

# **Αιμολυτικές αναιμίες**

**Παναγιώτης Τσιριγώτης**

# Περιστατικό

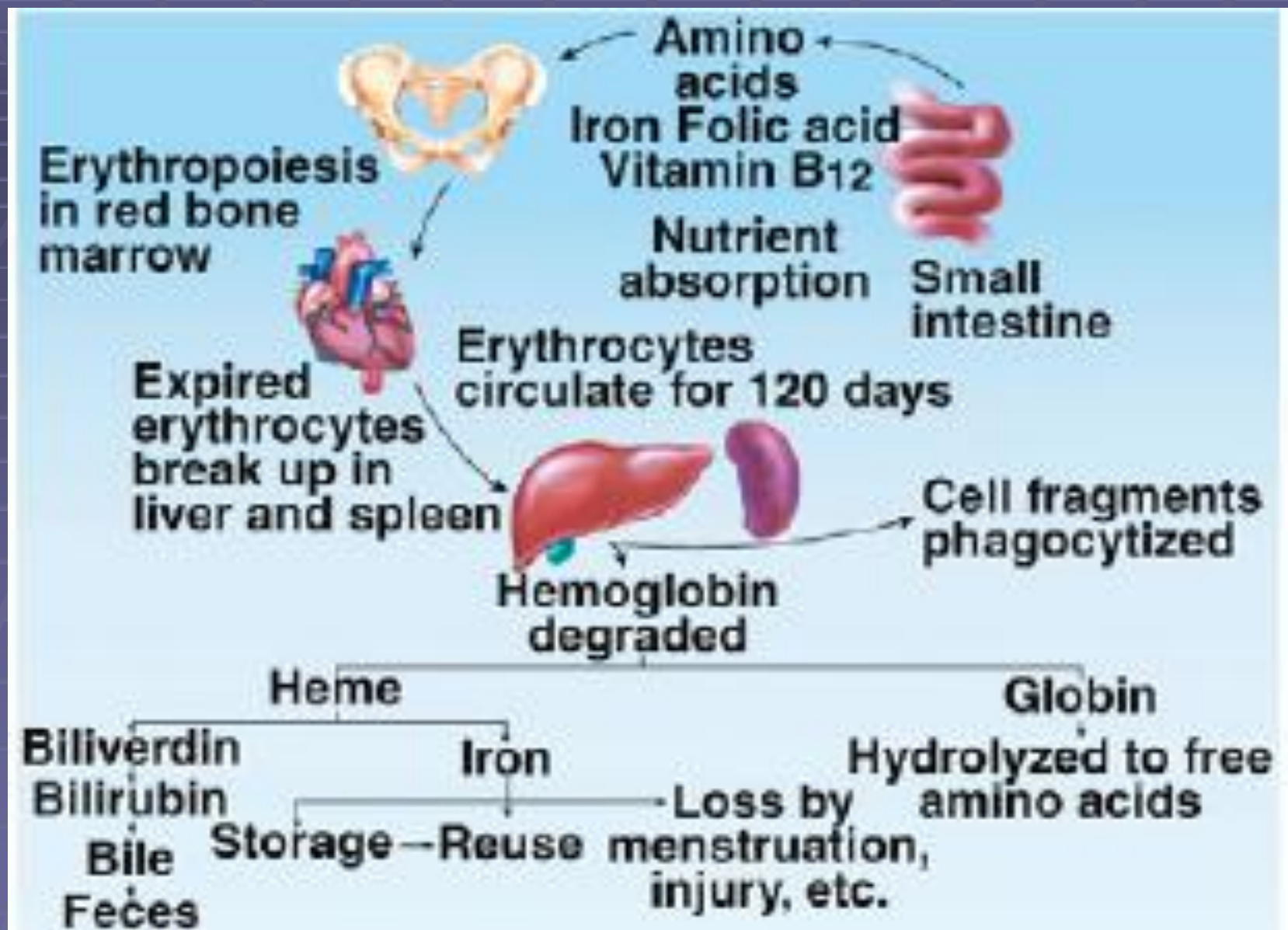
- Γυναίκα 40 ετών προσέρχεται με αδυναμία καταβολή
- Ατομικό αναμνηστικό:
  1. Ιστορικό περικαρδίτιδας προ 2ετίας, υποχώρησε με την θεραπευτική αγωγή
  2. Πολυαρθραλγικό σύνδρομο προ έτους που υποχώρησε με ΜΣΑΦ
- Αντικειμενική εξέταση: σπληνομεγαλία, υπίκτηρος,
- Εργαστηριακά ευρήματα
  1. Γενική αίματος: Hb=7gr/dl, WBC, PLT κφ
  2. Χολερυθρίνη=4.5mg/dl, (έμμεση=3.5)
  3. Απποσφαιρίνη: δεν ανιχνεύεται
  4. LDH=800 IU/ml (100-450)
  5. ΔΕΚ=8%

**Τι ονομάζουμε αιμόλυση?**

**Αιμόλυση είναι η «σημαντική»  
μείωση του χρόνου επιβίωσης  
των ερυθρών αιμοσφαιρίων**



# Καταβολισμός της αιμοσφαιίνης



# Εξωαγγειακή αιμόλυση

- Τα ερυθρά καταστρέφονται στο ΔΕΣ
- Η αιμοσφαιρίνη καταβολίζεται από τα μακροφάγα
- Μικρή ποσότητα αιμοσφαιρίνης διαφεύγει
- Μείωση αιμοσφαιρίνης

# Ενδοαγγειακή αιμόλυση

- Τα ερυθρά καταστρέφονται στην συστηματική κυκλοφορία
- Η αιμοσφαιρίνη απελευθερώνεται στην συστηματική κυκλοφορία
- Μείωση αιμοσφαιρίνης
- **Ελεύθερη αιμοσφαιρίνη στο αίμα**
- **Αιμοσφαιρινουρία**
- **Αιμοσιδηρινουρία**

# Αιμολυτικές διαταραχές

- Αντιρροπούμενες
- Μη-αντιρροπούμενες
  
- Καθ-υπεροχή ενδοαγγειακή αιμόλυση
- Καθ-υπεροχή εξωαγγειακή αιμόλυση

# Κλινικά σημεία-συμπτώματα

- Αναιμία
- Ικτερος
- Σπληνομεγαλία?
- Ειδικά ευρήματα σχετιζόμενα με την αιτιολογία της αιμόλυσης

# Εργαστηριακά ευρήματα σχετιζόμενα με αυξημένη καταστροφή των ερυθρών αιμοσφαιρίων

- Εμμεση υπερχολερυθριναιμία
- Αυξημένη έκκριση ουροχολινογόνου
- Αύξηση LDH
- Μείωση εξαφάνιση απτοσφαιρίνης
- Αιμοσφαιριναιμία
- Αιμοσφαιρινουρία
- Αιμοσιδηρινουρία



# Εργαστηριακά ευρήματα σχετιζόμενα με αυξημένη παραγωγή ερυθρών αιμοσφαιρίων

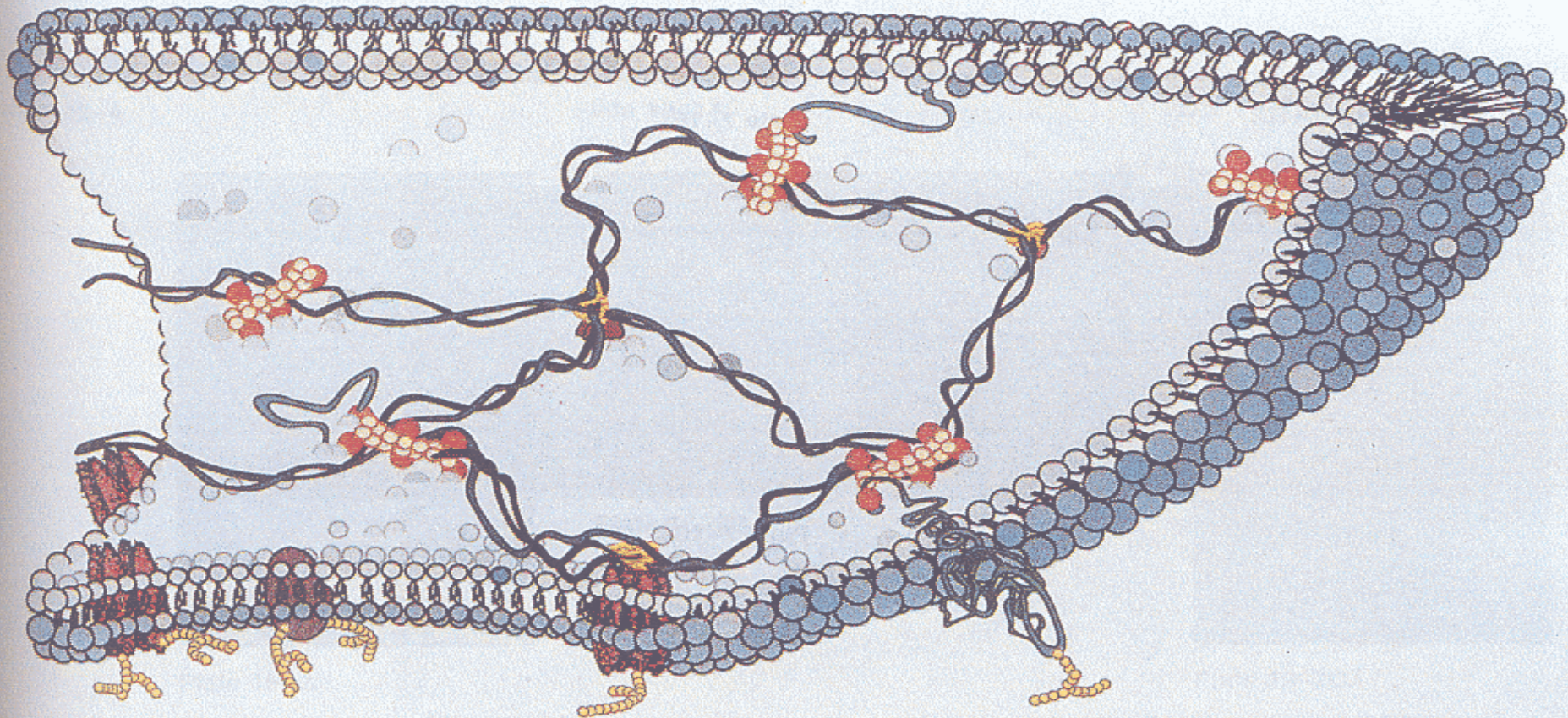
- Περιφερικό αίμα:
  - ✓ Δικτυοερυθροκυττάρωση, πολυχρωματοφιλία, λεπτή βασεόφιλη στίξη
  - ✓ εμπύρηννα ερυθρά
  - ✓ μακροκυττάρωση
- Μυελός οστών: υπερπλασία ερυθράς σειράς








# Αιμολυτικές διαταραχές

- Κληρονομικές
  - ✓ Μεμβρανοπάθειες (Κληρονομική σφαιροκυττάρωση)
  - ✓ Ενζυμοπάθειες (G-6PD deficiency)
  - ✓ Αιμοσφαιρινοπάθειες (Δρεπανοκυτταρική αναιμία)
  - ✓ Θαλασσαιμικά σύνδρομα



# Κυτταροσκελετός του ερυθρού



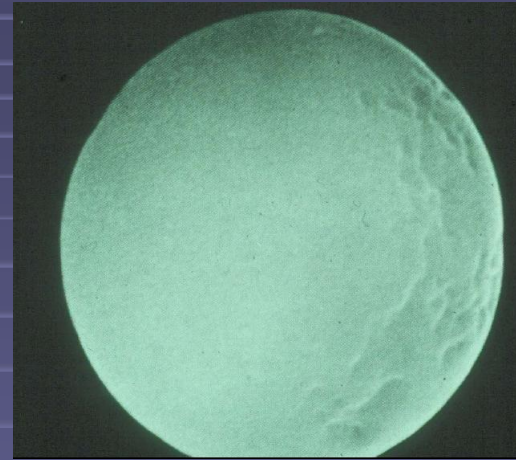
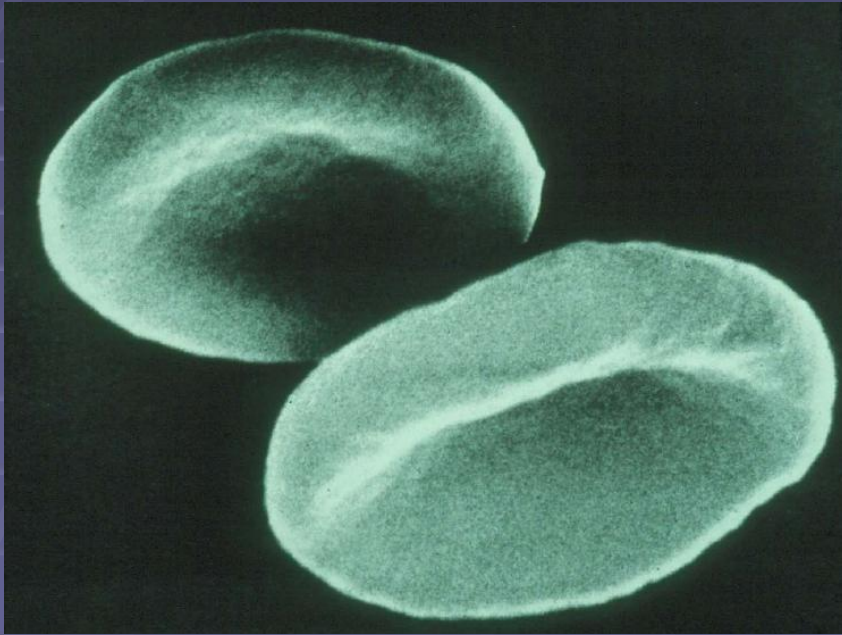
	spectrin $\alpha$ & $\beta$		protein 4.1
	band 3		ankyrin
	other membrane protein		actin
			glycophorin



# Κυτταροσκελετός του ερυθρού

- Αποτελείται από δομικές πρωτεΐνες, όπως σπεκτρίνη, ανκυρίνη, κλπ
- Είναι υπεύθυνος για το σχήμα του ερυθρού και την ικανότητα παραμόρφωσης, ώστε να καθίσταται δυνατή η δίοδος από τα τριχοειδή
- Σε έλλειψη πρωτεϊνών της μεμβράνης, το ερυθρό υφίσταται σταδιακά σημαντικές βλάβες που τελικά καταλήγουν στην πρόωρη απομάκρυνση του από τα μακροφάγα
- Χαρακτηριστικές νόσοι:
  1. Κληρονομική σφαιροκυττάρωση
  2. Κληρονομική ελλειπτοκυττάρωση

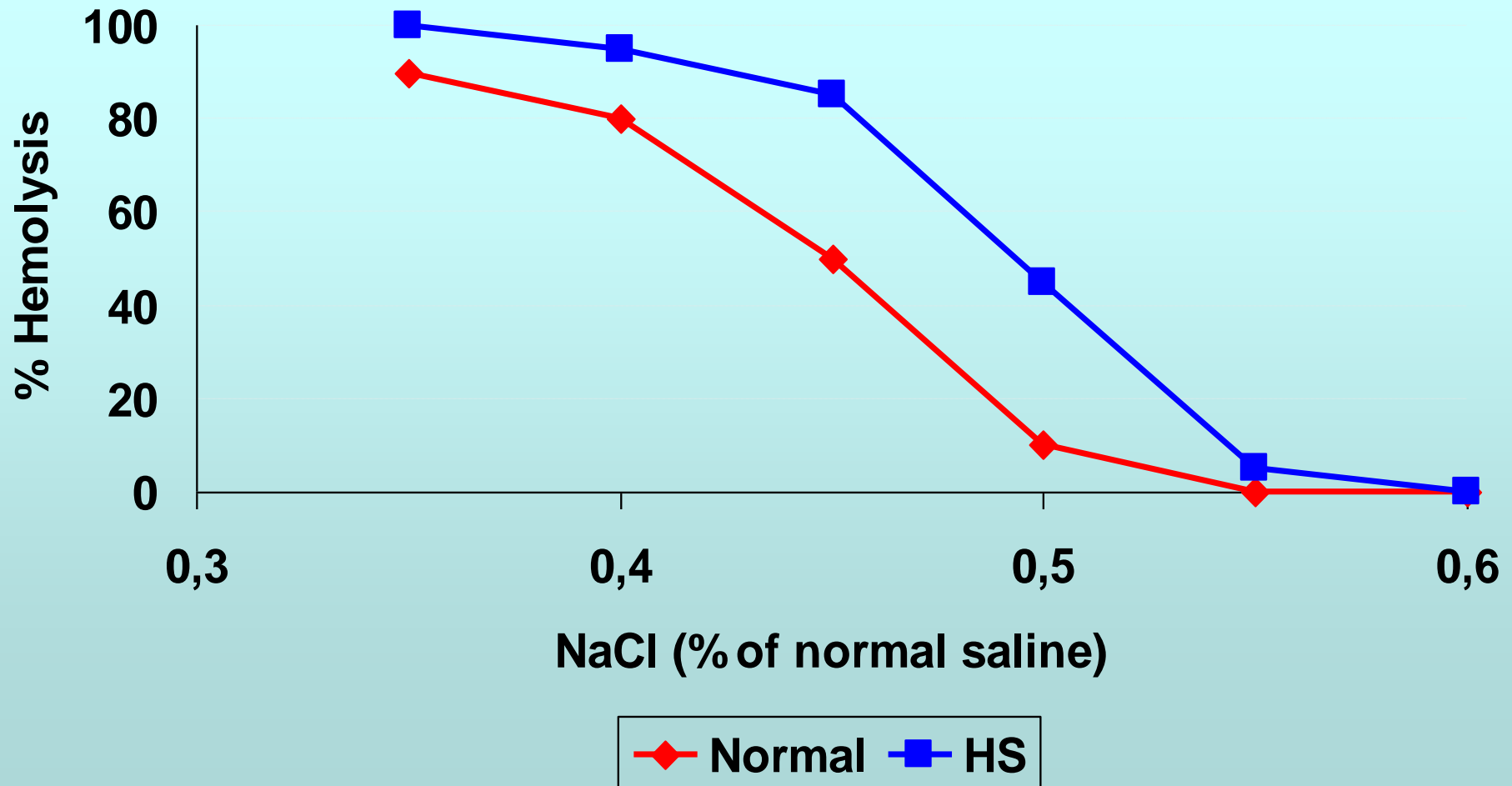
# Μεμβρανοπάθειες



# Κληρονομική σφαιροκυττάρωση

- Διαταραχή ή έλλειψη σπекτρίνης
- Μείωση παραμορφωσιμότητας ερυθρού, σταδιακή απώλεια μεμβράνης με κατάληξη την μετατροπή του ερυθρού σε σφαιροκύτταρο
- Αυξημένη ωσμωτική ευθραυστότητα (καταστροφή ερυθρού μετά από έκθεση σε υπότονα διαλύματα)
- Εξωαγγειακή καταστροφή σφαιροκυττάρων κυρίως από μακροφάγα σπληνός

# Κληρονομική σφαιροκυττάρωση Ωσμωτική ευθραυστότητα



# Κληρονομική σφαιροκυττάρωση

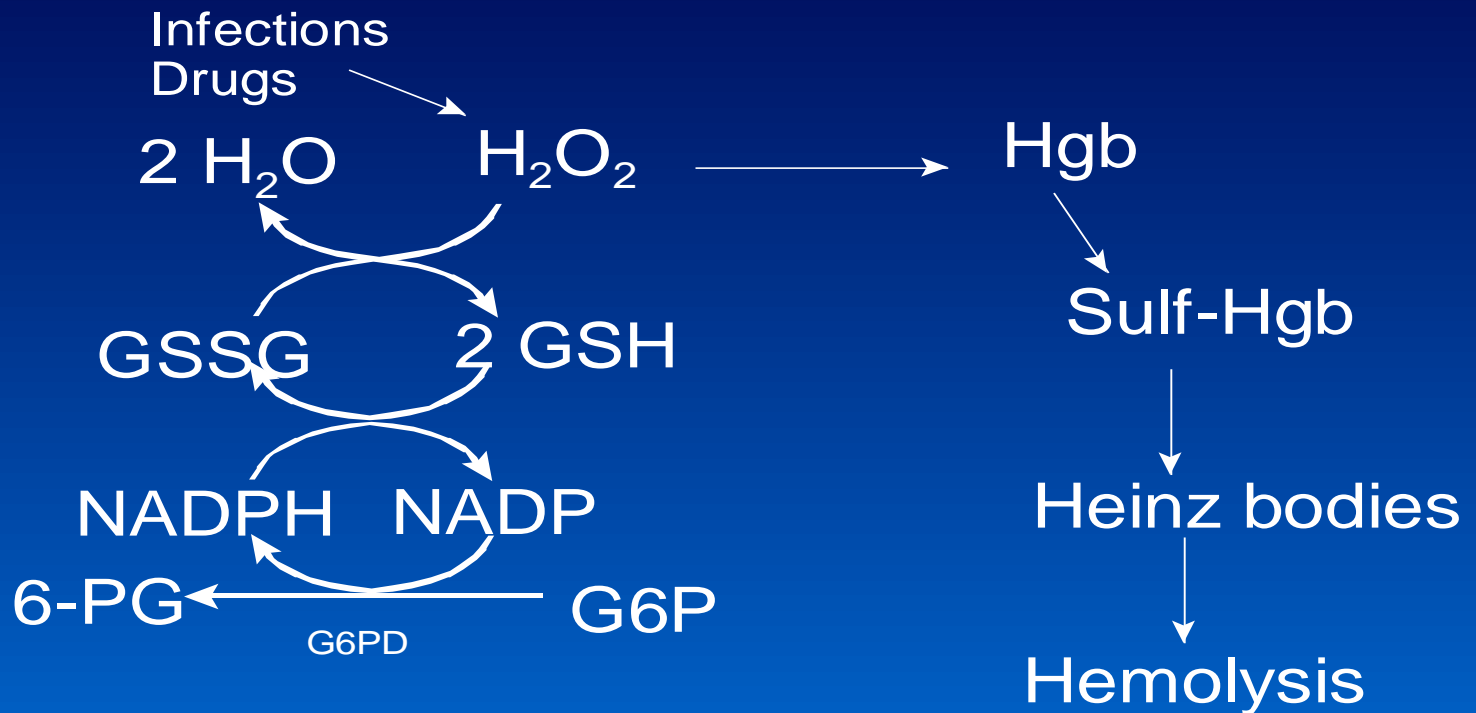
- Χρόνια εξωαγγειακή αιμόλυση
- Σπληνομεγαλία
- Υπίκτερος
- Θεραπευτικά γίνεται σπληνεκτομή

# Ενζυμοπάθειες

- Ανεπάρκεια G-6PD
- Ανεπάρκεια πυρουβικής κινάσης

# Ανεπάρκεια G6PD

## Λειτουργία της G6PD

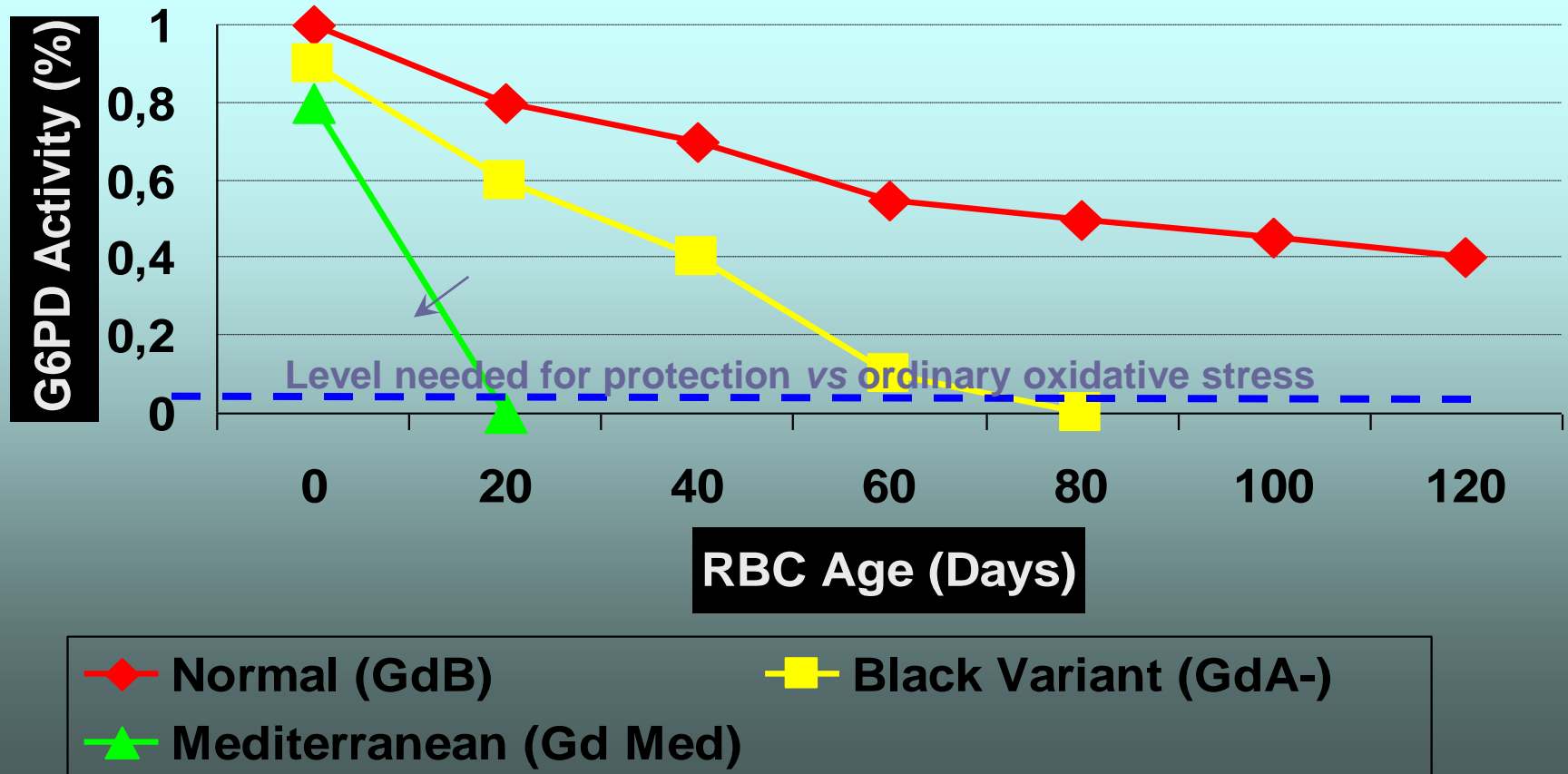




# Glucose 6-Phosphate Dehydrogenase

- Αναγέννηση NADPH, και διατήρηση επαρκών ποσοτήτων αναχθέντος γλουταθείου
- Προστασία από οξειδωτικό stress
- Ανεπάρκεια G6PD προκαλεί αιμόλυση εάν το ερυθρό δεχθεί “ισχυρό οξειδωτικό” stress
  - Λοιμώξεις
  - Διαβητική οξέωση
  - Φάρμακα
  - Κουκιά, ναφθαλίνη
- Οξειδωτικό stress, βλάβη πρωτεινών, δημιουργία Heinz body, βλάβη μεμβράνης, ενδοαγγειακή αιμόλυση

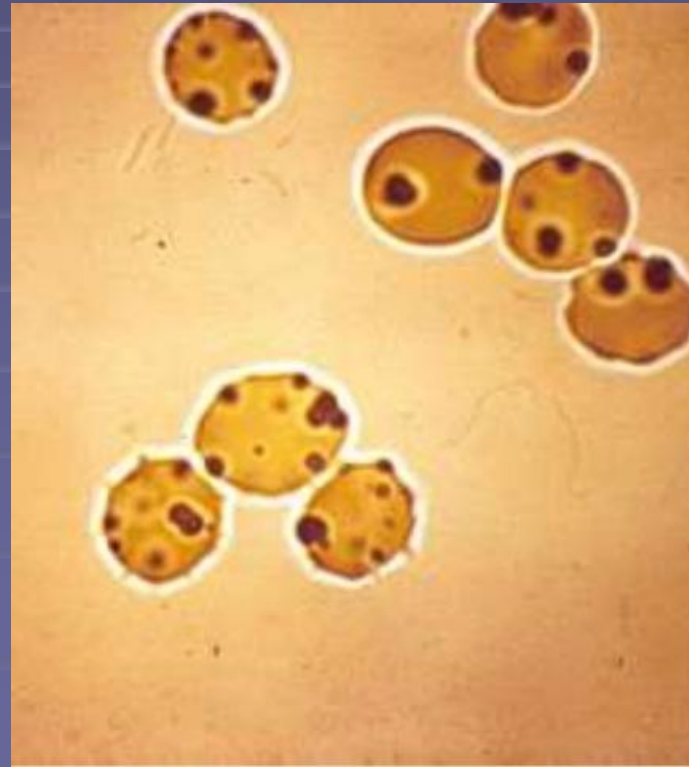
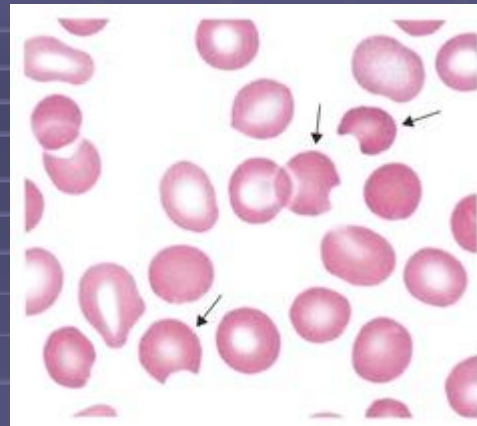
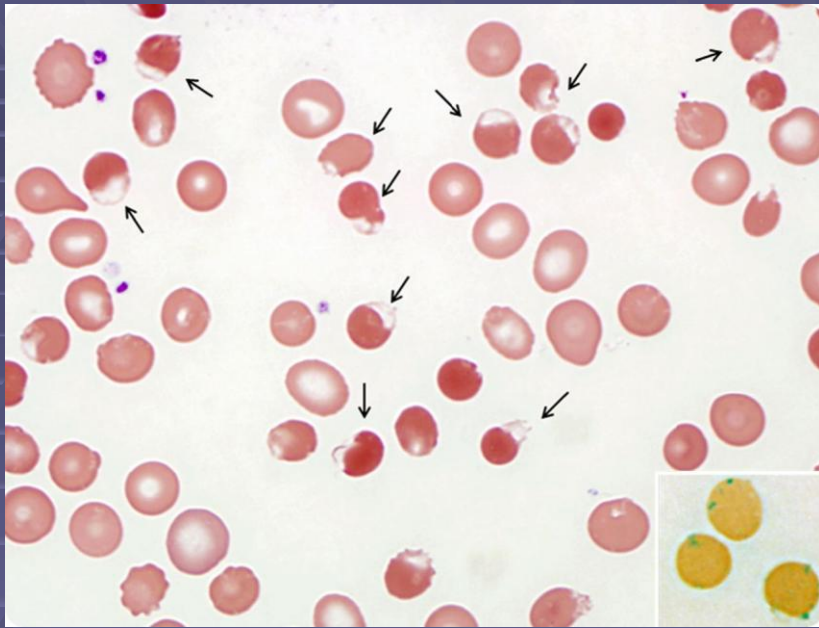
# Ανεπάρκεια G-6PD Διαφορετικά ισοένζυμα



# Ανεπάρκεια G-6PD

- Όχι χρόνια αιμόλυση
- Οξέα επεισόδια αιμόλυσης μετά οξειδωτικό stress
- Βαρεία ενδοαγγειακή αιμόλυση
- Αιμοσφαιρινουρία
- Θεραπεία: αλκαλοποίηση ούρων για αποφυγή ΟΝΑ, και μεταγγίσεις

# Ανεπάρκεια G-6PD



HEINZ BODIES



# Αιμολυτικές διαταραχές

- Επίκτητες
  - ✓ Άνοσες αιμολυτικές αναιμίες
  - ✓ Μακροαγγειοπαθητική αιμολυτική αναιμία
  - ✓ Σύνδρομο θρομβωτικής μικροαγγειοπάθειας
  - ✓ Λοιμώξεις
  - ✓ Χημικές ουσίες, φάρμακα, δηλητήρια
  - ✓ Θερμική βλάβη
  - ✓ Σπάνια αίτια: PNH, Spur-cell anemia, severe hypophosphatemia, etc

# Μακροαγγειοπαθητική αιμολυτική αναιμία

- Τεχνητές βαλβίδες συνήθως μεταλλικές
- Δυσλειτουργούσες βαλβίδες
- Ενδοαγγειακή καταστροφή ερυθρών
- Σχιστοκύτταρα στο περιφερικό αίμα
- Αιμοσφαιρινουρία
- Σιδηροπενία
- Θεραπευτικά: αντικατάσταση βαλβίδας





# Ενδοαγγειακή αιμόλυση

- Μακροαγγειοπαθητική αιμολυτική αναιμία
- Μικροαγγειοπαθητική αιμολυτική αναιμία
- Παροξυντική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία
- Ανεπάρκεια G-6PD
- Αντίδραση σε μετάγγιση
- Ορισμένες λοιμώξεις: malaria, clostridium sepsis
- Δηλητήρια φιδιών
- Ενδοφλέβια χορήγηση απεσταγμένου ύδατος
- Θερμική βλάβη
- Παροξυντική αιμοσφαιρινουρία εκ ψύχους



# Αυτοάνοσες αιμολυτικές αναιμίες

- Από θερμά αντισώματα (WAIHA)
- Από ψυχρά αντισώματα (CAS)
- Παροξυσμική αιμοσφαιρινουρία εκ ψύχους (PCH)

















# Είδη αντισωμάτων

Ιδιότητες αντισώματος	Θερμό αντίσωμα	Ψυχρό αντίσωμα
Τάξη αντισώματος	IgG	IgM
Δυνατότητα συγκόλλησης ερυθρών	OXI	NAI
Θερμοκρασία μέγιστης δράσης	37°C	4°C
Ευόδωση φαγοκυττάρωσης (υποδοχείς Fc στα μακροφάγα	NAI	OXI
Δυνατότητα ενεργοποίησης συμπληρώματος	Όχι μέχρι την τελική οδό (C3-C4)	Ναί μέχρι την τελική οδό (C5-C9) (Membrane attack complex)
	Ατελές αντίσωμα	Πλήρες αντίσωμα

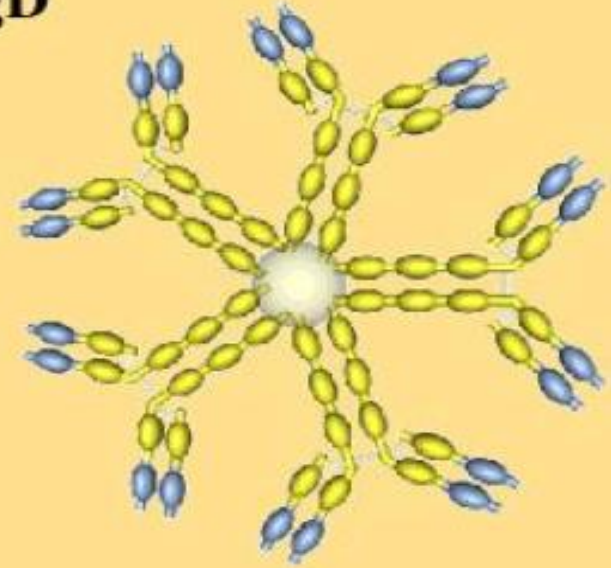
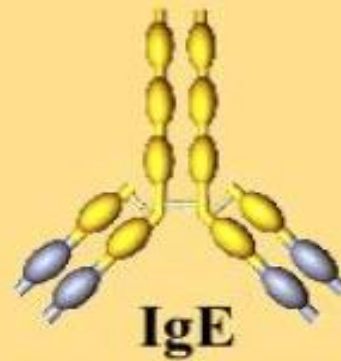
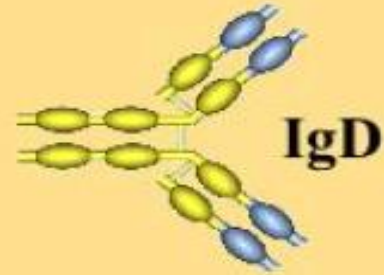
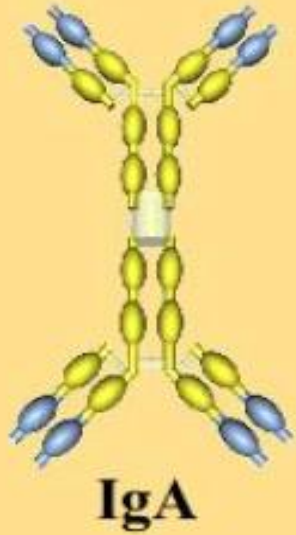
# Ορατή συγκόλληση ερυθρών in vitro

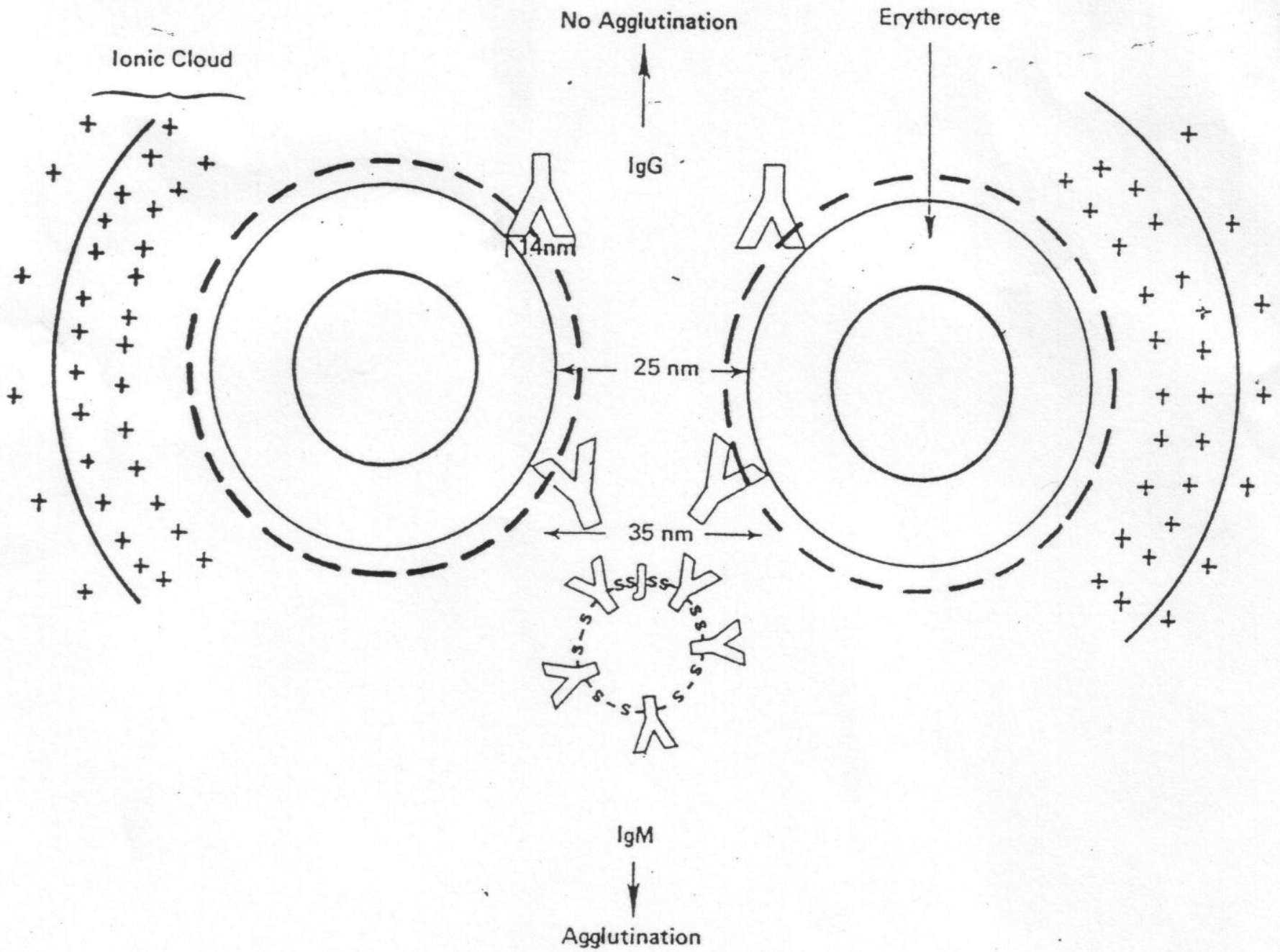
## Blood Type Test

- Determines blood type and compatibility

Blood sample	Anti-A	Anti-B	Anti-O	Blood type
				A <sup>+</sup>
				B <sup>+</sup>
				AB <sup>+</sup>
				O <sup>+</sup>

# Είδη αντισωμάτων







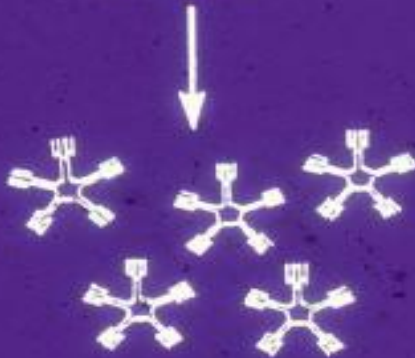
# Δοκιμασία Coombs

- Anti-Human Globulin reagent (AHG)
  - Polyspecific
  - Anti-IgG
  - Anti-complement





HUMAN SERUM OR  
SERUM PROTEINS

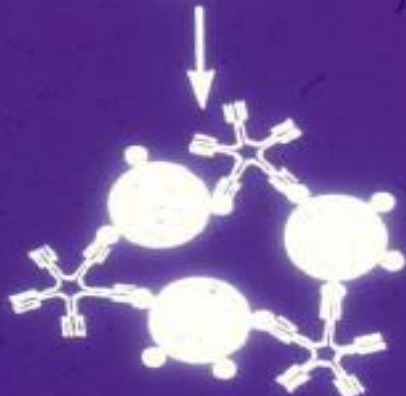


ANTI-IMMUNOGLOBULIN,  
ANTI-COMPLEMENT  
ANTIBODIES PRODUCED  
BY RABBIT

+



RED CELLS COATED  
WITH "INCOMPLETE"  
ANTIBODIES OR  
COMPLEMENT



AGGLUTINATION

# Άμεσος Coombs (Direct antiglobulin test – DAT)



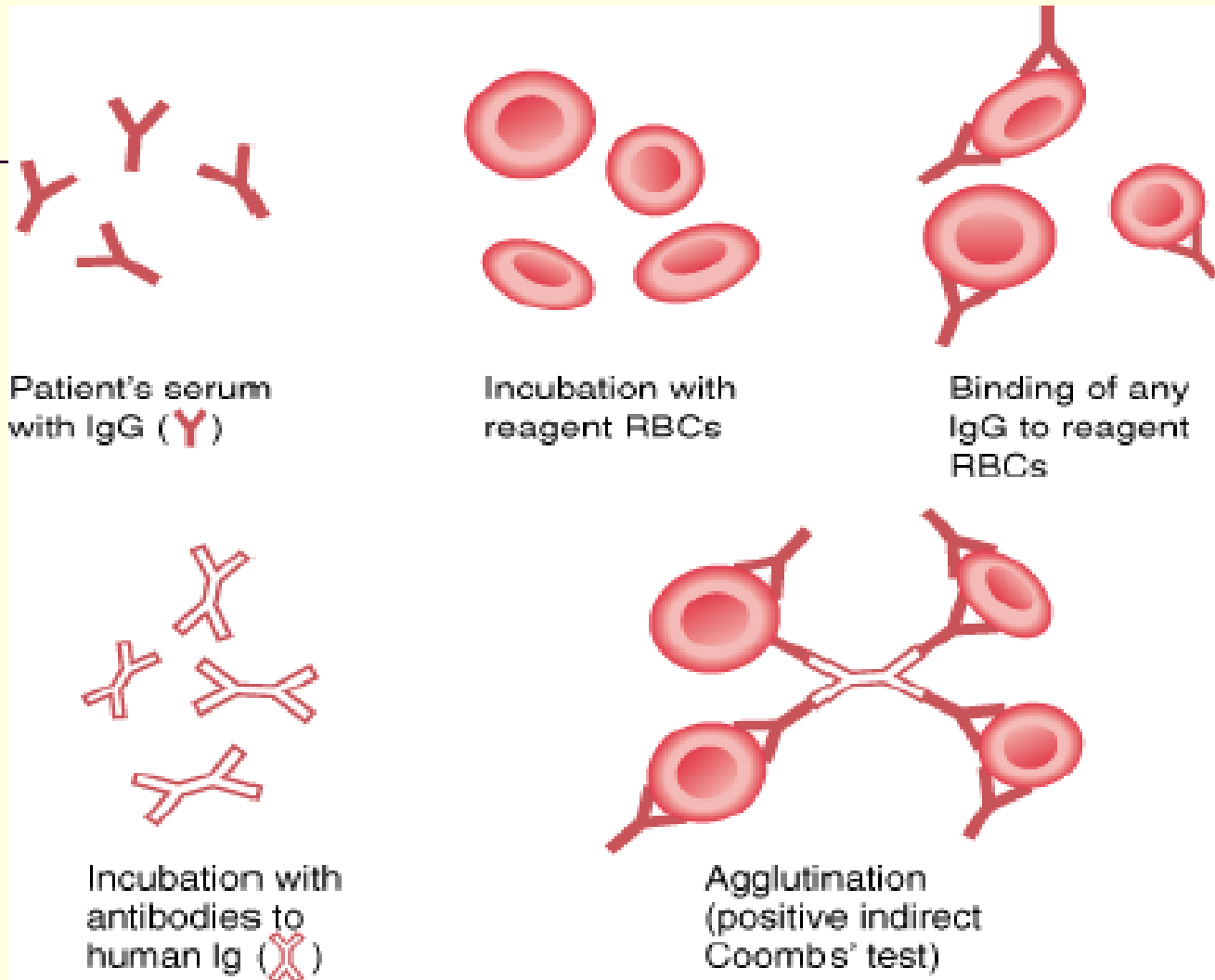
RBCs with IgG (Y)  
or C3 (C) bound to  
membrane

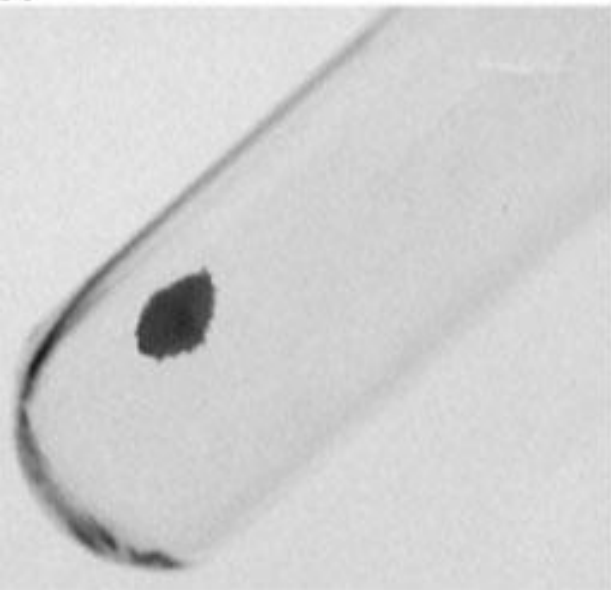
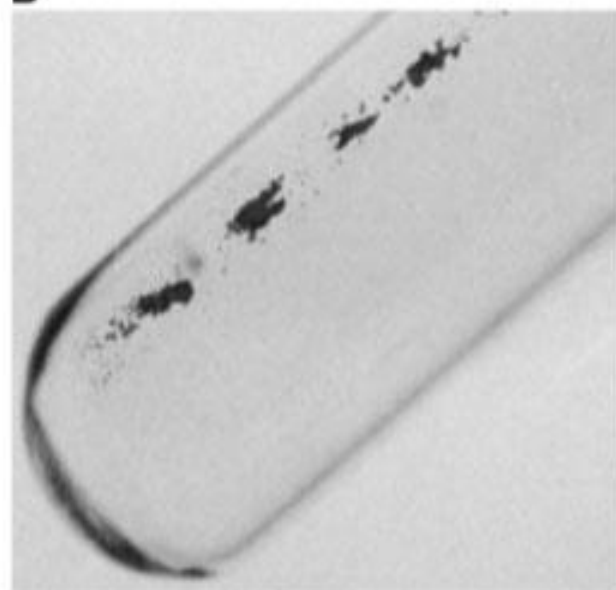
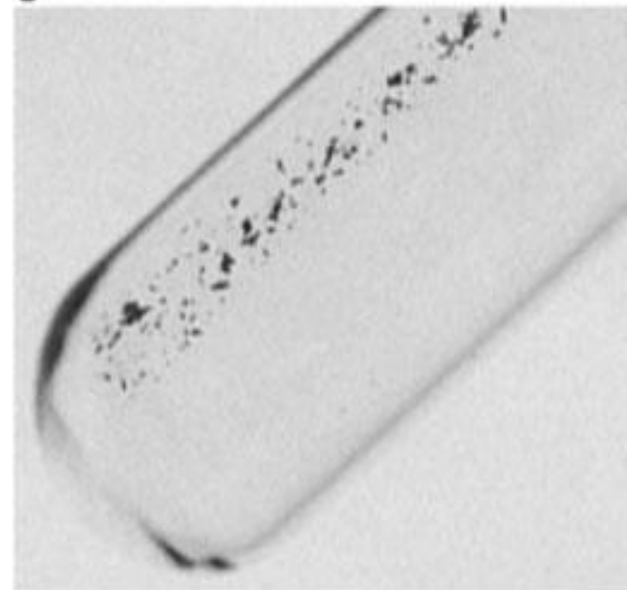
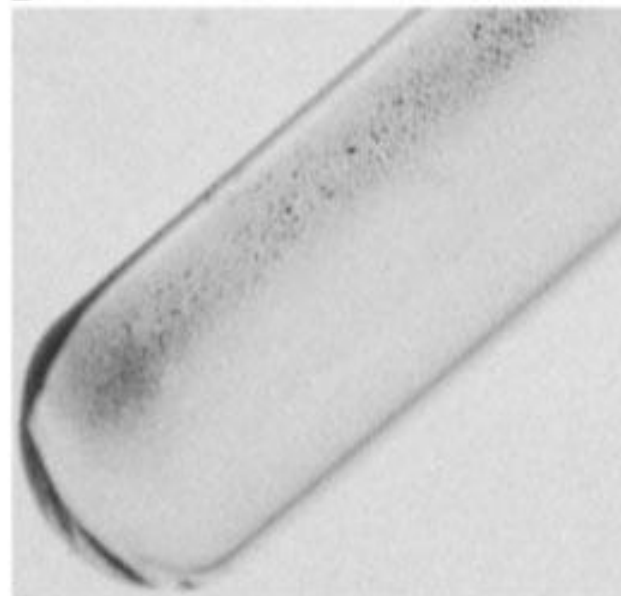
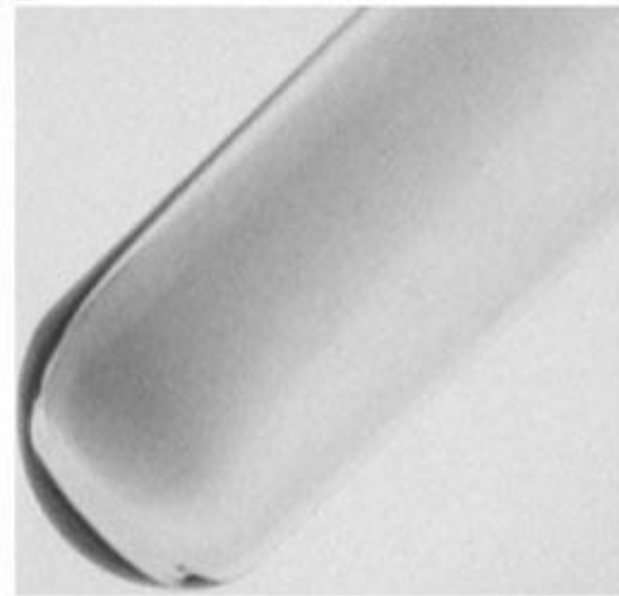
Incubation with  
antibodies to  
human Ig (X)  
and C3 (C)

Agglutination  
(positive direct  
Coombs' test)



# Εμμεση Coombs (IAT- indirect antiglobulin test)



**A****4+ Agglutination****B****3+ Agglutination****C****2+ Agglutination****D****1+ Agglutination****E****Negative**

(Courtesy Organon Teknika, Inc.)

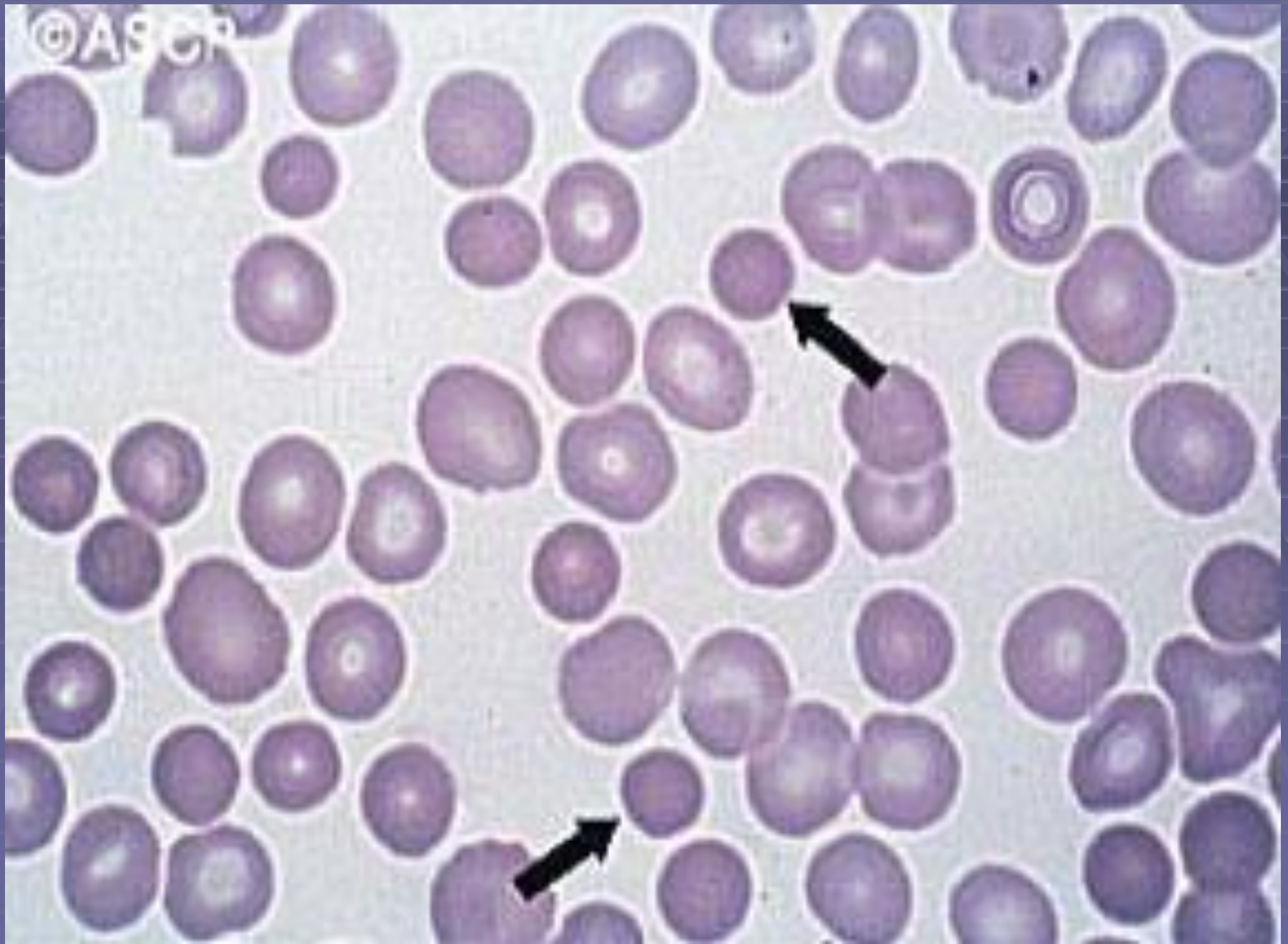
# WAIHA

- Χρόνια αιμόλυση
- Κατά κανόνα εξωαγγειακή αιμόλυση
- Σπανίως ενδοαγγειακή αιμόλυση
- Συμπτωματολογία αναιμίας

# WAIHA – Εργαστηριακά - κλινικά ευρήματα

- Hb
- ΔΕΚ?
- LDH?
- Χολερυθρίνη?
- Απτοσφαιρίνη?
- Αιμοσιδηρίνη ούρων?
- Μικροσκόπηση περιφερικού αίματος?
- Σπληνομεγαλία?
- Λεμφαδενοπάθεια?

© ASCP





# WAIHA – Coombs Άμεση

## DAT Immune Hemolysis

- Warm antibody AIHA
  - 67% positive IgG and C3d
  - 20% positive IgG and negative C3d
  - 13% Positive C3d and negative IgG
- Cold Agglutinin Syndrome
  - 100% positive C3d and negative IgG
- Paroxysmal Cold Hemoglobinuria
  - 100% positive C3d and negative IgG

# WAIHA – Coombs Έμμεση

- Θετική 50% - 70%
- Eluate (έκλουσμα)
- Πανσυγκολλητίνη
- Αντισωματικός στόχος?

# WAIHA - Αιτιολογία

- Ιδιοπαθής?
- Λεμφουπερπλαστικά σύνδρομα?
- Αυτοάνοσα νοσήματα?
- Ελκώδης κολίτιδα?
- Συμπαγείς όγκοι?
- Σύνδρομα ανοσοανεπάρκειας?
- Φάρμακα?

# Θεραπεία

- Κορτικοειδή
- IVIgG?
- Rituximab?
- Σπληνεκτομή
- Ανοσοκατασταλτικά (cyclophosphamide, azathioprine, cyclosporine)
- Πλασμαφαίρεση - ανοσοπροσρόφηση

# Αιμόλυση από ψυχρά αντισώματα (CAS)

- Ιδιοπαθής νόσος ψυχρών συγκολλητινών
- Νόσος ψυχρών συγκολλητινών στα πλαίσια λεμφουπερπλαστικού συνδρόμου

Κοινό χαρακτηριστικό

- Παρουσία μονοκλωνικής παραπρωτεΐνης (MGUS, Immunocytoma, Waldenstrom macroglobulinemia)



# CAS – Κλινικά σημεία ευρήματα

- Χρόνια αιμόλυση
- Κατα κανόνα εξωαγγειακή αιμόλυση
- Επιπλέκεται από επεισόδια βαρείας ενδοαγγειακής αιμόλυσης μετά έκθεση σε ψύχος
- Επιδείνωση τους χειμερινούς μήνες
- Ακροκυάνωση, γάγγραινα
- Σπληνομεγαλία?
- Λεμφαδενοπάθεια?



# Εργαστηριακά ευρήματα

- Ht=10%
- Hb=9gr/dl
- MCV=υψηλό



# Εργαστηριακά ευρήματα

- DAT positive (C3d)
- IAT negative
- Δοκιμασία ψυχρών συγκολλητινών θετική
- Τίτλος υψηλός(1/64.000, 1/128.000)
- Μονοκλωνικό κλάσμα στον ορό (IgM)



# Δοκιμασία ψυχρών συγκολλητινών

- Ορός ασθενούς σε 37<sup>0</sup>C
- Επώαση σε 4<sup>0</sup>C για 24 ώρες
- Ορατή συγκόλληση
- Τιτλοποίηση

# Θεραπεία

- Κορτικοειδή?
- Αποφυγή ψύχους (γαντια, κάλτσες, σκούφος)
- Χλωραμβουκίλη, κυκλοφωσφαμίδιο
- Rituximab?
- IVIgG?
- Σπληνεκτομή
- Ενταντικοποιημένη χημειοθεραπεία
- Πλασμαφαίρεση?
- Μετάγγιση ερυθρών (blood warmer)

# Οξεία CAS

- Αυτοιώμενη νόσος
- Δευτεροπαθής μετά ίογενείς συνήθως λοιμώξεις
- EBV, μυκόπλασμα
- Ειδικότητα αντισώματος (anti-I, anti-i)
- Όχι μονοκλωνικό κλάσμα στον ορό

# Χρόνια CAS χωρίς μονοκλωνικό

- Παρακολούθηση
- Ορισμένοι ασθενείς θα παρουσιάσουν μονοκλωνικό αργότερα

# Παροξυντική αιμοσφαιρινουρία εκ ψύχους

- Οξεία ενδοαγγειακή αιμόλυση
- Σύφιλη
- Ιογενείς λοιμώξεις σε παιδιά
- Θεραπεία: μετάγγιση με blood warmer
- Αυτοιώμενη νόσος
- Θεραπεία συφιλίδος
- DAT (C3d)
- IAT: αρνητική



# Donath-Landsteiner Test (Biphasic Hemolysis)

	30' @4°C 60' @37 °C	90' @4 °C	90' @37 °C
Patient Serum	+	-	-
Patient Serum Normal fresh serum	+	-	-
Normal Fresh	-	-	-

# Drug-Induced Immune Hemolytic Anemia

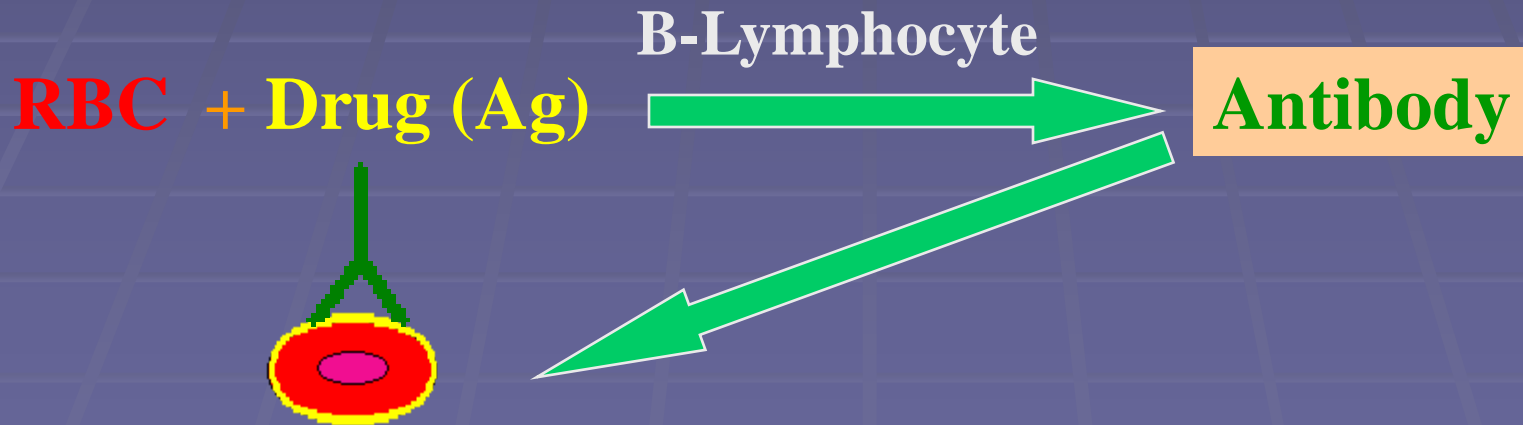
## 1. Drug Adsorption Mechanism

Penicillins, Cephalosporin and Streptomycins

mechanism

First the drug is nonspecifically adsorbed to the patient's red cell

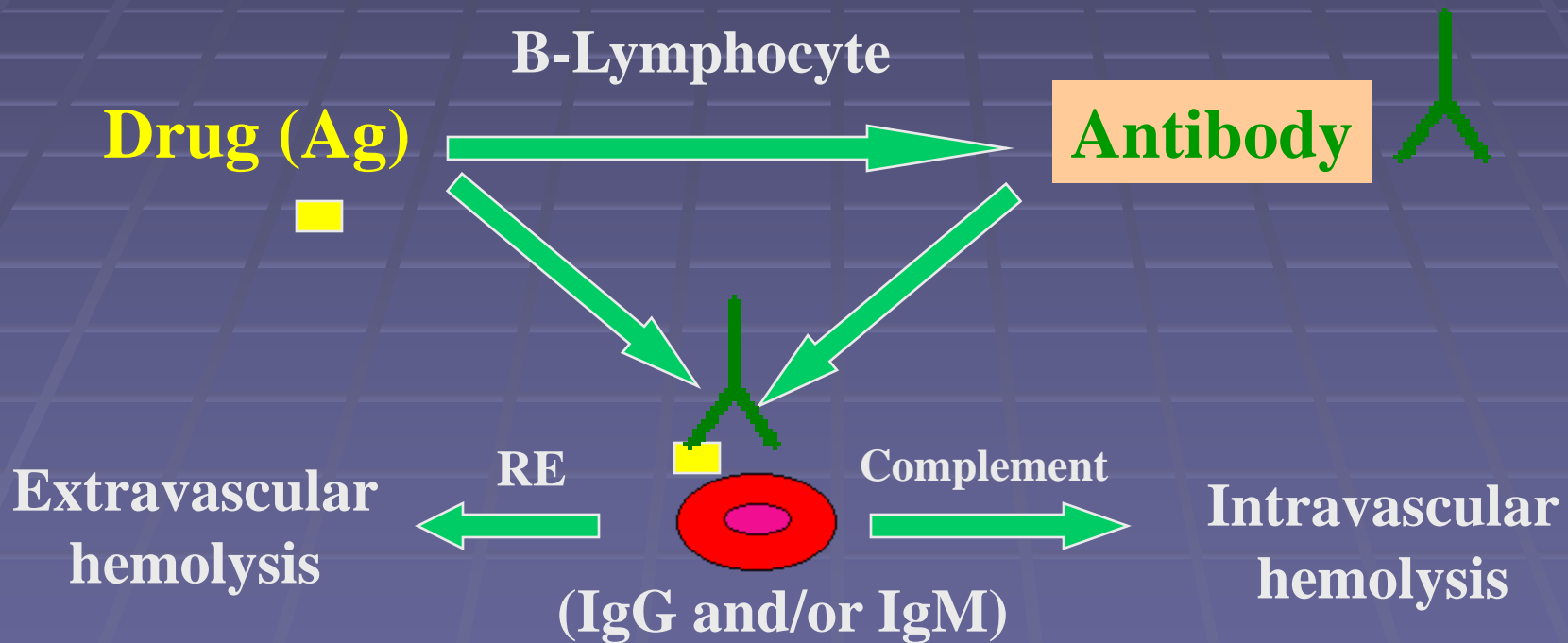
Second the drug must be able to elicit an antibody response



# Drug-Induced Immune Hemolytic Anemia

## 2. Immune Complex Mechanism : “Innocent bystander”

Quinidine and Phenacetin



# Drug-Induced Immune Hemolytic Anemia

## 3. Methyldopa-Induced (Autoimmune) Mechanism

methyldopa and related drugs (Aldomet, L-dopa):  
treatment of hypertension

