

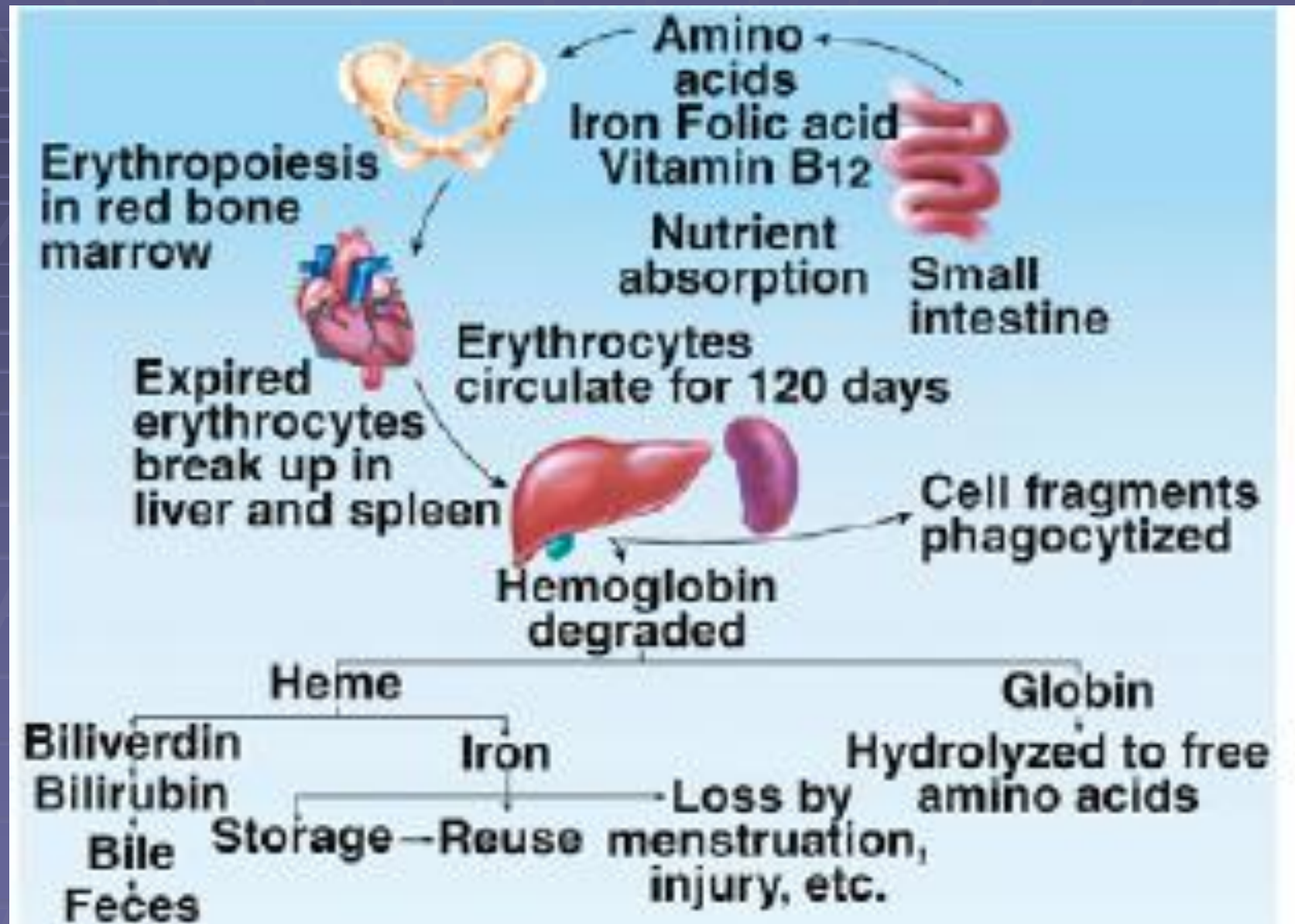
Αιμολυτικές αναιμίες

Παναγιώτης Τσιριγώτης

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 απποσφαιρίνης
- Αύξηση μεθαιμαλβουμίνης
- **Μείωση αιμοπηξίνης**
- **Ελεύθερη αιμοσφαιρίνη στο αίμα**
- **Αιμοσφαιρινουρία**
- **Αιμοσιδηρινουρία**

Αιμολυτικές διαταραχές

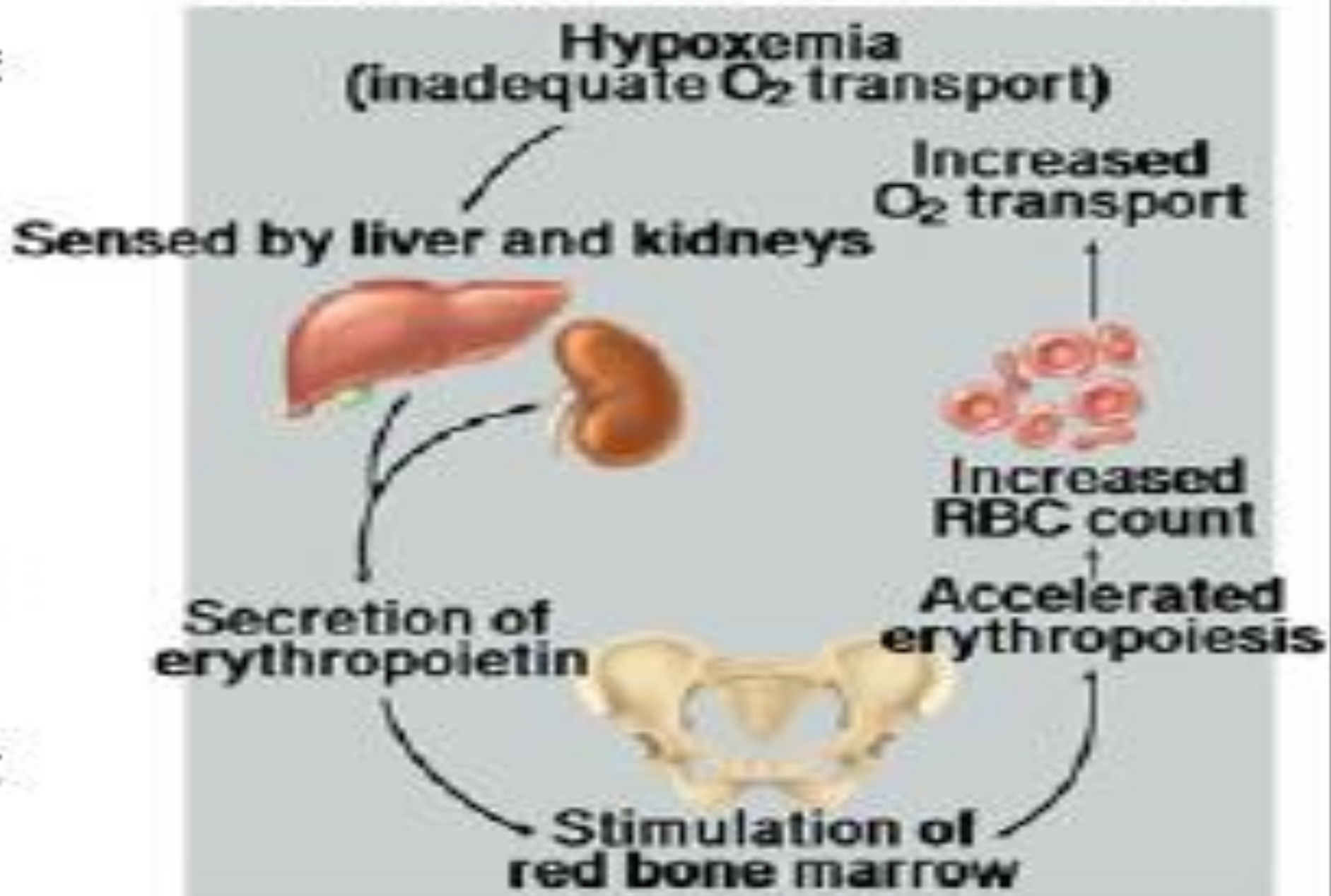
- Αντιρροπούμενες
- Μη-αντιρροπούμενες
- Καθ-υπεροχή ενδοαγγειακή αιμόλυση
- Καθ-υπεροχή εξωαγγειακή αιμόλυση

Κλινικά σημεία-συμπτώματα

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

Εργαστηριακά ευρήματα σχετιζόμενα με αυξημένη καταστροφή των ερυθρών αιμοσφαιρίων

- Μείωση επιβίωσης ερυθρών αιμοσφαιρίων
- Μείωση γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης
- Εμμεση υπερχολερυθριναιμία
- Αυξημένη έκκριση ουροχολινογόνου
- Αύξηση LDH
- Μείωση εξαφάνιση απτοσφαιρίνης
- Μεθαιμαλβουλιναιμία
- Μείωση αιμοπηξίνης ορού
- Αιμοσφαιριναιμία
- Αιμοσφαιρινουρία
- Αιμοσιδηρινουρία



Εργαστηριακά ευρήματα σχετιζόμενα με αυξημένη παραγωγή ερυθρών αιμοσφαιρίων

- Περιφερικό αίμα:

- ✓ Δικτυοερυθροκυττάρωση, πολυχρωματοφιλία, λεπτή βασεόφιλη στίξη

- ✓ εμπύρηννα ερυθρά

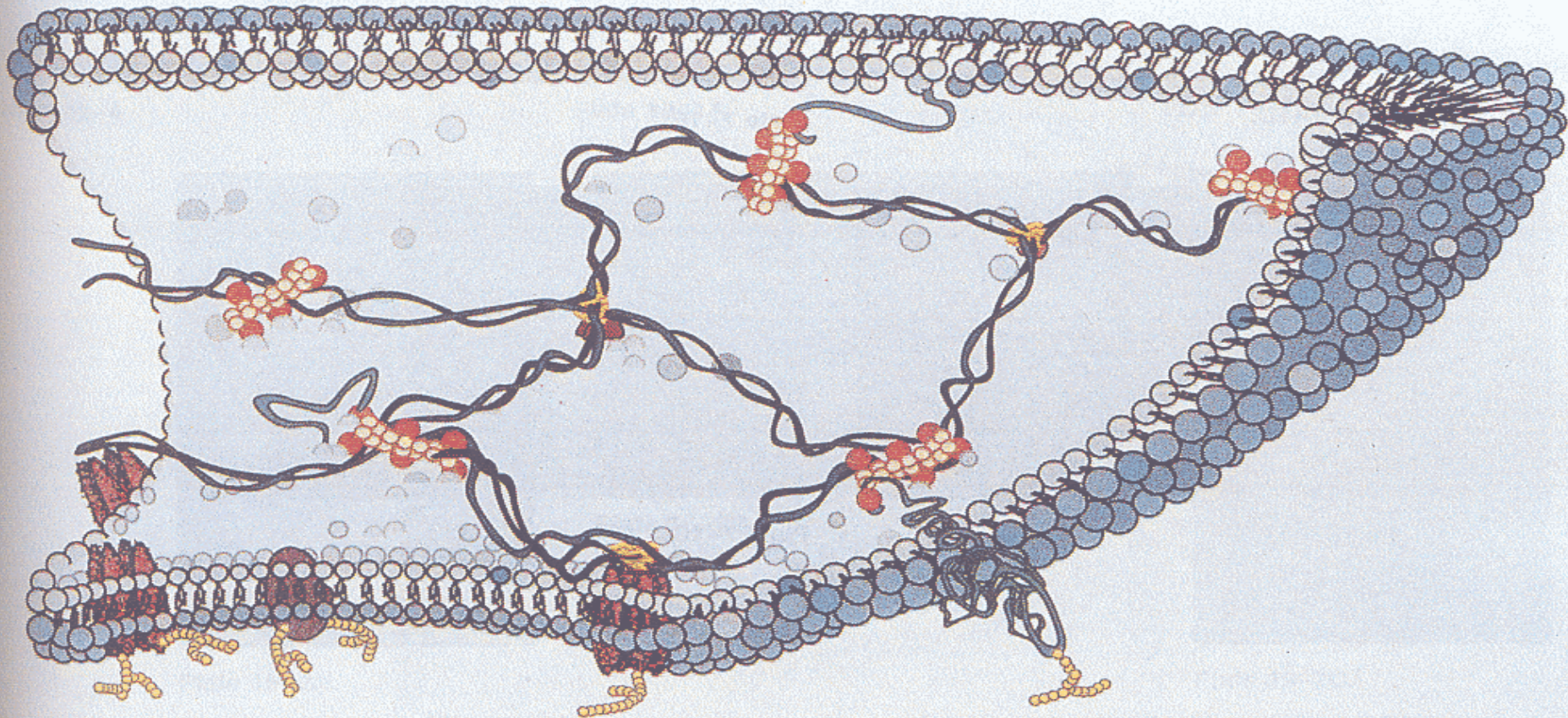
- ✓ μακροκυττάρωση








- Μυελός οστών: υπερπλασία ερυθράς σειράς

Αιμολυτικές διαταραχές

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

RED CELL CYTOSKELETON

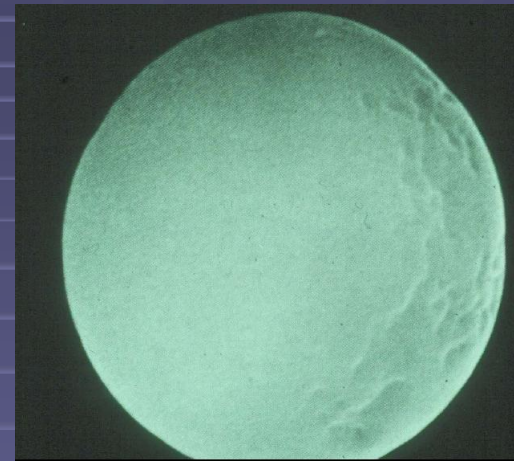


	spectrin α & β		protein 4.1
	band 3		ankyrin
	other membrane protein		actin
			glycophorin

HEREDITARY SPHEROCYTOSIS

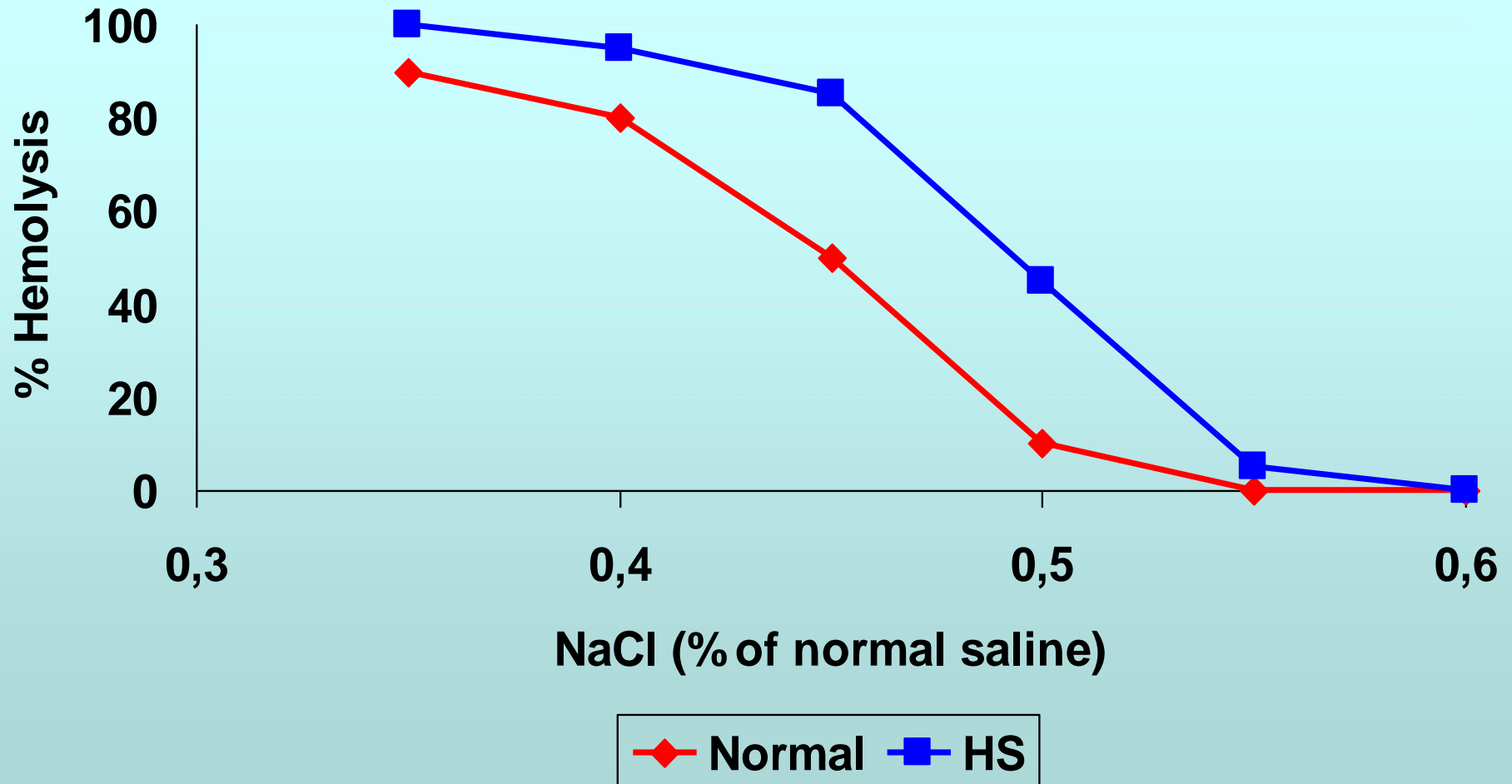
- Defective or absent spectrin molecule
- Leads to loss of RBC membrane, leading to spherocytosis
- Decreased deformability of cell
- Increased osmotic fragility
- Extravascular hemolysis in spleen

Μεμβρανοτάθειες



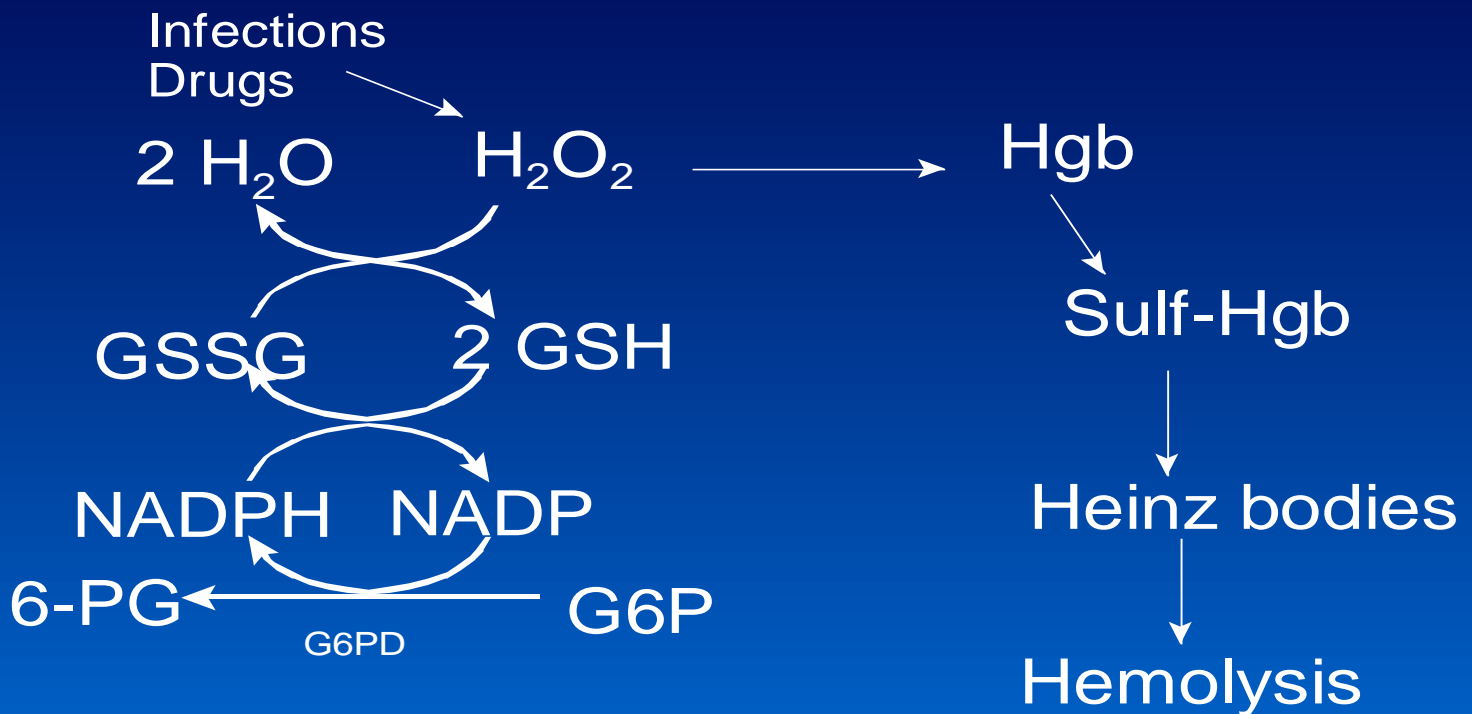
HEREDITARY SPHEROCYTOSIS

Osmotic Fragility




G6PD DEFICIENCY

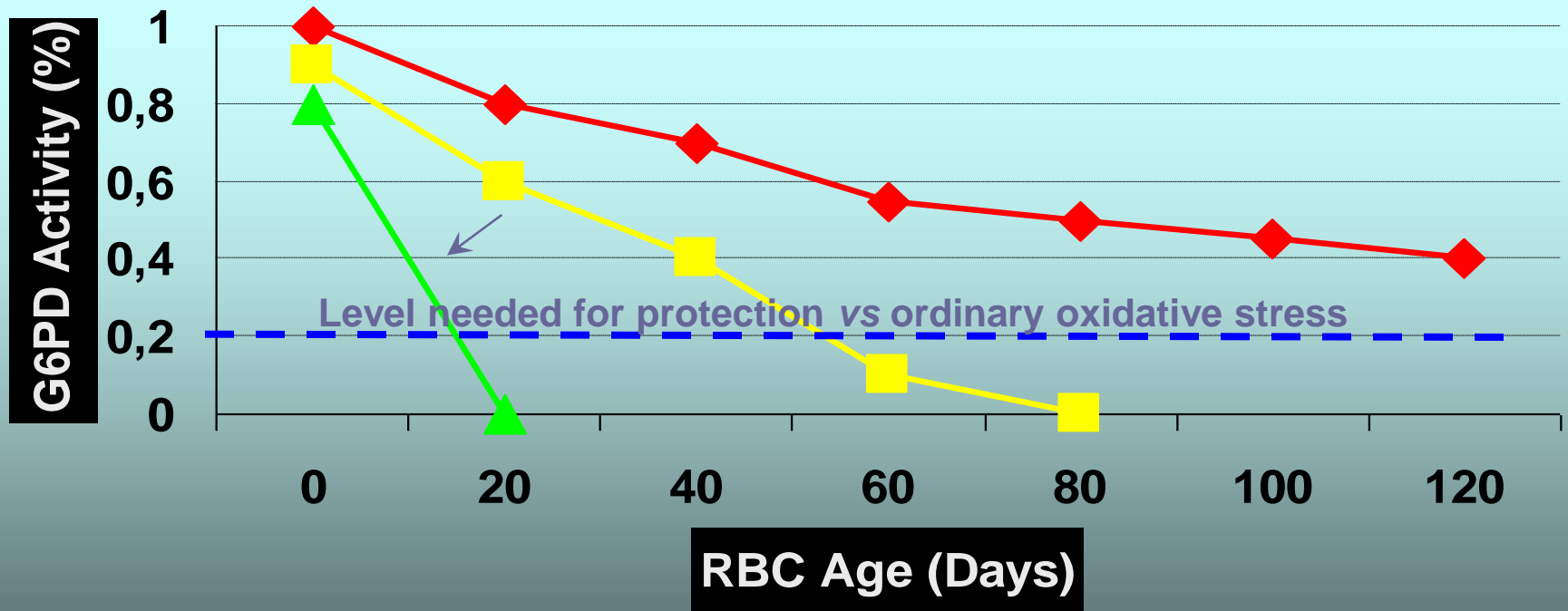
Function of G6PD



Glucose 6-Phosphate Dehydrogenase *Functions*

- Regenerates NADPH, allowing regeneration of glutathione
- Protects against oxidative stress
- Lack of G6PD leads to hemolysis during oxidative stress
 - Infection
 - Medications
 - Fava beans
- Oxidative stress leads to Heinz body formation,
 extravascular hemolysis

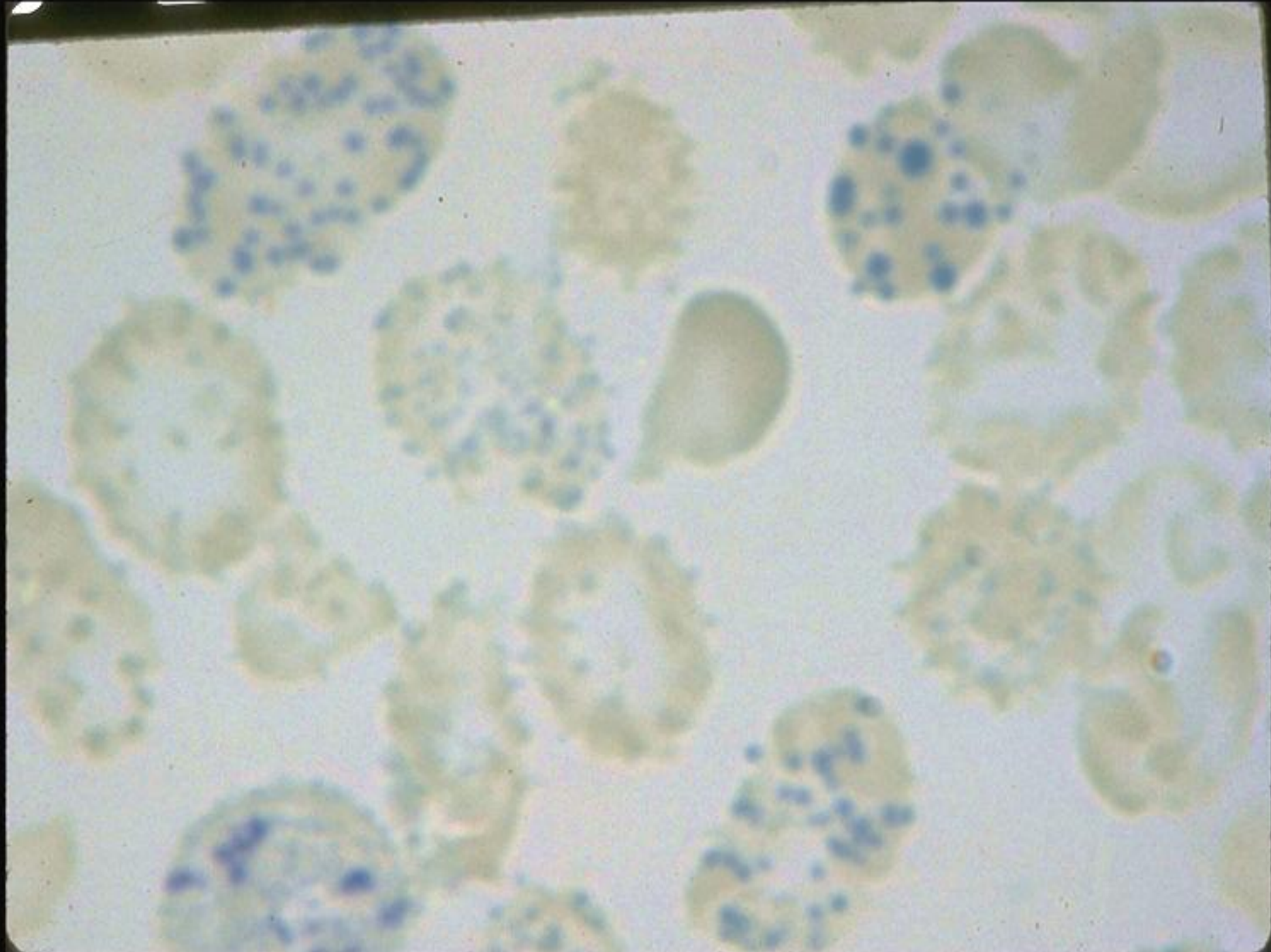
Glucose 6-Phosphate Dehydrogenase *Different Isozymes*



◆ Normal (GdB)

■ Black Variant (GdA-)

▲ Mediterranean (Gd Med)



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



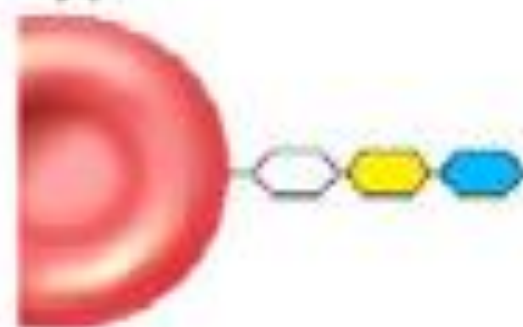
Ενδοαγγειακή αιμόλυση

- Erythrocyte fragmentation: TMA, etc
- PNH
- G-6PD
- Immediate hemolytic transfusion reaction
- Certain infections: malaria, clostridium sepsis
- Snake-spider venoms
- Intravenous administration of distilled water
- Poisoning (arsine)
- Thermal injury
- Some cases of autoimmune hemolytic anemia
- Paroxysmal cold hemoglobinuria

ABO Blood Type Isoantigens (antigens)

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display

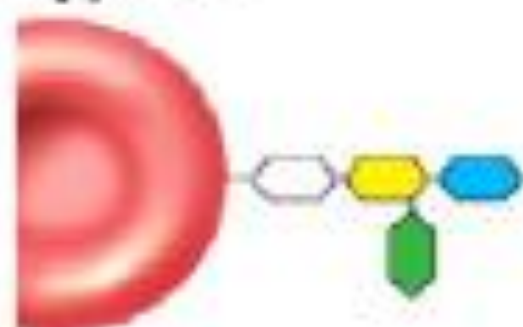
Type O



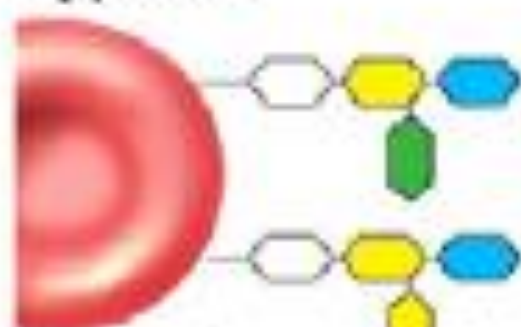
Type B



Type A



Type AB



Key

 Galactose

 Fucose

















 N-acetylgalactosamine

ABO Antigens and Antibodies

	Surface Antigens	Antibodies
A	A	Anti-B
B	B	Anti-A
AB	A, B	none
O	none	Anti-A Anti-B

Blood Type Test

- Determines blood type and compatibility

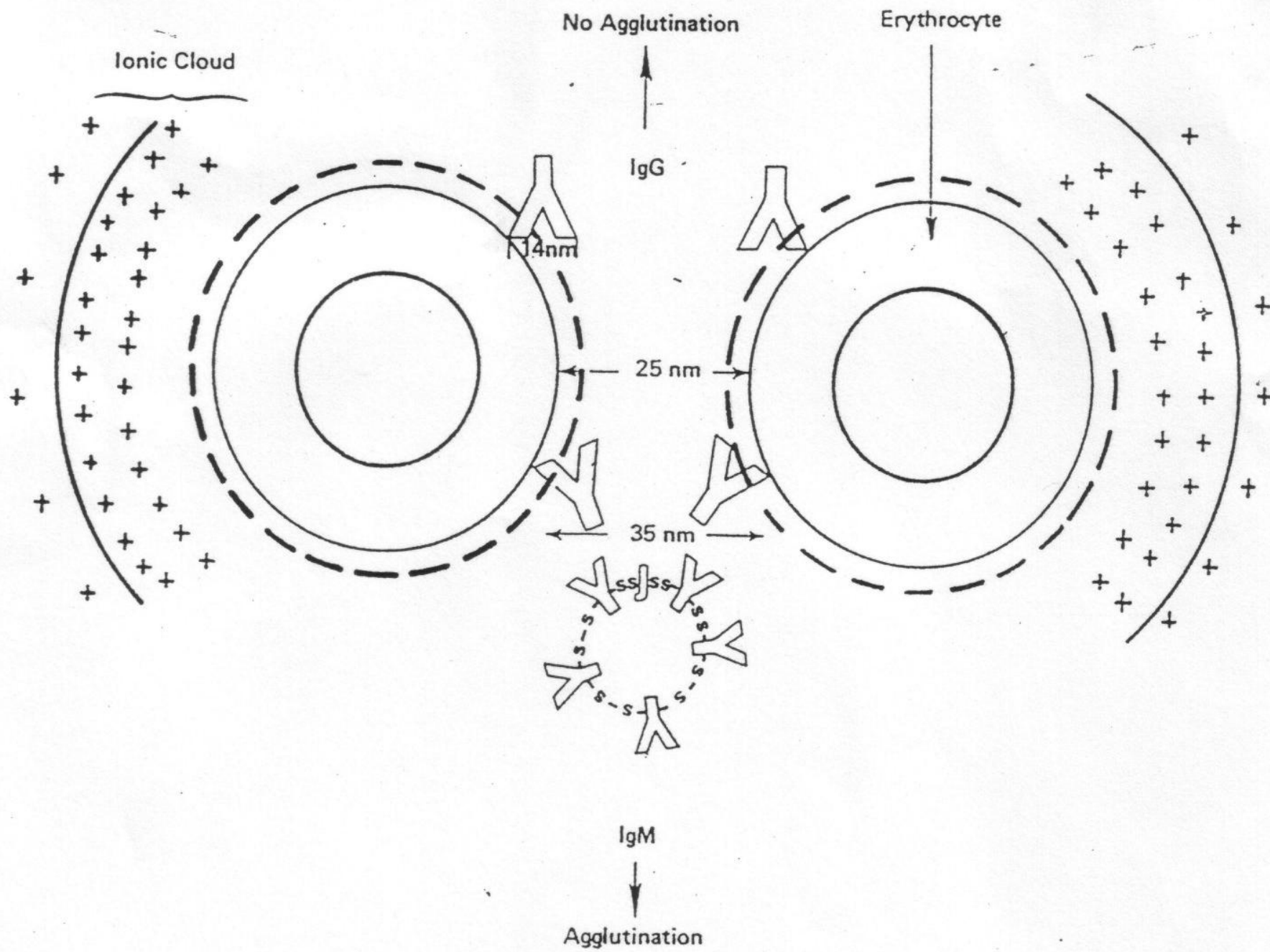
Blood sample	Anti-A	Anti-B	Anti-D	Blood type
				A ⁺
				B ⁺
				AB ⁺
				O ⁺

Αυτοάνοσες αιμολυτικές αναιμίες

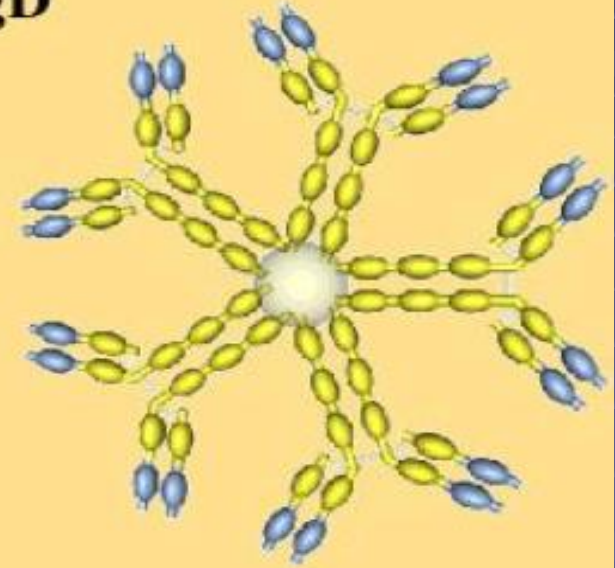
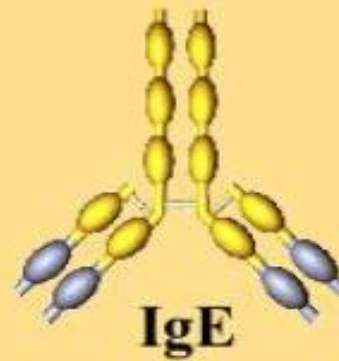
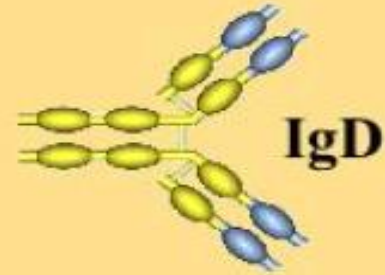
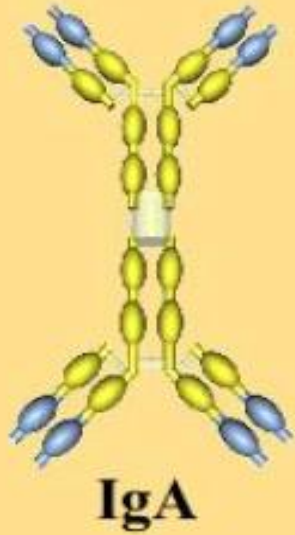
- Από θερμά αντισώματα (WAIHA)
- Από ψυχρά αντισώματα (CAS)
- Παροξυσμική αιμοσφαιρινουρία εκ ψύχους (PCH)

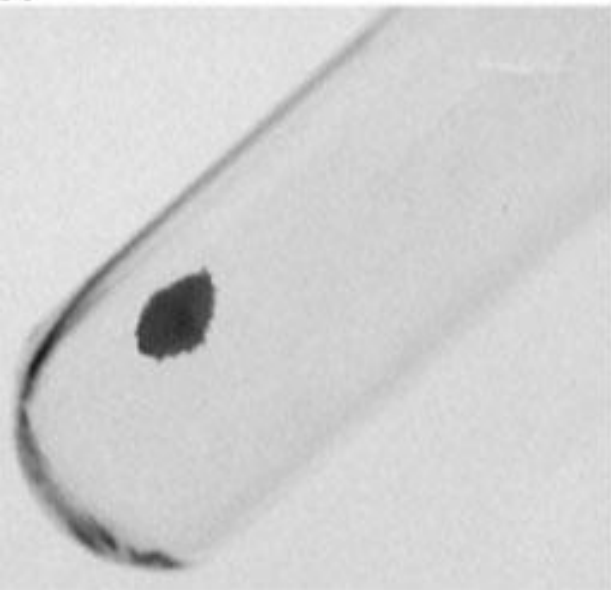
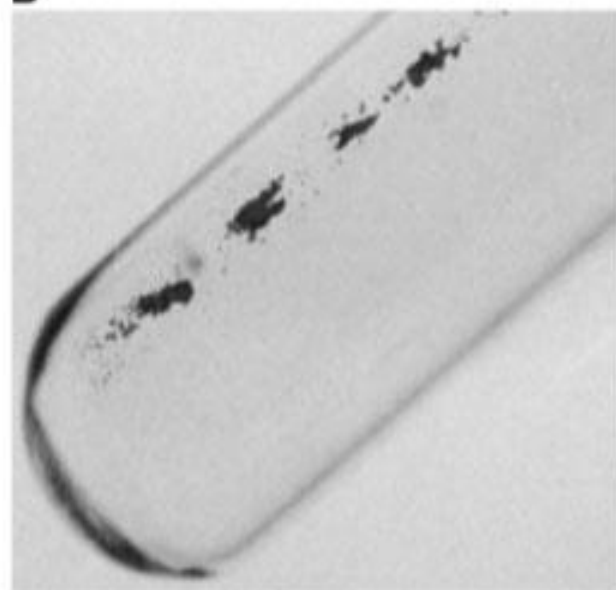
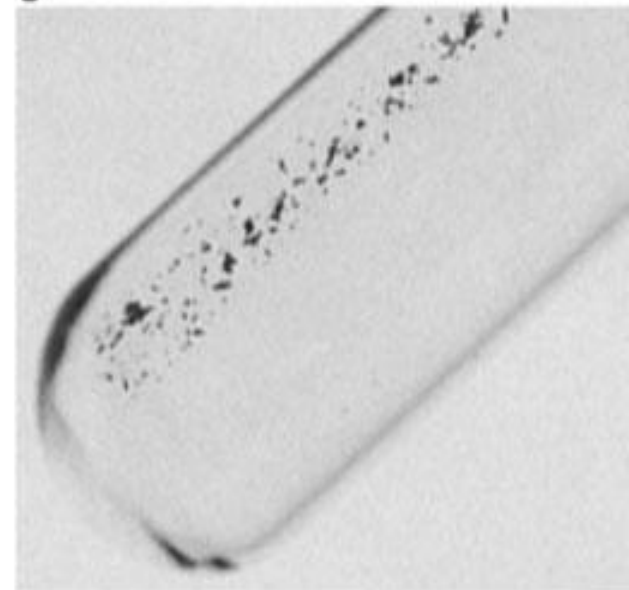
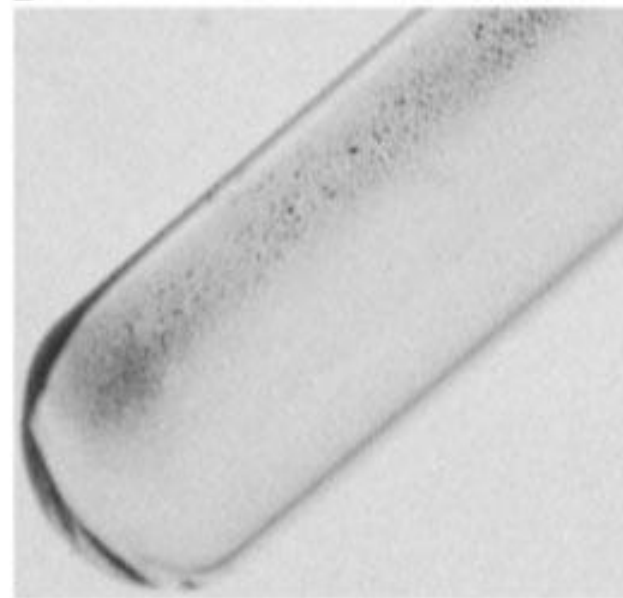
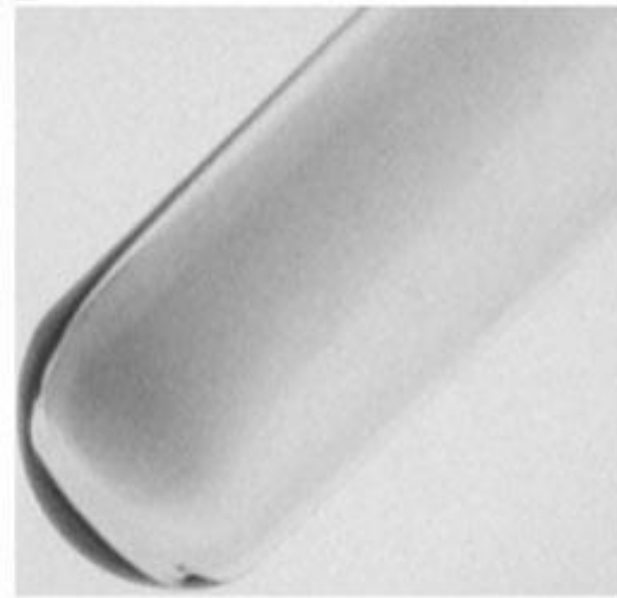
Είδη αντισωμάτων

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



Είδη αντισωμάτων

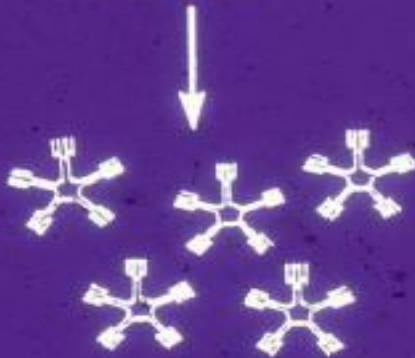


A**4+ Agglutination****B****3+ Agglutination****C****2+ Agglutination****D****1+ Agglutination****E****Negative**

(Courtesy Organon Teknika, Inc.)



HUMAN SERUM OR
SERUM PROTEINS

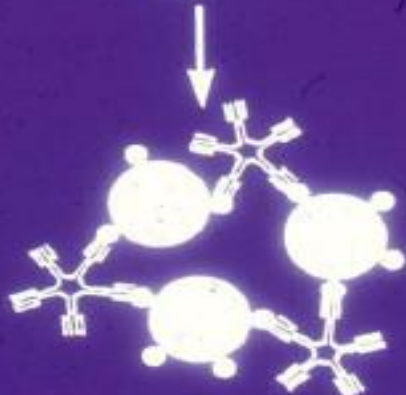


ANTI-IMMUNOGLOBULIN,
ANTI-COMPLEMENT
ANTIBODIES PRODUCED
BY RABBIT

+



RED CELLS COATED
WITH "INCOMPLETE"
ANTIBODIES OR
COMPLEMENT



AGGLUTINATION

Δοκιμασία Coombs

- To do this we use the Anti-Human Globulin reagent (AHG)
 - Polyspecific
 - Anti-IgG
 - Anti-complement



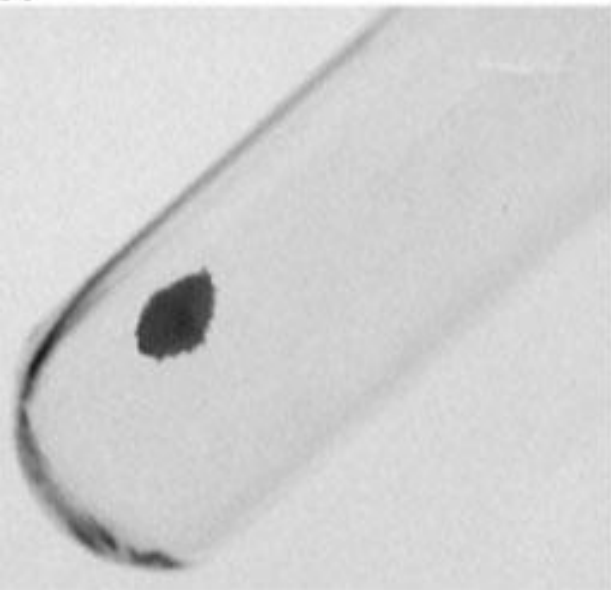
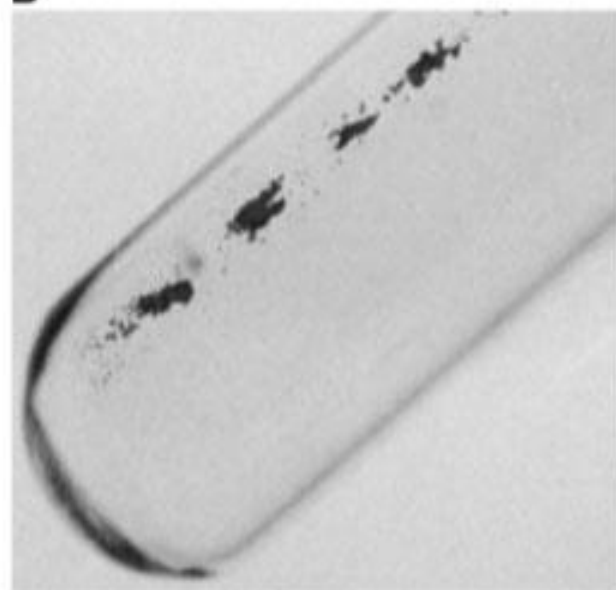
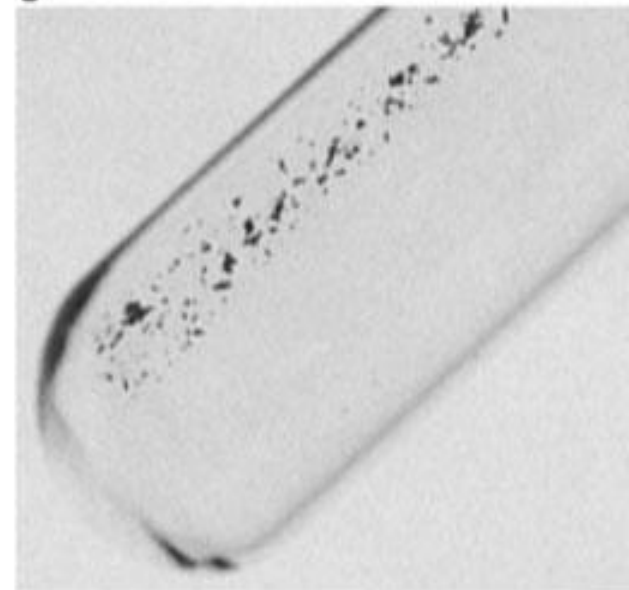
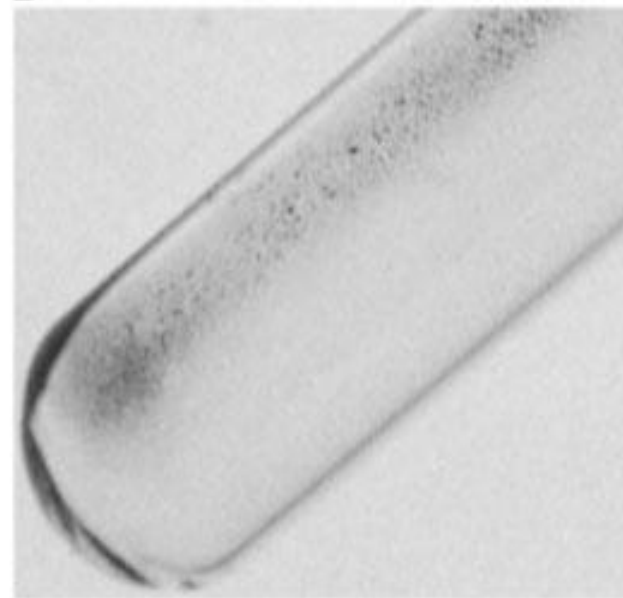
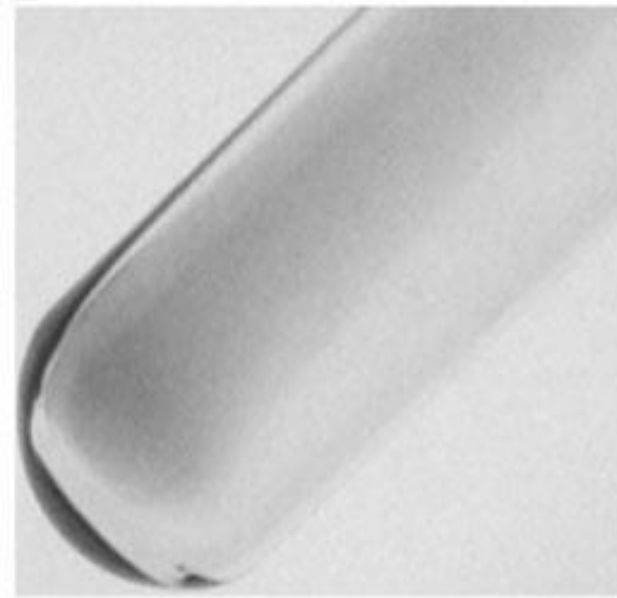
Άμεσος Coombs (Direct antiglobulin test – DAT)



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

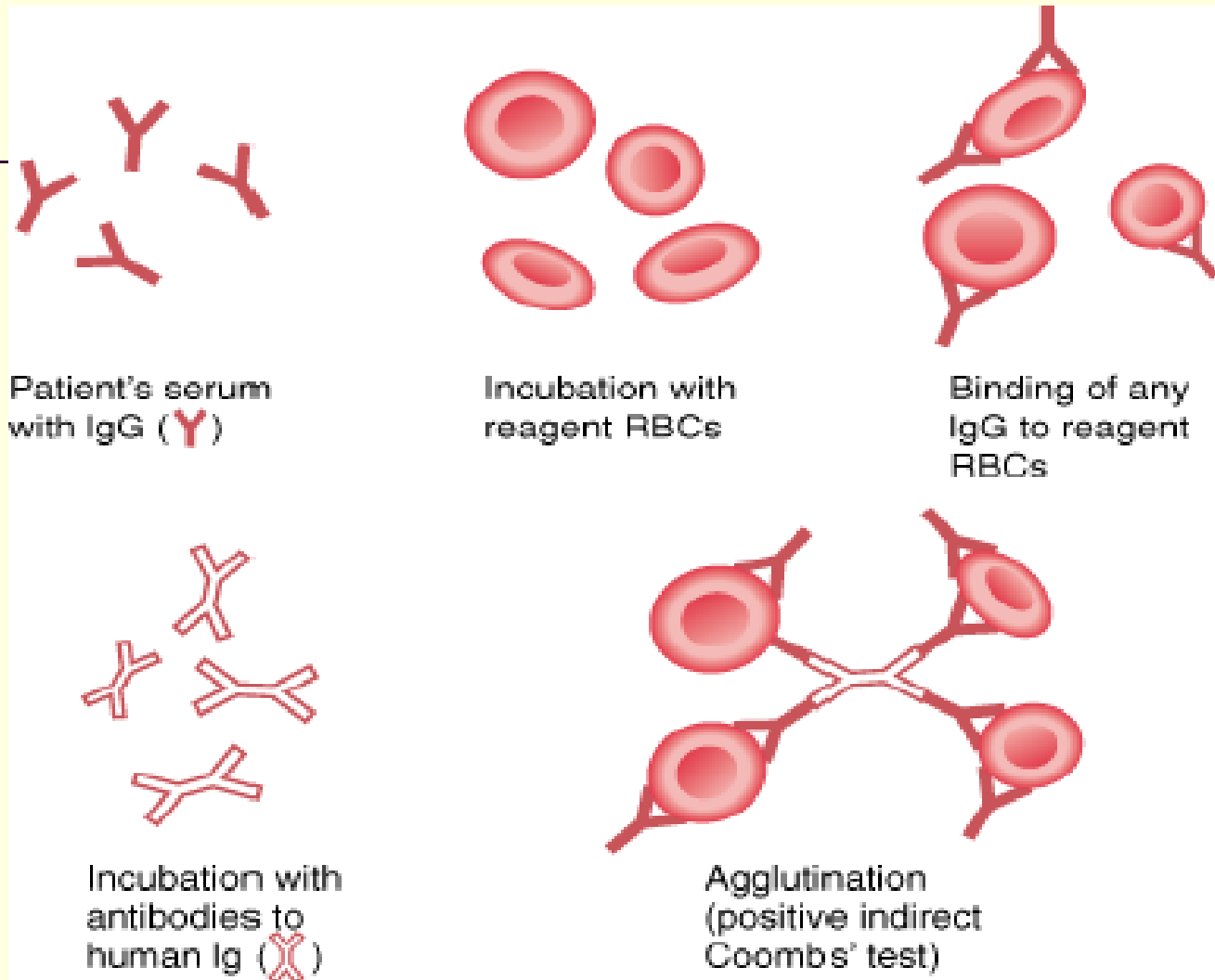
Incubation with
antibodies to
human Ig (X)
and C3 (C)

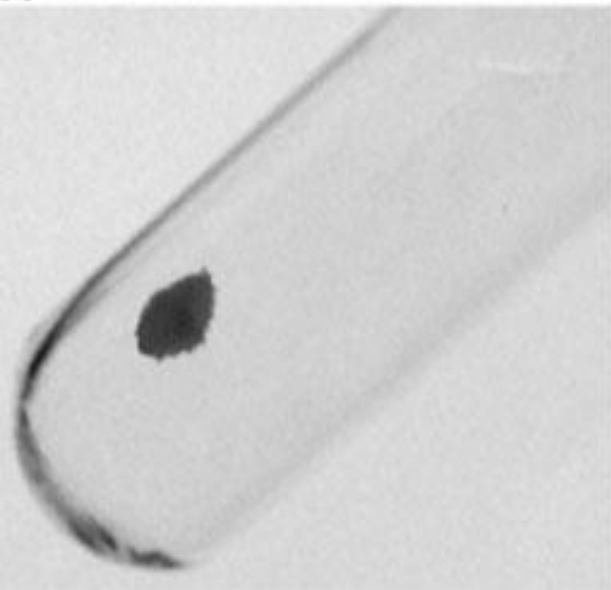
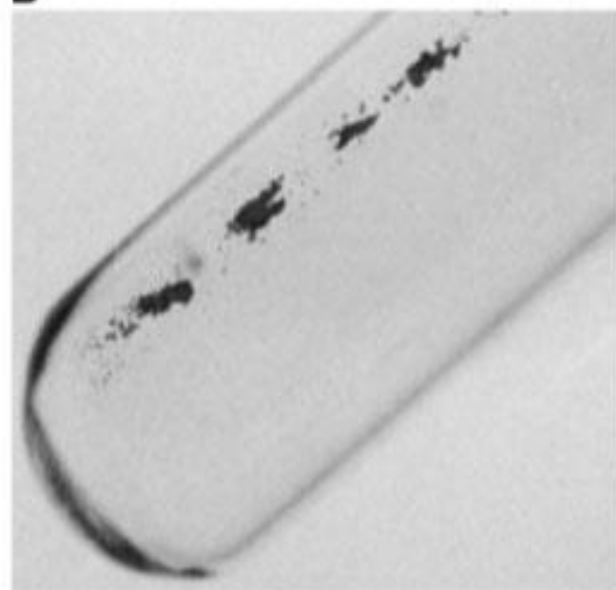
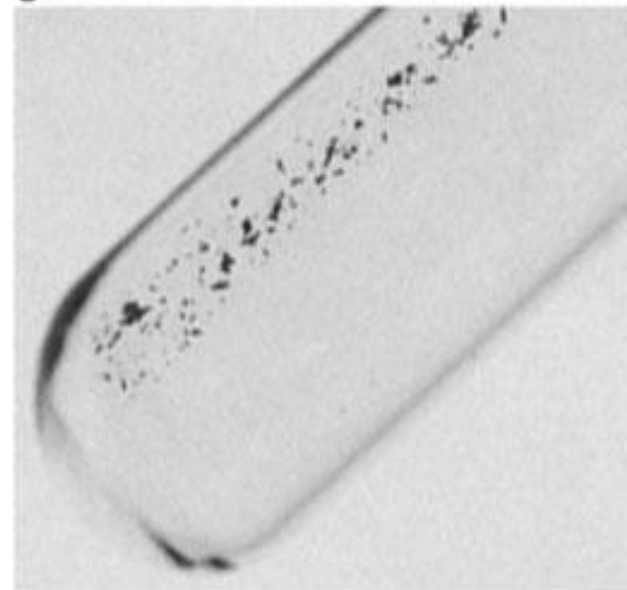
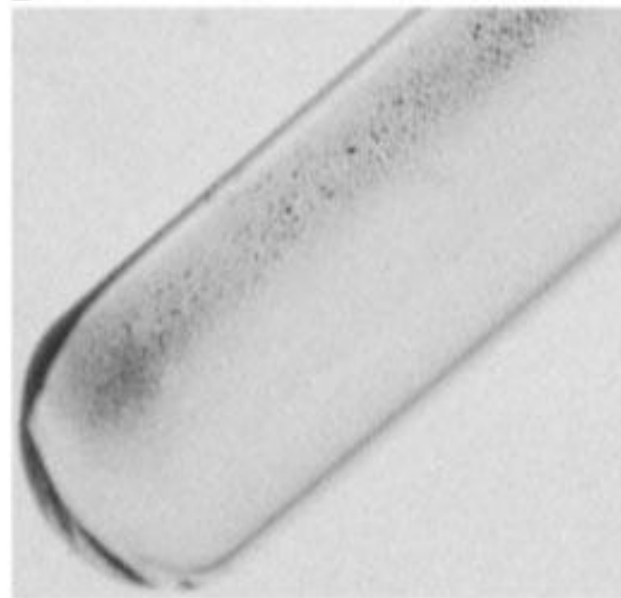
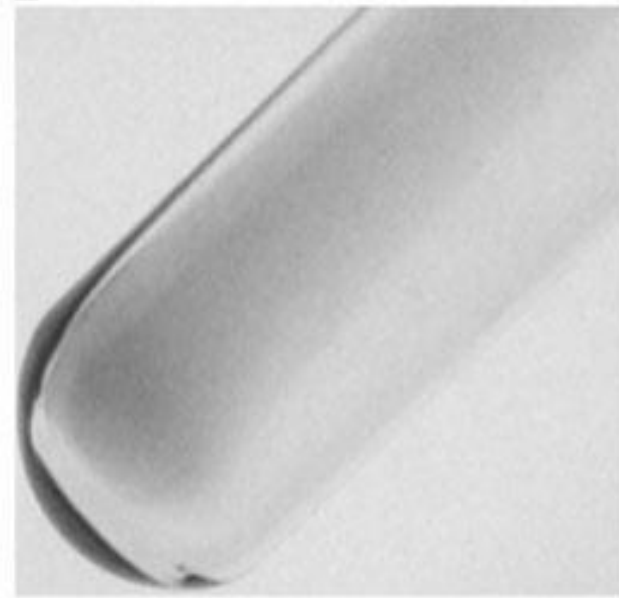
Agglutination
(positive direct
Coombs' test)

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

(Courtesy Organon Teknika, Inc.)

Εμμεση Coombs (IAT- indirect antiglobulin test)



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

(Courtesy Organon Teknika, Inc.)

Anticoagulated blood

Positive DAT



centrifugation



Gel contains
microparticles
coated with
multivalent AG-serum



Anticoagulated blood

Negative DAT



centrifugation



Gel contains
microparticles
coated with
multivalent AG-serum



Pool donor blood
incubated with patient's serum

Negative IAT



centrifugation



Gel contains
microparticles
coated with
multivalent AG-serum



Pool donor blood
Incubated with patients serum



centrifugation



Positive IAT



Gel contains
microparticles
coated with
multivalent AG-serum



WAIHA

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

WAIHA – Εργαστηριακά - κλινικά ευρήματα

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

© ASCP



WAIHA - DAT

DAT Immune Hemolysis

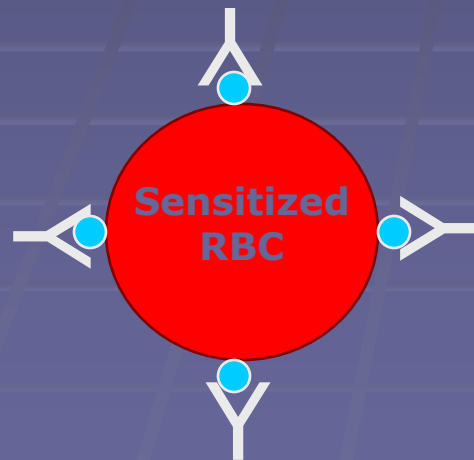
- Warm antibody AIHA
 - 67% positive IgG and C3d
 - 20% positive IgG and negative C3d
 - 13% Positive C3d and negative IgG
- Cold Agglutinin Syndrome
 - 100% positive C3d and negative IgG
- Paroxysmal Cold Hemoglobinuria
 - 100% positive C3d and negative IgG

WAIHA - IAT

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

Elution

Elution techniques “free” antibodies from the sensitized red cells so that the antibodies can be identified



Positive DAT

Elution



Frees antibody



Cell Number	D	C	E	c	e	f	M	N	S	s	Pl	Los	Leb	K	k	Fya	Fyb	Jka	Jkb	IS	37 AHG
1	0	+	0	+	-	-	+	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	
2	+	+	0	0	+	0	+	-	0	-	+	0	-	0	+	0	+	+	+	0	
3	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	0	-	+	+	+	+	+	+	0	
4	+	0	-	-	0	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	
5	0	0	+	-	+	0	0	+	+	+	0	-	0	-	0	+	+	+	+	0	
6	0	0	0	-	+	+	+	0	+	+	+	0	-	0	-	+	+	+	+	0	
7	0	0	0	-	+	+	+	+	+	+	+	0	0	-	0	+	+	+	+	0	
8	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	
9	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	
10	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	
11	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	

Miller Typing

INTERPRETATION:

Antibody ID

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

Ο ρόλος της μετάγγισης ερυθρών αιμοσφαιρίων

**Ποτέ δεν μεταγγίζουμε
εάν δεν χρειάζεται**

**Ποτέ δεν διστάζουμε να
μεταγγίσουμε εάν
χρειάζεται**

Γιατί είναι επικίνδυνη η μετάγγιση?

- Αυτοαντίσωμα?
- Αλλοαντίσωμα?
- Δοκιμασίες προσρόφησης

Ψευδώς θετική DAT

- 5% - 8% νοσηλευομένων ασθενών
- Φάρμακα, λοιμώξεις, IVIgG, υπεργασφαιριναιμία
- Eluate αρνητικό
- Χαμηλός τίτλος
- IAT αρνητική

Ψευδώς αρνητική DAT

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 37⁰C
- Επώαση σε 4⁰C για 24 ώρες
- Ορατή συγκόλληση
- Τιτλοποίηση

**Εχουν οι υγιείς ψυχρές
συγκολλητίνες?**

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	-	-	-

Αντιδράσεις κατά την μετάγγιση

- Αιμολυτικές αντιδράσεις (delayed hemolytic transfusion reaction, immediate hemolytic transfusion reaction)

Drug-Induced Immune Hemolytic Anemia

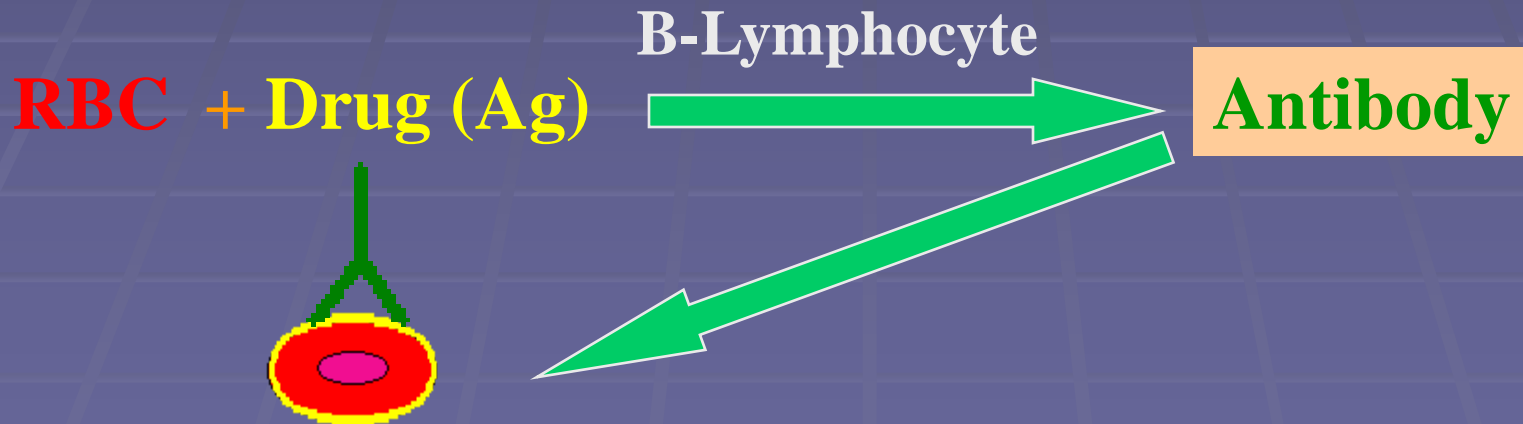
1. Drug Adsorption Mechanism

Penicillins, Cephalosporin and Streptomycins

mechanism

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

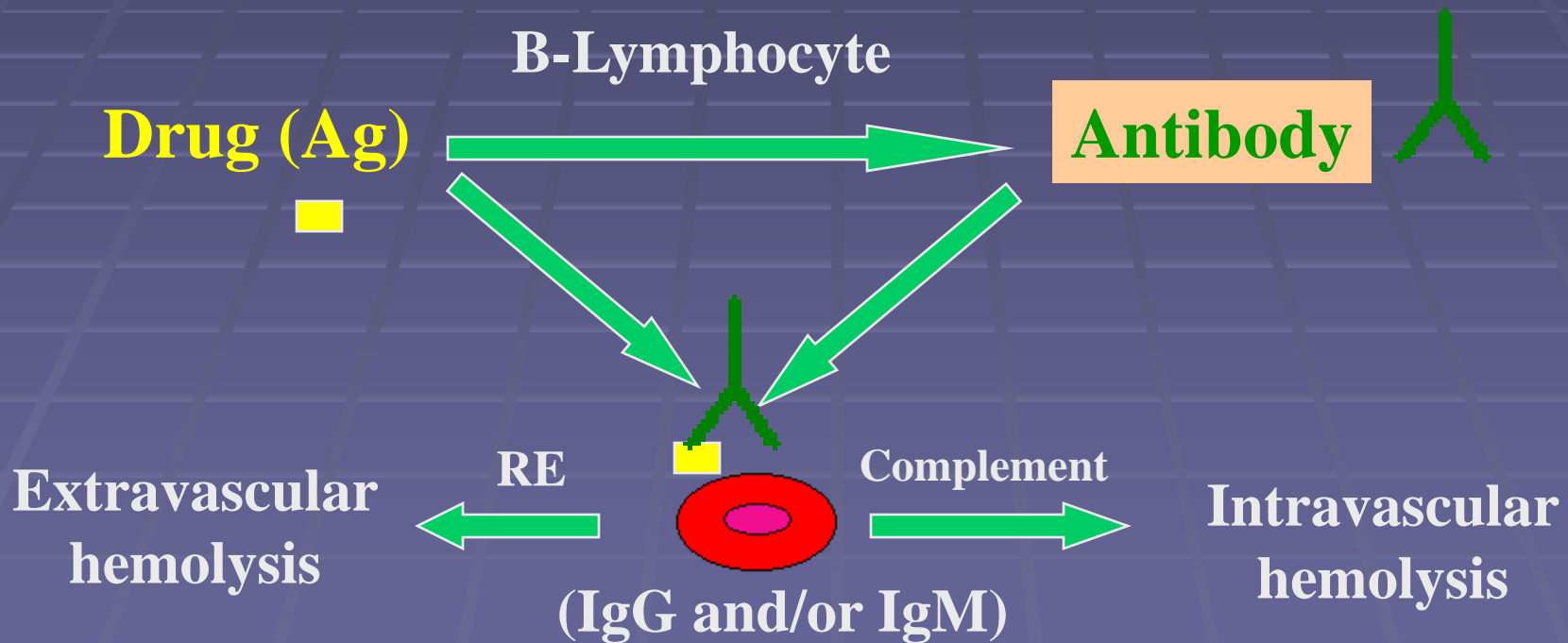
Second the drug must be able to elicit an antibody response



Drug-Induced Immune Hemolytic Anemia

2. Immune Complex Mechanism : “Innocent bystander”

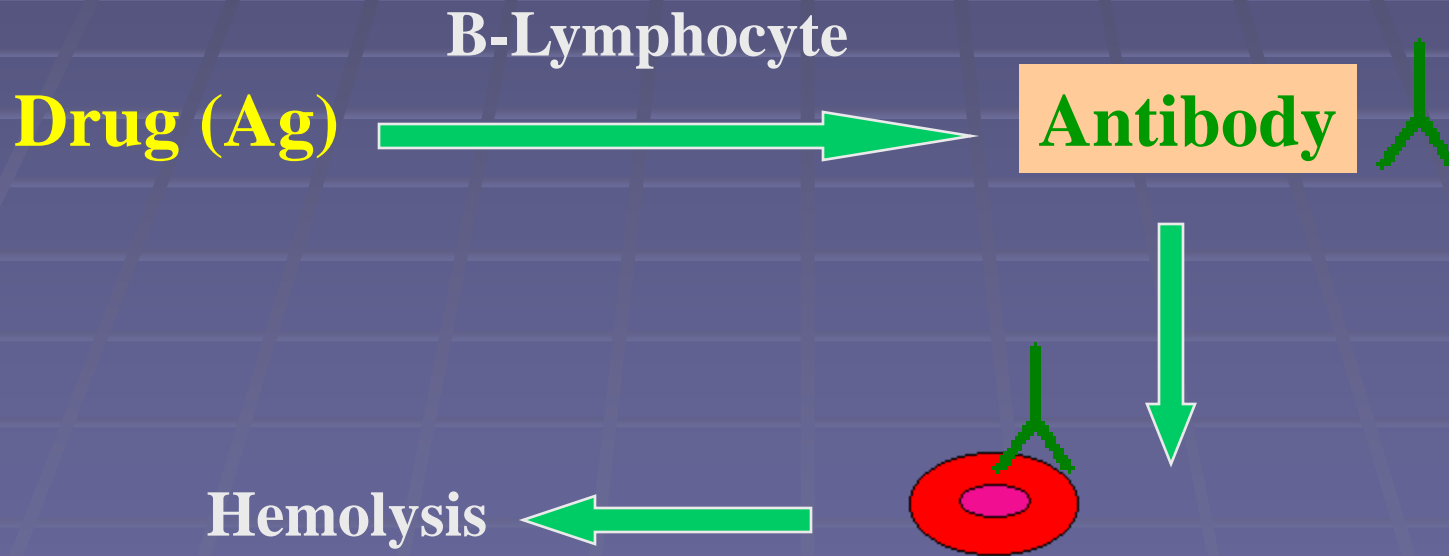
Quinidine and Phenacetin



Drug-Induced Immune Hemolytic Anemia

3. Methyldopa-Induced (Autoimmune) Mechanism

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



24 y.o. man

**upper respiratory infection
bothersome cough, fever
sick for 3 weeks
rapid onset of extreme weakness
dark urine**

P.E.

**Jaundice, pallor,
tachycardia, rales**

Laboratory

**Hct 22%, retic 18%,
bilirubin 5.0 mg/dL**

Dx?

Rx?

**61 y.o. woman rheumatic mitral stenosis
fever-blood culture + for *S. viridans*
Rx Penicillin I.V. 20 million U/day
for 1 month**

Rapid clinical improvement

Week 3 – weakness, pallor, jaundice, tachycardia

**Laboratory Hct 22%, retic 18%,
 bilirubin 5.0 mg/dL**

Dx?

Rx?

34 y.o. woman migratory arthralgias 2 years

ANA +

Rapid onset of extreme weakness

**P.E. pallor, jaundice, tachycardia,
palpable spleen**

**Laboratory Hct 22%, retic 18%,
bilirubin 5.0 mg/dL**

Dx?

Rx?