se smanjuje potreba za ponovnom GKS monoterapijom. Obzirom da kronična steroidna terapija može uzrokovati nuspojave poput osteoporoze, gastrointestinalnog krvarenja i dijabetesa, preporučuje se prevencija osteoporoze u pacijenata starijih od 50 godina [8]. Nakon poboljšanja, doza steroida se mora postupno smanjivati, nakon čega se ne primjenjuju u razdoblju od 6 mjeseci. Bolesnicima s teškom anemijom intravenozno se daje metilprednizolon u manjoj dozi 10-14 dana ili u većoj dozi 1-3 dana. Kada se postigne potpuni odgovor, potrebno je redovito kontrolirati kliničku sliku pacijenta jer samo 1/3 bolesnika postiže dugotrajnu remisiju [5].

Izostanak odgovora na glukokortikosteroide ili kombiniranu terapiju u pacijenata, potreba previsokih doza GKS ili rani relaps zahtijevaju drugu liniju liječenja. U tom se slučaju pacijent podvrgava splenektomiji, koja ima predviđenu stopu izlječenja od 20%. Prije uklanjanja slezene potrebno je detaljno promotriti kliničku sliku pacijenta, osobito u starijih od 65 godina. Nepouzdana ishodi zahvata, kirurške komplikacije te trombotičke i infektivne komplikacije nedostatak su splenektomije [5]. Dodatni je problem zahvata potreba za uzimanjem antibiotske terapije tri godine nakon operacije, cijepljenje protiv meningokoka i pneumokoka svakih pet godina, kao i godišnje cijepljenje protiv gripe [24]. Pojavom novih terapija stopa splenektomije progresivno opada.

Imunosupresivni lijekovi u novije vrijeme formiraju treću liniju liječenja wAIHA. *Ciklosporin*, *azatioprin* i *ciklofosfamid* lijekovi su koji daju djelomične odgovore u 40-60% slučajeva. Azatioprin je jedan od najstarijih imunosupresiva koji je i dalje u upotrebi. Analog je purina, a djeluje tako da se metabolizira u 6-merkatopurin (6-MP), nakon čega se enzimatski transformira u 6-metil-MP, 6-tioguanin i 6-tiornu kiselinu. U takvim se oblicima ugrađuje u DNA u replikaciji i blokira *de novo* sintezu purina. Uz blokiranje sinteze purina, azatioprin uzrokuje apoptozu limfocita T vezanjem za Rac1 GTP-vezujući protein kako bi smanjio ekspresiju Bcl-xL antiapoptotičkog gena [25].

S druge strane, ciklosporin blokira aktivaciju limfocita B inhibicijom transkripcije gena citokina. Inhibiciju transkripcije ciklosporin započinje vezanjem za ciklofilin s kojim tvori kompleks ciklofilin-ciklosporin. Kompleks se dalje direktno veže za katalitičku podjedinicu kalcineurina A i smanjuje njegovu fosfataznu aktivnost. Time se sprječava defosforilacija NFAT (eng. *nuclear factor of activated T-cells*), proteina odgovornog za transkripcijsku aktivaciju gena koji kodiraju citokine [26].

Za postizanje citotoksičnih učinaka ciklofosfamida potrebna je bioaktivacija citokroma P450 (CYP 2B6 i 3A4), koji, u konačnici, omogućuje stvaranje reaktivnog cikličkog aziridinijevog kationa. Aziridinijev kation reagira s citidinom i N(7) gvaninom DNA, stvarajući međulančane i poprečne veze, zbog čega je djelovanje ciklofosfamida neovisno o staničnom ciklusu. Stanice koje se brzo proliferiraju najosjetljivije su na alkilirajući ciklofosfamid [27].

Mikofenolat-mofetil pokazao se kao dobra alternativa rituksimabu i visokoučinkovitim u liječenju djece oboljele od tople autoimune hemolitičke anemije [8]. Lijek se može primijeniti oralno ili intravenski, no prosječna je bioraspoloživost lijeka veća u oralne primjene (94%). *In vivo* se metabolizira do mikofenolne kiseline. Mikofenolna kiselina je djelatna tvar mikofenolata i reverzibilni inhibitor inozin monofosfat dehidrogenaze. Obzirom da je limfocitima potrebna sinteza purina za proliferaciju, a monofosfat dehidrogenaza je enzim uključen u sintezu purina, mikofenolat mofetil djeluje kao selektivni antimetabolit i inhibira proliferaciju T stanica [28].

6.2. Liječenje bolesti hladnih aglutinina (CAD)

Kod lakših oblika bolesti hladnih aglutinina, anemija se kontrolira zaštitom od hladnoće, osobito distalnih dijelova tijela, te izbjegavanjem hladnih napitaka i hrane. Glukokortikosteroidi nemaju jednak utjecaj na hladnu AIHA kao na tople oblike. Terapija hladnih oblika AIHA zahtijeva

previsoke i neprihvatljive doze steroida, stoga ih pacijenti primaju samo u akutnoj fazi. Splenektomija je u slučaju CAD-a neučinkovita jer se ekstravaskularna hemoliza odvija u jetri, a intravaskularna u krvotoku. Oboljelima se najčešće preporuča monoterapija rituksimabom, no relapsi su česti, a potpuni odgovori na terapiju rijetki. Kombinirana terapija koja uključuje primjenu rituksimaba i *bendamustina* smatra se primarnom terapijom za bolesnike s bolešću hladnih aglutinina zbog dugotrajne remisije i prihvatljive sigurnosti [5]. Alkilirajuća svojstva bendamustina slična su onima u ciklofosfamida, no razlikuje se u mehanizmu citotoksičnosti. Bendamustin se razlikuje od ostalih dušičnih iperita jer uzrokuje više dvolančanih lomova DNA koji traju dulje. Pored toga, benzimidazolski prstenasti sustav bendamustamina omogućuje dublje prodiranje i lokaliziranje unutar DNA uzrokujući veća oštećenja [29]. U AIHA bendamustamin je usmjeren na B stanice, a kombinirana se terapija s rituksimabom najčešće koristi u pacijenata s kroničnom limfocitnom leukemijom i AIHA.

Humanizirano monoklonsko protutijelo pod nazivom *ekulizumab* druga je vrsta terapije CAD-a. Dokazano je da inhibicijom cijepanja proteina komplementa C5 na podjedinice C5a i C5b inhibira stvaranje MAC-a, kontrolira hemolizu i smanjuje potrebe za transfuzijom krvi [30].

6.3. Liječenje ostalih oblika AIHA

U slučaju razvoja mješovite AIHA vrlo je bitno dobro procijeniti kliničke značajke i oblik AIHA koji prevladava u bolesnika (topli ili hladni) kako bi se utvrdila najbolja terapija. Primarna su terapija glukokortikosteroidi, a rana druga terapija primjena rituksimaba. Rituksimab se, u kombinaciji s imunosupresivnim lijekovima, koristi i za liječenje u kroničnih i refraktornih slučajeva paroksizmalne hladne hemoglobinurije [13]. Liječenje AIHA posredovane lijekovima temelji se na izbacivanju neodgovarajućih lijekova iz upotrebe, a u teškim se slučajevima propisuju GKS ili se obavlja

transfuzija krvi. Rituksimab je zamjena za GKS u osoba otpornih na djelovanje steroida [6].

6.4. Transfuzija krvi u AIHA

Transfuzija krvi u AIHA najčešće se primjenjuje kao terapija u teškim slučajevima sa svrhom održavanja prihvatljive razine hemoglobina u bolesnika. Niske razine hemoglobina moraju se nadoknaditi transfuzijom, no klinička slika oboljelih i podležeće bolesti u pravilu su važniji faktor u odluci o transfuziji. Osobu s teškom i simptomatskom anemijom nikada se ne bi smjelo odbiti za transfuziju eritrocita [5].

Prije same transfuzije obavljaju se testovi kompatibilnosti, a uobičajena je i primjena GKS prije samog procesa. U jedne trećine pacijenata s AIHA pojavljuju se aloprotutijela koja je potrebno prije procesa transfuzije isključiti proširenom fenotipskom tipizacijom ili tehnikama apsorpcije kako ne bi uzrokovala povećanu hemolizu ili teške hemolitičke reakcije. Također, potrebno je izbjegavati transfuziju prevelikog volumena krvi kako se ne bi povećala masa eritrocita za razaranje [5].

6.5. Buduće metode liječenja AIHA i klinička ispitivanja

6.5.1. Inhibicija fagocitoze u terapiji AIHA

Receptori za Fc fragment autoprotutijela koja opsoniziraju eritrocite izraženi su na svim fagocitnim stanicama, uključujući makrofage. Vežanje FcR i Fc dijela IgG autoprotutijela u svrhu fagocitoze predstavlja jedan od glavnih patogenih mehanizama u AIHA. Križno premoštavanje FcγR dovodi do njegove fosforilacije, što uzrokuje aktivaciju tirozin kinaze slezene (SYK), posrednika u nizvodnoj signalizaciji aktiviranih Fc receptora u makrofaga, a što, u konačnici, rezultira fagocitozom. Pored sudjelovanja u fagocitozi, SYK posreduje i u diferencijaciji i aktivaciji B-limfocita u aktivne plazma stanice koje luče protutijela. Zbog svoje bitne uloge u imunopatogenezi, SYK

predstavlja jednu od glavnih meta za inhibiciju i liječenje AIHA (tablica 2) [31].

Tablica 2. Nove terapije u liječenju AIHA. Prilagođeno prema podacima iz [32].

Lijek	Mehanizam	
<i>Fostamatinib</i>	Inhibicija fagocitoze posredovane IgG protutijelima	Inhibicija SYK, BCR i FcR signalnih putova
<i>Orilanolimab</i>		Blokiranje FcRn-a
<i>Nipocalimab</i>		
<i>Rilzabrutinib</i>	Inhibicija BTK	Inhibicija BTK u limfocita B
<i>Ibrutinib</i>		
<i>Bortezomib</i>	Inhibicija proteasoma	Inhibicija ubikvitin-proteasom puta, apoptoza plazma stanica
<i>Daratumumab</i>	Inhibicija CD38	Anti-CD38 protutijelo usmjereno protiv plazma stanica
<i>Isatuximab</i>		ADCC, citotoksičnost ovisna o komplementu, fagocitoza posredovana protutijelima
<i>Sirolimus</i>	Inhibicija mTOR kinaze	Inhibicija mTOR kinaze i zaustavljanje staničnog ciklusa u G1 fazi
<i>Ekulizumab</i>	Inhibicija komplementa	Anti-C5
<i>Pegacetakoplan</i>		Anti-C3
<i>Sutimlimab</i>		Anti-C1s
<i>ANX005</i>		Anti-C1q

Fostamatinib dinatrij heksahidrat inhibitor je tirozin kinaze slezene, a time posljedično i BCR i FcR signalnih putova (tablica 2). Namijenjen je bolesnicima s kroničnom imunološkom trombocitopenijom, ali u novije vrijeme i oboljelima od AIHA. *Fostamatinib* djeluje tako da se unutar organizma u kratkom roku pretvara u R406, reverzibilni inhibitor IgE i IgG posredovane aktivacije FcR signalizacije, zbog čega je njegov primarni cilj SYK. U dosadašnjim provedenim istraživanjima pokazalo se da je inhibicija SKY-a utjecala na zaštitu mišjih organizama od anemije i trmbocitopenije.

Nadalje fostamatini je spriječio hemolizu posredovanu autoantitijelima u mišjih modela, stoga je jedan od potencijalnih lijekova koji se trenutno klinički ispituje za liječenje autoimune hemolitičke anemije [31].

Neonatalni Fc receptor za IgG (FcRn) štiti IgG od katabolizma, produljujući njihov poluživot, a odgovoran je i za transcelularni IgG transport. Produljenje poluživota IgG korisno je u odgovoru protutijela protiv patogena, ali nije ako se radi o autoprotutijelima. Stoga su nove terapije AIHA usmjerene na smanjenje ili uklanjanje cirkulirajućih IgG autoprotutijela odgovornih za razvoj bolesti. Mehanizmi za onemogućavanje djelovanja FcRn-a uključuju FcRn inhibicijske peptide, protutijela koja će inhibirati vezno mjesto za IgG protutijela te modifikaciju Fc regija. Inhibicija vezanja IgG i IgG imunih kompleksa proučava se djelovanjem *orilanolimaba*, humaniziranog IgG4 protutijela. *Nipocalimab*, glikozilirano monoklonsko IgG1 protutijelo, inhibira produljenje poluživota IgG tako što se veže na FcRn i zauzima mjesto za vezanje IgG kroz cijeli put recikliranja. Navedene se inhibitore i dalje ispituje u kliničkim istraživanjima kako bi se procijenila sigurnost primjene i omjer učinkovitog i toksičnog djelovanja [32].

6.5.2. Inhibicija BTK u terapiji AIHA

Brutonova tirozin kinaza (BTK), enzim izražen na limfocitima B i hematopoetskim stanicama (osim na limfocitima T, stanicama NK i plazma stanicama), sudjeluje u proizvodnji protutijela, sazrijevanju limfocita B i signalnim putovima posredovanim FcγR. Inhibicijom BTK moguće je smanjiti proizvodnju autoprotutijela i djelovanje makrofaga posredovano FcγR [32].

Kovalentnim vezanjem *rilzabrutiniba*, potencijalnog inhibitora BTK, postiže se trajna inhibicija uz brzi klirens lijeka koji smanjuje vjerojatnost pojave neželjenih toksičnih učinaka (tablica 2). Neželjene toksične učinke rilzabrutiniba smanjuje i njegova visoka specifičnost putem PI3K-AKT

signalne kaskade, povezane s drugim inhibitorima BTK [33]. Lijek je trenutno u fazi II kliničkih ispitivanja u bolesnika s wAIHA u kojih je terapija glukokortikosteroidima bila neučinkovita [32].

Ireverzibilni inhibitor BTK, *ibrutinib*, kovalentno se veže s cisteinskim ostatkom na aktivnom mjestu brutonove tirozin kinaze kako bi se inhibirala aktivnost kinaze (tablica 2). Nažalost, u osoba koje su primijenjivale ibrutinib prijavljena je pojava osipa, krvarenje, dijareja i fibrilacija atrijske. Nuspojave su objašnjene kao neciljani učinci ibrutiniba koji inhibira i druge enzime koji sadrže cisteinske ostatke. U tijeku je istraživanje kombinirane terapije ibrutiniba i rituksimaba u refraktornoj AIHA [32].

6.5.3. Inhibicija proteasoma u terapiji AIHA

Proteasom je enzimski kompleks ovisan o ATP-u koji sudjeluje u razgradnji unutarstaničnih proteina. Primjeri proteina koji se razgrađuju u proteasomu su ciklini, kaspaze, NF- κ B inhibitor i sl. [32].

Bortezomib je reverzibilni selektivni inhibitor ubikvitin-proteasom puta koji utječe na regulaciju rasta neoplastičnih i normalnih stanica (tablica 2). Djelovanje se bortezomiba temelji na blokiranju 26S podjedinice proteasoma koja se sastoji od proteolitičke jezgre (20S) i dvije regulacijske podjedinice (19S). Vezanjem na 20S podjedinicu i blokiranjem 26S podjedinice bortezomib inducira apoptozu, ali i inhibira angiogenezu, proliferaciju i adheziju stanica. U bolestima posredovanim autoprotutijelima bortezomib može uzrokovati endocitozu proteina i apoptozu patogene stanice [34].

Nedavna klinička istraživanja pokazala su da je bortezomib učinkovit u smanjenju količine plazma stanica odgovornih za proizvodnju autoprotutijela u autoimunih bolesti, što je potaknulo istraživanje njegove primjene u liječenju AIHA. Bortezomib se pokazao učinkovitim u relapsirajućim slučajevima AIHA, a trenutno se proučava njegova upotreba u bolesnika koji nisu dali pozitivan odgovor na rituksimab [34].

6.5.4. Primjena anti-CD38 protutijela u terapiji AIHA

Anti-CD38 monoklonsko protutijelo, *daratumumab*, primarno je razvijeno za uništenje tumorskih plazma stanica u multiplom mijelomu, ali cilja i plazma stanice koje proizvode autoprotutijela (tablica 2) [35]. Novija su istraživanja pokazala da je daratumumab učinkovit u bolestima uzrokovanim protutijelima (sistemski lupus, autoimuna citopenija nastala nakon transplantacije hematopoetskih matičnih stanica) [36]. Učinkovitost u AIHA ispitana je samo u maloj seriji slučajeva gdje su dva od tri pacijenta imala potpuni i održivi odgovor uz manje znakove toksičnosti, a treći je pacijent imao početno poboljšanje, nakon čega je doživio smrtonosni recidiv [37]. Stoga je potrebno provesti veću, sustavnu studiju kako bi se utvrdilo koliko je daratumumab učinkovit u liječenju AIHA.

Isatuximab je novo monoklonsko anti-CD38 protutijelo. Selektivno se veže na CD38 epitop i uzrokuje senzibilaciju na bortezomib u mijeloma, pokreće ADCC mehanizam, citotoksičnost ovisnu o komplementu i fagocitozu posredovanu antitijelima. Lijek je trenutno u procesu kliničkih ispitivanja na wAIHA [32].

6.5.5. mTOR inhibicija u terapiji AIHA

Sirolimus je produkt bakterije *Streptomyces hygroscopicus* koji dokazano ima imunosupresivni učinak u sprječavanju akutnog odbacivanja presatka nakon transplantacije (tablica 2) [38]. Ovaj se lijek navodi kao inhibitor serin treonin kinaze mTOR, koji je sastavni dio PI3K signalnog puta, a djeluje uzvodno i nizvodno od AKT-a. U tom putu, PI3K povećava koncentraciju PIP3 preko kojega se aktivira AKT i posljedično fosforilira mTOR. PI3K/AKT/mTOR kompleks pokreće proliferaciju i diferencijaciju B-limfocita i proliferaciju i proizvodnju protutijela. Sirolimus u organizmu stvara kompleks s FKBP (eng. *FK506-binding proteins*), veže se na mTOR i inhibira njegovo djelovanje, čime zaustavlja stanični ciklus u G1 fazi [32].

Istraživanja su pokazala da je sirolimus učinkovit u liječenju pacijenata s primarnim Evansovim sindromom, kao i djece s AIHA otporne na više lijekova, te osoba nakon transplantacije organa. Smatra se da je djelovanje sirolimusa također povezano s poticanjem apoptoze abnormalnih limfocita T, ali i povećanim izlučivanjem TGF- β i IL-10 od strane regulatornih limfocita T. Ovakav bi mehanizam djelovanja trebao ciljati stanice koje nisu uništene nakon tretmana monoklonskim protutijelima [39].

6.5.6. Inhibicija komplementa u terapiji AIHA

Inhibicija sustava komplementa (tablica 2) bitna je komponenta u liječenju AIHA, osobito CAD-a. Inhibitori su monoklonska protutijela koja ciljaju C1, C3 i C5 protein komplementa kako bi spriječili hemolizu eritrocita posredovanu komplementom. Jedan je od takvih inhibitora *ekulizumab*, monoklonsko protutijelo koje cilja C5 protein kako bi spriječio nastanak MAC kompleksa, odnosno intravaskularnu hemolizu. *Pegcetakoplan*, ciklički peptid, inhibira i intravaskularnu i ekstravaskularnu hemolizu djelujući na C3 protein komplementa. C1s serin proteaza, odgovorna za aktivaciju klasičnog puta komplementa, cilj je lijeka *sutimlimaba*. Humanizirano protutijelo *ANX005* visokim se afinitetom veže na C1q protein smanjujući tako hemolizu i taloženje C3 i C4 proteina na eritrocitima. Ograničenja inhibicije sustava komplementa zahtijevaju stalnu terapiju za kontrolu hemolize [32].

7. SVRHA RADA

Pretraživanjem i uspoređivanjem rezultata iz relevantne znanstvene literature o autoimunoj hemolitičkoj anemiji imali smo slijedeće ciljeve:

1. Objasniti pojam anemije, hemolitičke anemije i autoimune bolesti.
2. Analizirati podatke o incidenciji bolesti i stopi preživljavanja.
3. Analizirati i razumjeti metode dijagnosticiranja bolesti koje su temelj za klasifikaciju AIHA.
4. Proučiti i razumjeti višestruke mehanizme i moguće uzroke nastanka AIHA.
5. Na temelju razumijevanja prethodnih podataka analizirati, razumjeti i objasniti trenutne, ali i moguće terapije autoimune hemolitičke anemije.

8. LITERATURA

- [1] D. A. Newhall, R. Oliver i S. Lugthart, »Anaemia: A disease or symptom?,« Travanj 2020.. [Mrežno]. Available: <https://www.njmonline.nl/getpdf.php?id=2206>. [Pokušaj pristupa Lipanj 2023.].
- [2] »World Health Organization,« [Mrežno]. Available: https://www.who.int/health-topics/anaemia#tab=tab_1. [Pokušaj pristupa Lipanj 2023.].
- [3] J. Corrons i E. Krishnevskaya, »Rare anemias in adolescents,« 18 Veljača 2021.. [Mrežno]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7975943/>. [Pokušaj pristupa Lipanj 2023.].
- [4] S. Gamulin, M. Marušić i Z. Kovač, »Eritrociti,« u *Patofiziologija. Osmo, obnovljeno i izmijenjeno izdanje.*, Zagreb, Medicinska naklada, 2018., pp. 844-855.
- [5] W. Barcellini, A. Zaninoni, J. Giannotta i B. Fattizzo, »New Insights in Autoimmune Hemolytic Anemia: From Pathogenesis to Therapy. Journal of Clinical Medicine.,« 27 Studeni 2020.. [Mrežno]. Available: www.mdpi.com/journal/jcm.
- [6] W. Barcellini i B. Fattizzo, »Autoimmune hemolytic anemia: causes and consequences, Expert Review of Clinical Immunology, 18:7, 731-745, DOI:10.1080/1744666X.2022.2089115,« 14 Lipanj 2022.. [Mrežno]. Available: <https://doi.org/10.1080/1744666X.2022.2089115>.
- [7] B. Gehrs i R. Friedberg, »Autoimmune hemolytic anemia. Am. J. Hematol., 69: 258-271,« 2002.. [Mrežno]. Available: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/ajh.10062>. [Pokušaj pristupa Lipanj 2023.].
- [8] S. Michalak, A. Olewicz-Gawlik, J. Rupa-Matysek, E. Wolny-Rokicka, E. Nowakowska i L. Gil, »Autoimmune hemolytic anemia: current knowledge and perspectives,« 2020.. [Mrežno]. Available: <https://doi.org/10.1186/s12979-020-00208-7>.
- [9] M. Murakami, E. Benz i N. Berliner, »Section 3D: Specific forms of Anemia. Chapter 12: Autoimmune Hemolytic Anemia.,« 18 Travanj 2018. [Mrežno]. Available: <https://www.cambridge.org/core/books/abs/anemia/autoimmune-hemolytic-anemia/737D7ED6CAF14D1A1B7E41DFB29F4467>. [Pokušaj pristupa Lipanj 2023.].
- [10] H. Liebman i I. Weitz, »Autoimmune Hemolytic Anemia. Med Clin North Am.,« 2017;101(2):351. [Mrežno].
- [11] V. Parker i C. Tormey, »The Direct Antiglobulin Test: Indications, Interpretation, and Pitfalls,« 2017 Feb;141(2):305-310.. [Mrežno]. Available: doi: 10.5858/arpa.2015-0444-RS.. [Pokušaj pristupa Srpanj 2023.].

- [12] »UpToDate,« [Mrežno]. Available: <https://www.uptodate.com/contents/image?imageKey=HEME%2F100639>. [Pokušaj pristupa Srpanj 2023.].
- [13] M. Raos, S. Pulanić, S. Maljković i B. Golubić Čepulić, »Novosti u dijagnostici i liječenju autoimunosne hemolitičke anemije. Liječnički vjesnik, 145 (1-2), 32-42.,« 2023.. [Mrežno]. Available: <https://doi.org/10.26800/LV-145-1-2-5>. [Pokušaj pristupa Srpanj 2023.].
- [14] E. Ronald i M. Domen, »An overview of immune hemolytic anemias,« Veljača 1998.. [Mrežno]. Available: www.ccjm.org. [Pokušaj pristupa Srpanj 2023.].
- [15] W. Barcellini, B. Fattizzo, A. Zaninoni, T. Radice, I. Nichele i E. Di Bona, »Clinical heterogeneity and predictors of outcome in primary autoimmune hemolytic anemia: a GIMEMA study of 308 patients. Blood. 2014;124(19):2930–6.,« [Mrežno]. Available: <https://doi.org/10.1182/blood-2014-06-583021> PubMed: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25232059>. [Pokušaj pristupa Srpanj 2023.].
- [16] S. Qasim, O. Niss, R. Ware i A. Grimes, »Autoimmune Hemolytic Anemia (AIHA). U: Despotovic JM, ur. Immune Hematology. Cham: Springer;«, 2018. Str. 83-152.. [Mrežno].
- [17] A. K. Abbas, A. H. Lichtman i S. Pillai, u *Osnove imunologije. Funkcije i poremećaji imunološkog sustava. Peto izdanje.*, Split, Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet, 2017., pp. 79-210.
- [18] G. Garratty, »Drug-induced immune hemolytic anemia,« 1 Siječanj 2009.. [Mrežno]. Available: <https://doi.org/10.1182/asheducation-2009.1.73>. [Pokušaj pristupa kolovoz 2023.].
- [19] F. Yaghoubi, F. Tavakoli, D. Dalil i H. Jamaloo, »Acute kidney injury following autoimmune hemolytic anemia due to simultaneous use of ciprofloxacin and hydrochlorothiazide: A case report and review of the literature,« 27 Veljača 2023.. [Mrežno]. Available: <https://mednexus.org/doi/full/10.1002/rai2.12066>. [Pokušaj pristupa Kolovoz 2023.].
- [20] V. Martinez, M. Diemert, M. Braibant, V. Potard, J. Charuel i F. Barin, »Anticardiolipin antibodies in HIV infection are independently associated with antibodies to the membrane proximal external region of gp41 and with cell-associated HIV DNA and immune activation.,« *Clin Infect Dis.*, p. 48(1):123–32., 2009..
- [21] C. Packman, »The Clinical Pictures of Autoimmune Hemolytic Anemia,« 11 Rujan 2015.. [Mrežno]. Available: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26696800/>. [Pokušaj pristupa Srpanj 2023.].
- [22] S. Berentsen, »New insights in the pathogenesis and therapy of cold agglutinin-mediated autoimmune hemolytic Anemia. Front Immunol.,« 2020;11:590.. [Mrežno]. Available: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32318071/>. [Pokušaj pristupa Srpanj 2023.].

- [23] I. Murakhovskaya, »Rituximab Use in Warm and Cold Autoimmune Hemolytic Anemia,« 13 Prosinac 2020.. [Mrežno]. Available: doi: 10.3390/jcm9124034. [Pokušaj pristupa Kolovoz 2023.].
- [24] A. Newland, D. Provan i S. Myint, »Preventing severe infection after splenectomy,« 20 Kolovoz 2005.. [Mrežno]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1188098/>. [Pokušaj pristupa Kolovoz 2023.].
- [25] J. S. Maltzman i G. A. Koretzky, »Azathioprine: old drug, new actions,« 15 Travanj 2003.. [Mrežno]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC152947/>. [Pokušaj pristupa Kolovoz 2023.].
- [26] S. Matsuda i S. Koyasu, »Mechanisms of action of cyclosporine. Immunopharmacology,« Svibanj 2000., 47, 119-125. [Mrežno]. Available: [https://doi.org/10.1016/S0162-3109\(00\)00192-2](https://doi.org/10.1016/S0162-3109(00)00192-2). [Pokušaj pristupa Kolovoz 2023.].
- [27] M. Ahlmann i G. Hempel, »The effect of cyclophosphamide on the immune system: implications for clinical cancer therapy,« 19 Listopad 2016.. [Mrežno]. Available: doi: 10.1007/s00280-016-3152-1. [Pokušaj pristupa Kolovoz 2023.].
- [28] K. G. Moder, »Mycophenolate mofetil: new applications for this immunosuppressant,« Siječanj 2003.. [Mrežno]. Available: [https://doi.org/10.1016/s1081-1206\(10\)63607-1](https://doi.org/10.1016/s1081-1206(10)63607-1). [Pokušaj pristupa Kolovoz 2023.].
- [29] B. D. Cheson i L. Leoni, »Bendamustine: mechanism of action and clinical data,« 9 Kolovoz 2011.. [Mrežno]. Available: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22362008/>
https://www.hematologyandoncology.net/files/2013/04/ho0811_sup191.pdf. [Pokušaj pristupa Kolovoz 2023.].
- [30] A. Röth, M. Bommer, A. Hüttmann, D. Herich-Terhürne, N. Kuklik i J. Rekowski, »Eculizumab in cold agglutinin disease (DECADE): an open-label, prospective, bicentric, nonrandomized phase 2 trial. Blood Adv.,« 9 Listopad 2018;2(19): 2543–9. [Mrežno]. Available: 10.1182/bloodadvances.2018024190. [Pokušaj pristupa Kolovoz 2023.].
- [31] D. Kuter, K. Rogers, M. Boxer, M. Choi, R. Agajanian, D. Arnold, K. Broome, J. Field, I. Murakhovskaya, R. Numerof i S. Tong, »Fostamatinib for the treatment of warm antibody autoimmune hemolytic anemia: Phase 2, multicenter, open-label study,« 3 Ožujak 2022.. [Mrežno]. Available: 10.1002/ajh.26508. [Pokušaj pristupa Kolovoz 2023.].
- [32] Z. Xiao i I. Murakhovskaya, »Development of New Drugs for Autoimmune Hemolytic Anemia. Pharmaceutics,« 11;14(5):1035. Svibanj 2022.. [Mrežno]. Available: doi: 10.3390/pharmaceutics14051035. PMID: 35631621; PMCID: PMC9147507. [Pokušaj pristupa Kolovoz 2023.].

- [33] D. Kuter, M. Efraim, J. Mayer, M. Trněný, V. McDonald, R. Bird, T. Regenbogen, M. Garg, Z. Kaplan, N. Tzvetkov, P. Choi i G. Jansen, »Rilzabrutinib, an Oral BTK Inhibitor, in *Immune Thrombocytopenia*,« 14 Travanj 2022.. [Mrežno]. Available: DOI: 10.1056/NEJMoa2110297. [Pokušaj pristupa Kolovoz 2023.].
- [34] R. Pasquale, J. Giannotta, W. Barcellini i B. Fattizzo, »Bortezomib in autoimmune hemolytic anemia and beyond. *Therapeutic Advances in Hematology*,« 2021;12.. [Mrežno]. Available: doi:10.1177/20406207211046428. [Pokušaj pristupa Kolovoz 2023.].
- [35] C. Schuetz, M. Hoenig, D. Moshous, C. Weinstock, M. Castelle, M. Bendavid, K. Shimano, V. Tolbert, A. Schulz i C. Dvorak, »Daratumumab in life-threatening autoimmune hemolytic anemia following hematopoietic stem cell transplantation. *Blood Adv.*,« Listopad 2018.. [Mrežno]. Available: doi: 10.1182/bloodadvances.2018020883. PMID: 30291113; PMCID: PMC6177653.. [Pokušaj pristupa Kolovoz 2023.].
- [36] E. Crickx, S. Audia, A. Robbins, D. Boutboul, T. Comont, M. Cheminant, E. Oksenhendler, B. Godeau, M. Michel i M. Mahevas, »Daratumumab, an original approach for treating multi-refractory autoimmune cytopenia. *Haematologica*,« Prosinac 2021.. [Mrežno]. Available: doi: 10.3324/haematol.2021.279232. PMID: 34348453; PMCID: PMC8634173.. [Pokušaj pristupa Kolovoz 2023.].
- [37] S. Berentsen, B. Fattizzio i W. Barcellini, »The choice of new treatments in autoimmune hemolytic anemia: how to pick from the basket? *Front Immunol.*,« 24 Travanj 2023.. [Mrežno]. Available: doi: 10.3389/fimmu.2023.1180509. PMID: 37168855; PMCID: PMC10165002.. [Pokušaj pristupa Kolovoz 2023.].
- [38] L. Hongmin, J. Jiang, D. Yali, H. Yuzhou, G. Hao, C. Miao, W. RunHui i H. Bing, »Sirolimus is effective for primary relapsed/refractory autoimmune cytopenia: a multicenter study,« Rujan 2020.. [Mrežno]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301472X20303076>. [Pokušaj pristupa Kolovoz 2023.].
- [39] W. Barcellini, B. Fattizzio i A. Zaninoni, »Management of refractory autoimmune hemolytic anemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: current perspectives,« 10 Svibanj 2019.. [Mrežno]. Available: <https://doi.org/10.2147/JBM.S190327>. [Pokušaj pristupa Kolovoz 2023.].
- [40] R. O. S. L. D.A. Newhall, »The Netherlands Journal of Medicine; Anemia: A disease or symptom?,« Travanj 2020.. [Mrežno]. Available: <https://www.njmonline.nl/getpdf.php?id=2206>.
- [41] J. Gallett, C. Cañones, P. Morande, M. Borge, P. Oppedo, J. Geffner, R. Bezares, R. Gamberale i M. Giordano, »Chronic Lymphocytic Leukemia Cells Bind and Present the Erythrocyte Protein Band 3: Possible Role as Initiators of Autoimmune Hemolytic Anemia,« 1 Rujan 2008.. [Mrežno]. Available: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.5.3674>. [Pokušaj pristupa Kolovoz 2023.].

9. ŽIVOTOPIS



Sara Krtić

Državljanstvo: hrvatsko Datum rođenja: 02/04/2001 Spol: Žensko

☎ Telefonski broj: (+385) 996533753 ✉ E-adresa: sarakrtic9@gmail.com

✉ E-adresa: sara.krtic@student.uniri.hr

📍 Kućna: Vinkovačka 76, 32284 Stari Mikanovci (Hrvatska)

OBRAZOVANJE I OSPOBLJAVANJE

Opća gimnazija

Gimnazija Matije Antuna Reljkovića Vinkovci [2015 – 2020]

Mjesto: Vinkovci

Zemlja: Hrvatska

Preddiplomski sveučilišni studij "Biotehnologija i istraživanje lijekova"

Sveučilište u Rijeci, Odjel za biotehnologiju [2020 – Trenutačno]

Mjesto: Rijeka

Zemlja: Hrvatska

JEZIČNE VJEŠTINE

Materinski jezik/jezici: **hrvatski**

Drugi jezici:

engleski

SLUŠANJE B2 ČITANJE B2 PISANJE B2

GOVORNA PRODUKCIJA B2

GOVORNA INTERAKCIJA B2

njemački

SLUŠANJE A1 ČITANJE A1 PISANJE A1

GOVORNA PRODUKCIJA A1

GOVORNA INTERAKCIJA A1

Razine: A1 i A2: temeljni korisnik; B1 i B2: samostalni korisnik; C1 i C2: iskusni korisnik

DIGITALNE VJEŠTINE

Poznavanje rada u MS Office paketu / Sposobnost pretraživanja informacija pomoću interneta / Poznavanje društvenih mreža / Osnovne vještine korištenja programa PyMol, Avogadro, Marvin, MarvinSketch, VMD / Linux Ubuntu / Službena komunikacija (Gmail,...) / Rad s Google alatima

KOMUNIKACIJSKE I MEĐULJDSKE VJEŠTINE

Općenito

Komunikativna sam i otvorena osoba s razvijenim socijalnim vještinama. Sposobna sam odraditi zadatke samostalno, ali i u timu. Tolerantna sam, spremna poslušati druge, ali i iznijeti svoje mišljenje ako smatram da će ono pridonijeti boljim rezultatima. Organizirana sam, vrijedna i odgovorna osoba.

VOZAČKA DOZVOLA

Vozačka dozvola: B

RADNO ISKUSTVO

Studentski Poslovi

Trgovina Krk d.d., PEPCO, Hotel Bristol [2021 – Trenutačno]

Zemlja: Hrvatska

- Blagajnica
- Prodavačica
- Recepcioner

VOLONTIRANJE

Udruga studenata biotehnologije

[Rijeka, 2021 – 2022]

U udругu studenata učlanila sam se 2021. godine kao sudionik u projektima "Naturis" (izrada prirodne kozmetike) i "Putujući znanstvenici" (predstavljanje pokusa na način zabavan vrtičkoj djeci i osnovnoškolcima). U sklopu udruge također sam sudjelovala u projektu "Student mentor". Kao student viših godina razmjenjivala sam s dodijeljenim mlađim studentom iskustva, znanje i informacije o studijskom programu i fakultetu općenito.

KONFERENCIJE I SEMINARI

Konferencija "Budućnost i perspektiva"

Konferencija "Budućnost i perspektiva" upoznaje studente s poslovnim mogućnostima tijekom i nakon fakultetskog obrazovanja. Program održavaju bivši studenti, a cilj je motivirati i savjetovati buduće biotehnologe. Na konferenciji sam bila pasivni sudionik (slušatelj) 2020. godine.

HOBIJI I INTERESI

Općenito

Kao član kulturno-umjetničkog društva "Šokadija" Stari Mikanovci 10 godina razvijala sam društvene i socijalne vještine, vještine plesanja i pjevanja. Tijekom osnovnoškolskog obrazovanja sudjelovala sam u programima škole kao voditeljica, a radila sam i na nekadašnjem školskom radiu "Radio Cvrčak". U slobodno vrijeme volim čitati, baviti se fizičkim aktivnostima (šetnja, vožnja biciklom,...) i družiti se s obitelji i prijateljima.
