

The background of the slide is a close-up, artistic rendering of numerous red blood cells. The cells are depicted as biconcave discs with a reddish-pink hue and a textured surface, set against a dark, swirling background that suggests the flow of blood.

ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ

ΜΙΑ ΠΡΟΚΛΗΣΗ ΓΙΑ ΑΣΦΑΛΗ ΜΕΤΑΓΓΙΣΗ
ΑΙΜΑΤΟΣ

Χρυσούλα Ανδριώτη
Βιοπαθολόγος
Αιμοδοσία ΠΑΓΝΗ

ΑΥΤΟΑΝΟΣΙΑ

- Για να χαρακτηρίσουμε μία νόσο ως **αυτοάνοση** θα πρέπει η ιστική βλάβη να είναι αποτέλεσμα ενεργοποίησης της χυμικής ή και της κυτταρικής ανοσιακής απάντησης έναντι των << ίδιων αντιγόνων >> του οργανισμού
- Επομένως οι μηχανισμοί που προκαλούν την ιστική βλάβη στην αυτοανοσία είναι ουσιαστικά οι ίδιοι με εκείνους που λειτουργούν στην προστατευτική ειδική ανοσία του οργανισμού κατά των παθογόνων
- (Β και Τλεμφοκύτταρα)

ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ

Αιμολυτική αναιμία

- Η αιμόλυση είναι αποτέλεσμα μιας ανοσολογικής αντίδρασης έναντι των –ίδιων- ερυθροκυτταρικών αντιγόνων

Ως αιμολυτική ορίζεται η αναιμία που οφείλεται σε αυξημένο ρυθμό καταστροφής/μειωμένη επιβίωση των ερυθρών αιμοσφαιρίων. αυξάνεται αντισταθμιστικά η παραγωγή ερυθροποιητίνης, που αυξάνει την παραγωγή ερυθρών από το μυελό των οστών. Η απάντηση αυτή αρχικά εμφανίζεται ως αύξηση των δικτυοερυθροκυττάρων (ΔΕΚ) και ακολούθως της αιμοσφαιρίνης (Hb). Αναιμία εμφανίζεται όταν ο ρυθμός καταστροφής των ερυθρών ξεπερνά το ρυθμό παραγωγής τους από τον μυελό των οστών.

Αίτια αιμόλυσης

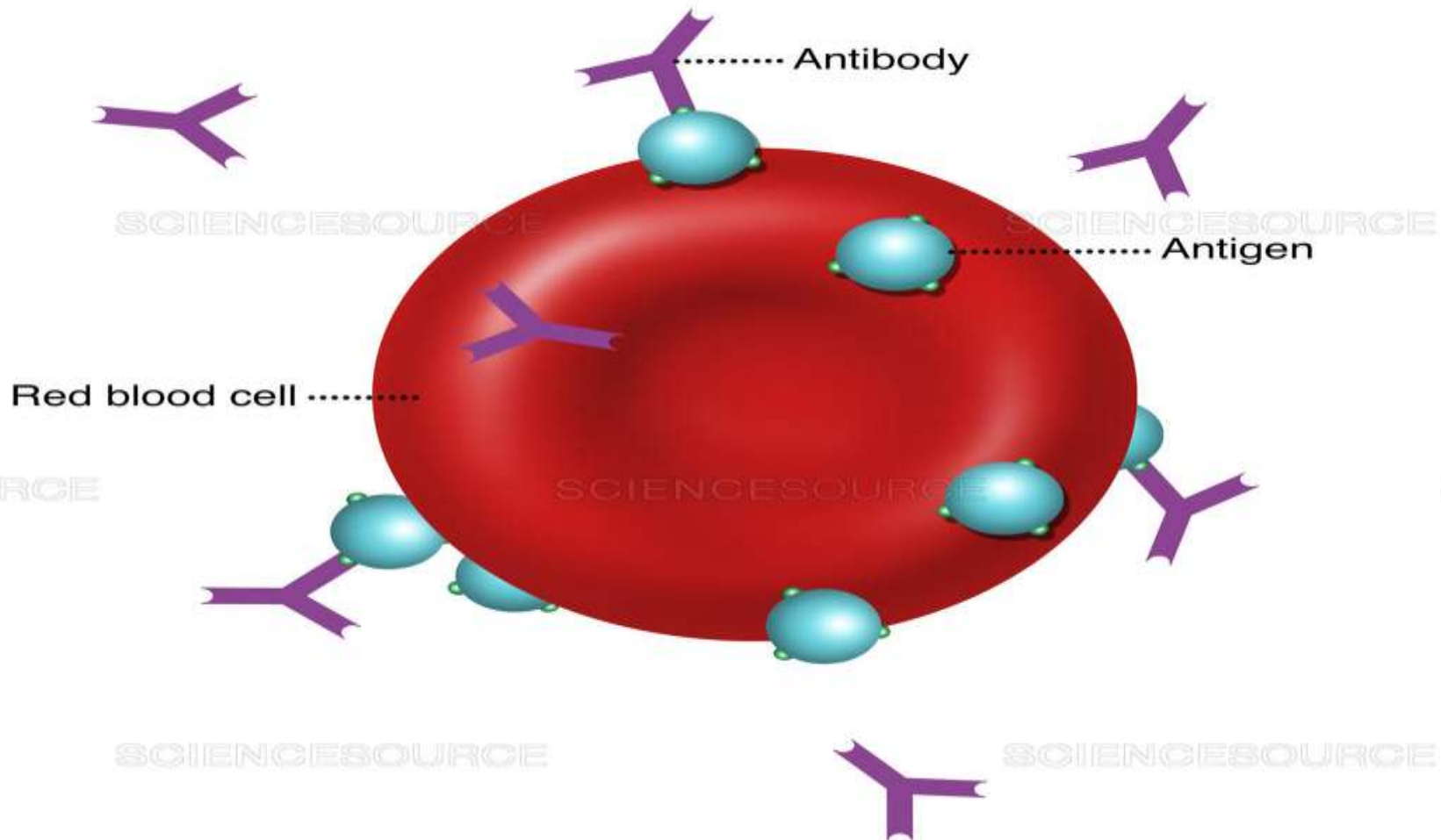
- Ενδο-ερυθροκυτταρικά

- Είναι κυρίως συγγενή

- Έξω-ερυθροκυτταρικά

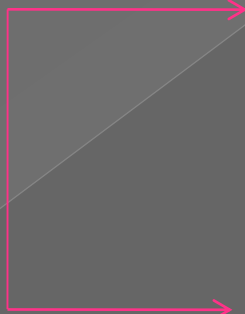
- Είναι σχεδόν πάντα επίκτητα, με κυριότερο εκπρόσωπο την **άνοση αιμολυτική αναιμία** που οφείλεται στην παραγωγή αντισωμάτων έναντι συστατικών της μεμβράνης των ερυθρών και που οδηγεί σε καταστροφή των φυσιολογικών ερυθρών

Άνοση αιμολυτική αναιμία



Άνοση αιμολυτική αναιμία

Ορίζεται η κλινική κατάσταση όπου IgG και/ή IgM αντισώματα συνδέονται με αντιγόνα της επιφάνειας των ερυθρών και προκαλούν την καταστροφή τους μέσω του συμπληρώματος και του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος (ΔΕΣ).



Άλλο-άνοσο αιμολυτική
αναιμία (παραγωγή
άλλο-αντισωμάτων)

Αυτο-άνοσο αιμολυτική
αναιμία (παραγωγή
αυτό-αντισωμάτων)

Άνοση αιμολυτική αναιμία

Η αλλοάνοση αιμολυτική αναιμία απαιτεί έκθεση σε αλλογενή ερυθρά αιμοσφαίρια, οι πηγές των οποίων είναι η εγκυμοσύνη, η μετάγγιση αίματος και η μεταμόσχευση οργάνων ή αιμοποιητικών προγονικών κυττάρων. Περιλαμβάνει την

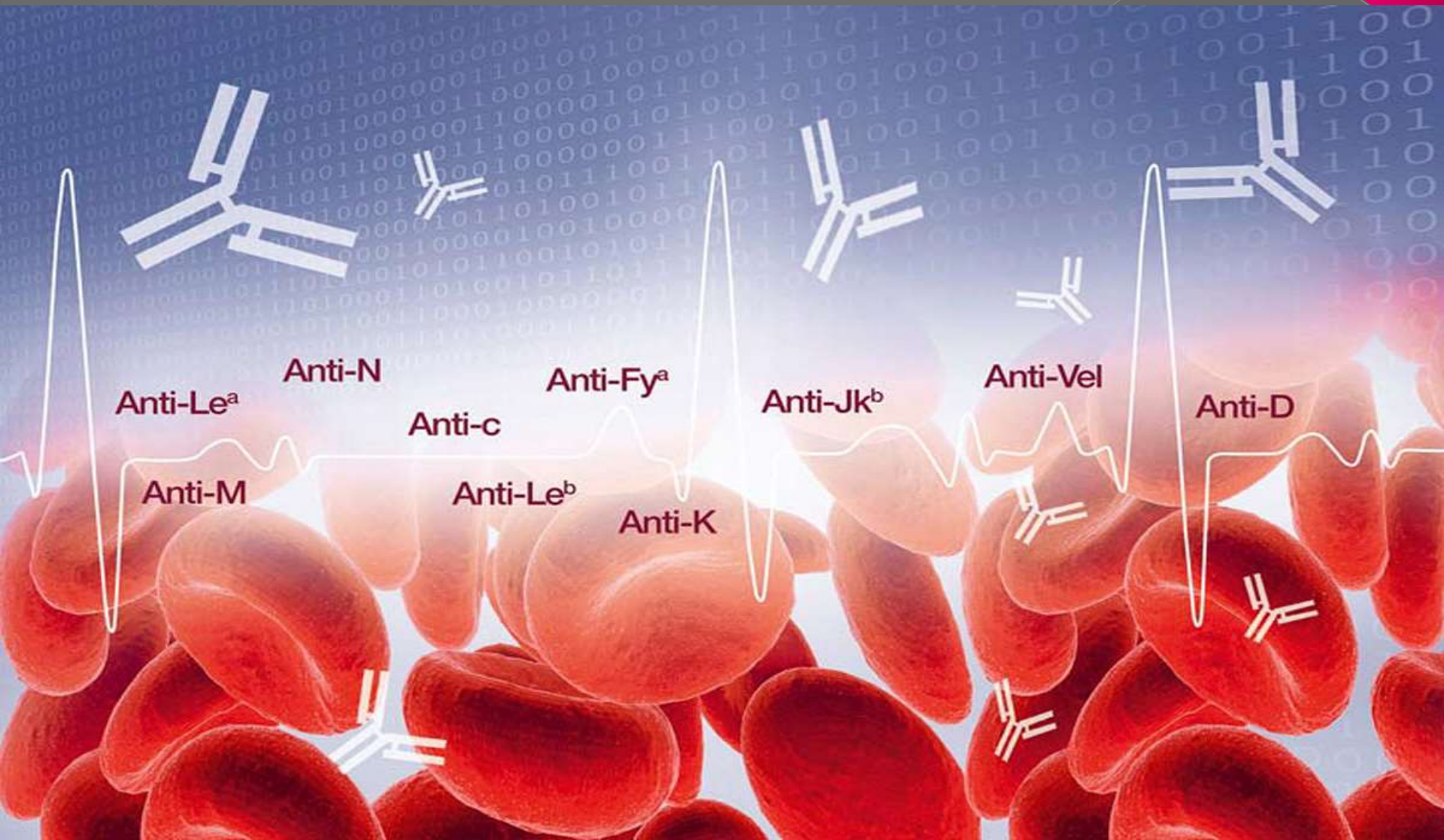
Αιμολυτική αντίδραση
μετά από μετάγγιση

Αιμολυτική νόσος του
νεογνού και του εμβρύου

Αιμολυτική αντίδραση μετά
από μεταμόσχευση

Άνοση αιμολυτική αναιμία
επαγόμενη από φάρμακα

Άνοση αιμολυτική αναιμία



Αυτό-άνοση αιμολυτική αναιμία

- Η αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία (ΑΑΑ) είναι σπάνια αλλά δυνητικά θανατηφόρος νόσος.
- Η παρουσία αυτό-αντισωμάτων (κυρίως IgG ή IgM) οδηγεί σε καταστροφή και επομένως μειωμένη επιβίωση των ερυθρών αιμοσφαιρίων και εμφάνιση αναιμίας.
- Τα αυτοαντισώματα συνήθως στρέφονται έναντι αντιγόνων με υψηλή επίπτωση, είναι δηλαδή παρόντα στα ερυθρά όλων σχεδόν των ατόμων.
- Σε περίπτωση μετάγγισης η εύρεση συμβατού δότη είναι δύσκολη έως αδύνατη.
- Θα υπάρξει αιμόλυση που θα αφορά και τα αλλογενή ερυθρά.

Η παθοφυσιολογία της αιμόλυσης στην αυτό-άνοση αιμολυτική αναιμία

- Η ανοσολογικού τύπου αιμόλυση *in vivo* ξεκινά με τον οψωνισμό των ερυθρών αιμοσφαιρίων με αυτοαντισώματα. Η επικάλυψη του κυττάρου με μόρια τα οποία επιτρέπουν την καταστροφή τους από τα φαγοκύτταρα ονομάζεται **οψωνινοποίηση**.
- Η ένωση των αυτό-αντισωμάτων με τα ενδογενή αντιγόνα δεν είναι ικανή από μόνης να προκαλέσει βλάβη του ερυθρού αιμοσφαίριου. Μπορεί όμως να προετοιμάσει την καταστροφή του



Μέσω ενεργοποίησης του συμπληρώματος (ενδο-αγγειακή αιμόλυση

Μέσω ενεργοποίησης των μακροφάγων του ήπατος και του σπλήνα (εξω-αγγειακή αιμόλυση)

Η παθοφυσιολογία της αιμόλυσης στην αυτό-άνοση αιμολυτική αναιμία

- Τα μακροφάγα του ήπατος και του σπλήνα φέρουν Fc υποδοχείς ειδικούς για το Fc τμήμα του αυτό-αντισώματος που καλύπτει το κύτταρο στόχο
- Τα αντισώματα IgG ενεργοποιούν ασθενέστερα την κλασσική οδό του συμπληρώματος αλλά αναγνωρίζονται εύκολα από τους Fc υποδοχείς των φαγοκυττάρων
- Με τα IgG3 αντισώματα να έχουν υψηλότερη συγγένεια για υποδοχείς φαγοκυττάρων, σε σχέση με τις IgG1 και IgG2, ενώ η IgG4 είναι ακόμη λιγότερο αποδοτική
- Υπάρχει ένας βέλτιστος αριθμός μορίων IgG / ερυθρό αιμοσφαίριο που απαιτείται για τη διέγερση της φαγοκυττάρωσης. Ο Duffy το 2002 παρατήρησε ότι περίπου 2000 μόρια IgG1 + IgG2 ή IgG4 / ερυθρού αιμοσφαίριο και 230 μόρια IgG3 / ερυθρό αιμοσφαίριο απαιτούνται για την διέγερση της φαγοκυττάρωσης
- Όσο περισσότερα μόρια IgG /ερυθρό αιμοσφαίριο, τόσο εντονότερη είναι η ενεργοποίηση του συμπληρώματος και επομένως τόσο μεγαλύτερη είναι η καταστροφή των ερυθρών αιμοσφαιρίων.

Η παθοφυσιολογία της αιμόλυσης στην αυτό-άνοση αιμολυτική αναιμία

- **Το συμπλήρωμα** είναι ένα σύνολο πρωτεινών του πλάσματος που αλληλεπιδρά με τα δεσμευμένα αντισώματα στα κύτταρα στόχους, αυξάνοντας έτσι την οψωνινοποίηση των κυττάρων προκειμένου να φαγοκυτταρωθούν από φαγοκύτταρα που φέρουν υποδοχείς του συμπληρώματος. Η οψωνινοποίηση επιτελείται κυρίως από το C3b, που παράγεται κατά την ενεργοποίηση της κλασσικής οδού συμπληρώματος

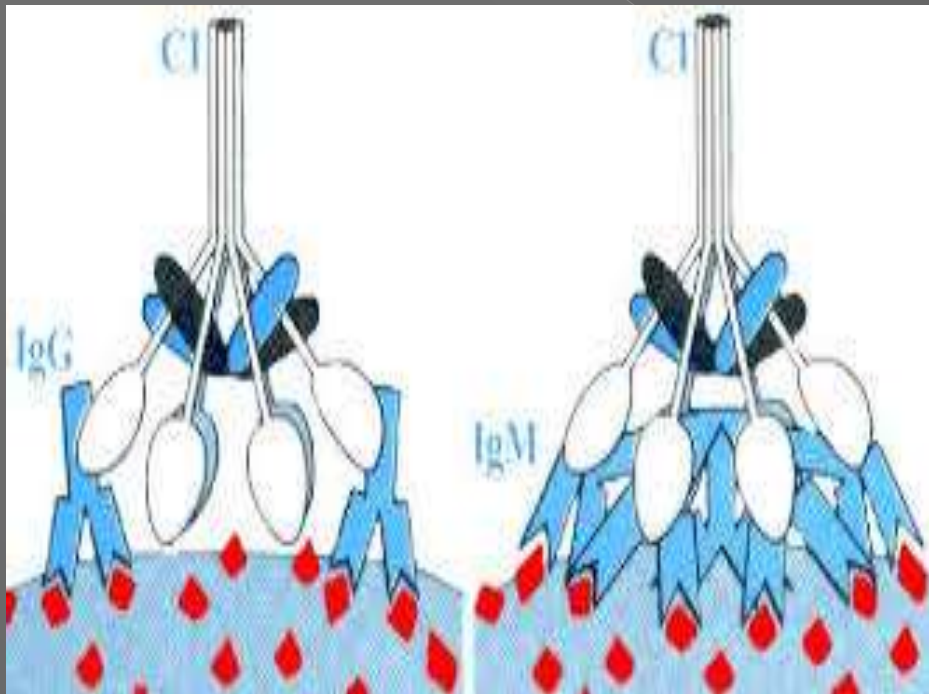
Η κλασσική οδός ενεργοποίησης του συμπληρώματος

- Ag*Ab --> C1qrs σύμπλεγμα (παρουσία ιόντων Ca^{++})
- C1s ενεργοποιεί C4b*C2α σύμπλεγμα= **C3 κονβερτάση**
- C4b*C2α (C3 κονβερτάση) διασπά το C3 σε C3a και C3b
- C3b είναι ευαίσθητο μόριο (χρόνος ζωής 60μs)
- Μπορεί να διανύσει μόνον 40nm πριν διασπασθεί
- Άρα η σύνδεσή του είναι τοπική κοντά στο σημείο ενεργοποίησης
- Καθηλωμένο στην μεμβράνη δρά σαν οψωνίνη προσελκύοντας τα φαγοκύτταρα που διαθέτουν υποδοχείς για το C3b
- Αν το C3b δεν προσδεθεί αμέσως στην ερυθροκυτταρική μεμβράνη ή στο σύμπλεγμα C4b2α , θα αποδομηθεί γρήγορα σε iC3b (i = inactivated).

Επίσης το συνδεδεμένο στην ερυθροκυτταρική μεμβράνη C3b υφίσταται ταχεία μετατροπή σε iC3b και περαιτέρω αποδόμηση σε C3dg μια σταθερή δομή παραμένουσα πάνω στο ερυθρό

- Τα μακροφάγα έχουν υποδοχέα για C3b και iC3b, όχι για C3dg
- Άρα ερυθρά επενδεδυμένα με C3dg δεν απομακρύνονται από την κυκλοφορία και επιβιώνουν φυσιολογικά
- Θετική DAT όπου έχει χρησιμοποιηθεί anti-C3d
AHG θα ανιχνεύσει ερυθροκύτταρα επενδεδυμένα με C3dg
ένδειξη ότι η ενεργοποίηση του συμπληρώματος έχει πραγματοποιηθεί in vivo δηλ στην κυκλοφορία του ασθενούς

Το συμπλήρωμα στην αυτό-άνοση αιμολυτική αναιμία



- Τα αντισώματα IgM συνδέουν καλύτερα το συμπλήρωμα, στην επιφάνεια των ερυθρών αιμοσφαιρίων, σε σχέση με τα αντισώματα IgG γιατί το συμπλήρωμα χρειάζεται δύο Fc τμήματα σε κοντινή απόσταση για να συνδεθεί πάνω στην ερυθροκυτταρική μεμβράνη (η IgM έχει 5 Fc τμήματα ενώ η IgG έχει μόνον 1). Επομένως απαιτούνται 2 μόρια IgG και 1 μόνο μόριο IgM, να έρθουν κοντά πάνω στο ερυθροκύτταρο προκειμένου να ενεργοποιηθεί η κλασσική οδός του συμπλήρωματος.

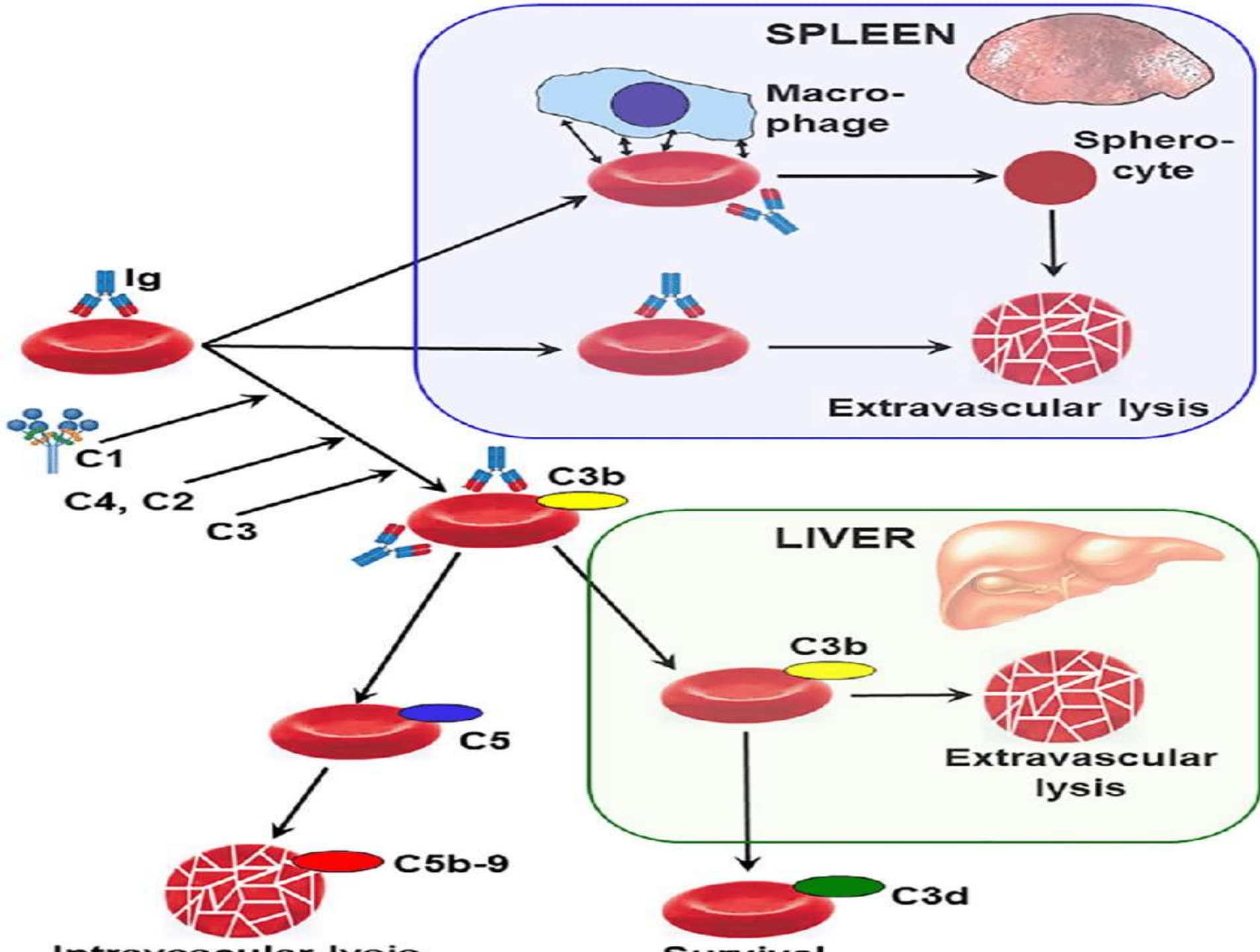
Ένδο-αγγειακή VS έξω-αγγειακής αιμόλυσης

● Ενδοαγγειακή αιμόλυση

- IgM ψυχρό αντίσωμα που δρα $<37^{\circ}\text{C}$ και $<30^{\circ}\text{C}$
- Ενεργοποίηση όλου του καταρράκτη του συμπληρώματος, με αποτέλεσμα έντονη αιμόλυση
- Ενδοαγγειακή αιμόλυση προκαλούν τα ψυχρά IgM αντι-A και αντι-B λόγω ABO ασυμβατότητας,

● Εξωαγγειακή αιμόλυση

- IgG ατελή θερμά αντισώματα που δρουν στους 37°C
- Λαμβάνει χώρα στα μακροφάγα του σπλήνα ή στο ήπαρ παρουσία του C3b
- Anti-Kell, anti-Fya, anti-Jka
- Εξωαγγειακή αιμόλυση χωρίς σύνδεση του συμπληρώματος προκαλούν τα IgG anti-Rhesus (αιμολυτική νόσος του νεογνού)



Η παθοφυσιολογία της αιμόλυσης στην αυτό-άνοση αιμολυτική αναιμία

Ερυθρά αιμοσφαίρια
ευαισθητοποιημένα
με αντίσωμα
 $\text{IgG}_1, \text{IgG}_3$ (ατελή θερμά
αντισώματα 37°C)

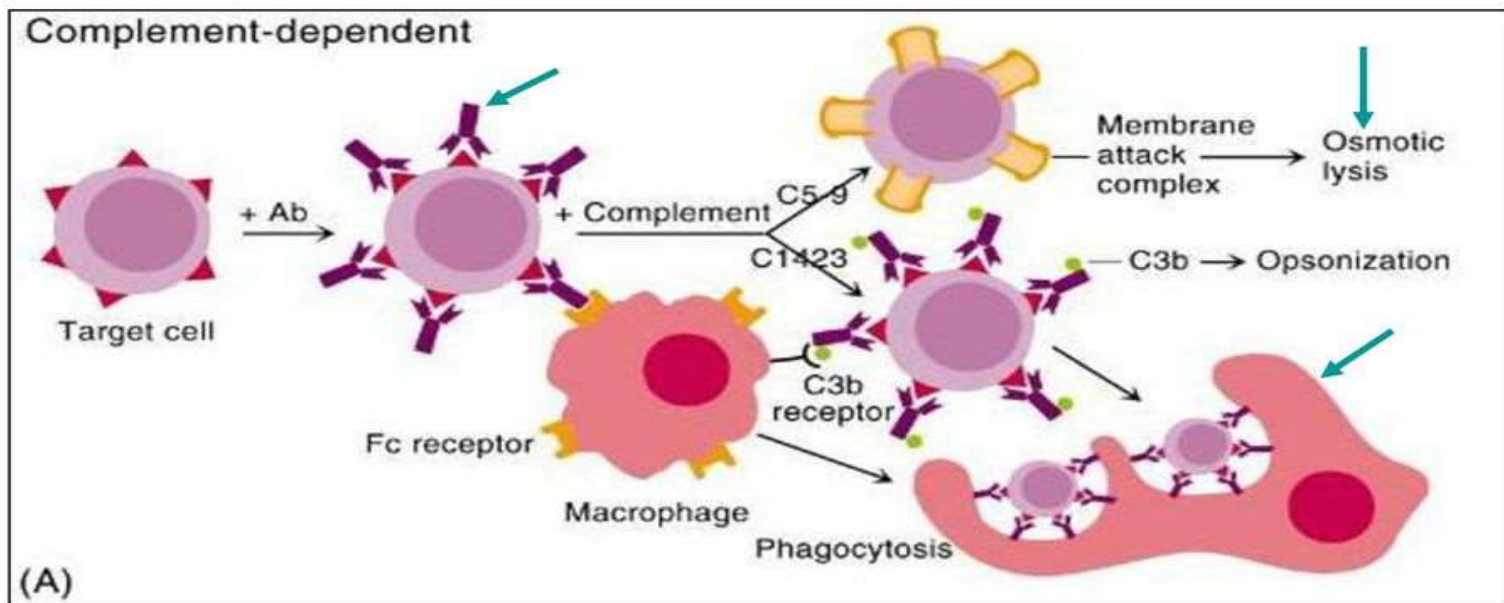
- Αναγνωρίζονται εύκολα από τους υποδοχείς Fc των μακροφάγων
- Ενεργοποιούν ασθενέστερα το συμπλήρωμα
- Προκαλούν έξω-αγγειακή αιμόλυση κυρίως από τα μακροφάγα του σπλήνα, ή του ήπατος παρουσία του C3b

Ερυθρά αιμοσφαίρια
ευαισθητοποιημένα
με αντίσωμα IgM
(ψυχρά αντισώματα
 $<37^\circ \text{C}$, $<30^\circ \text{C}$)

- Ενεργοποιούν έντονα το συμπλήρωμα
- Προκαλούν ένδο-αγγειακή αιμόλυση
- Είτε έξω-αγγειακή αιμόλυση από τα μακροφάγα του ήπατος

Το συμπλήρωμα στην Αυτό-άνοση αιμολυτική αναιμία

Type II reactions



Κατάταξη Αυτό-άνοσης Αιμολυτικής Αναιμίας

ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ ΑΠΟ ΘΕΡΜΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

•ΙΔΙΟΠΑΘΗΣ

•ΔΕΥΤΕΡΟΠΑΘΗΣ

- Λεμφουπερπλαστικά νοσήματα (Β-ΧΛΛ, μη-Hodgkin λεμφώματα, λέμφωμα Hodgkin)
- Αυτοάνοσα νοσήματα (ΣΕΛ, ΡΑ, σκληρόδερμα, δερματομυοσίτις, ελκώδης κολίτις)
- Συμπαγή νεοπλασμάτα
- Ανοσοανεπάρκειες
- Ιογενείς λοιμώξεις
- Φάρμακα

ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ ΑΠΟ ΨΥΧΡΑ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

ΙΔΙΟΠΑΘΗΣ (Πρωτοπαθής νόσος εκ ψυχροσυγκολλητινών)

ΔΕΥΤΕΡΟΠΑΘΗΣ

- Λεμφουπερπλαστικά νοσήματα (Ν. Waldestrom, μηHodgkin λεμφώματα)
- Λοιμώξεις (Μυκόπλασμα, EBV κ.λπ.)

ΠΑΡΟΞΥΣΜΙΚΗ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΟΥΡΙΑ ΕΚ ΨΥΧΟΥΣ

ΙΔΙΟΠΑΘΗΣ

ΔΕΥΤΕΡΟΠΑΘΗΣ

- Ιογενείς λοιμώξεις
- Σύφιλη

ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ ΜΕΙΚΤΟΥ ΤΥΠΟΥ

ΔΕΥΤΕΡΟΠΑΘΗΣ

- Αυτοάνοσα νοσήματα (ΣΕΛ)

Θερμού τύπου Αυτό-άνοση αιμολυτική αναιμία

- ⊙ ➡ Αποτελεί το 70-80% των περιπτώσεων AAA
- ⊙ ➡ Από αυτό το 30% είναι ιδιοπαθείς
- ⊙ ➡ ενώ το 70% είναι δευτεροπαθείς (αναπτύσσεται σε έδαφος υποκείμενου νοσήματος)

Διαγνωστική προσέγγιση ασθενών ύποπτων για AAA

ΥΠΑΡΧΕΙ ΑΙΜΟΛΥΣΗ:

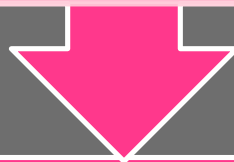
Κλινική εικόνα
(ωχρότητα, ταχύπνοια, ταχυκαρδία, ίκτερος)

Εργαστηριακά ευρήματα ($< Ht$, $< Hb$,
 $> LDH$, $> IBIL$, $< \text{απποσφαιρίνες}$, $> \Delta EK$,
σφαιροκυττάρωση, πολυχρωματοφιλία)



ΑΝΟΣΗ ΑΙΜΟΛΥΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ

Συμβατά ανοσοαιματολογικά ευρήματα :
Άμεση Coombs : Θετική

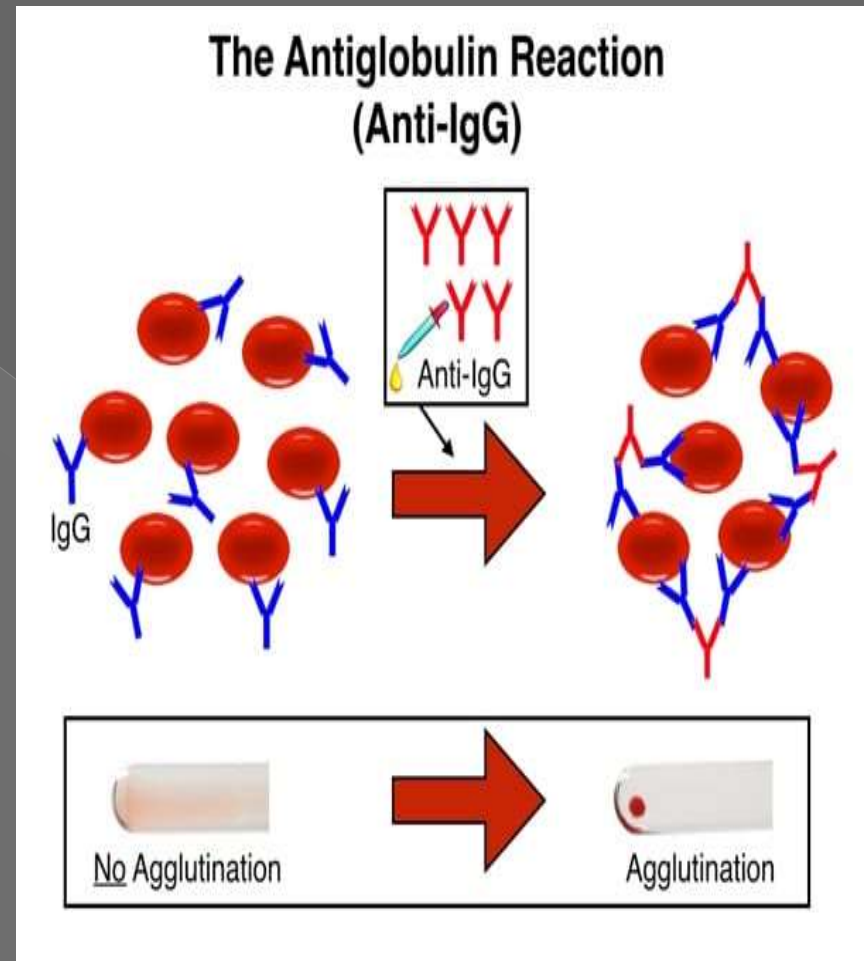


ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΑΥΤΟ-ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΟΣ ή ΚΑΙ ΆΛΛΟ-ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΩΝ

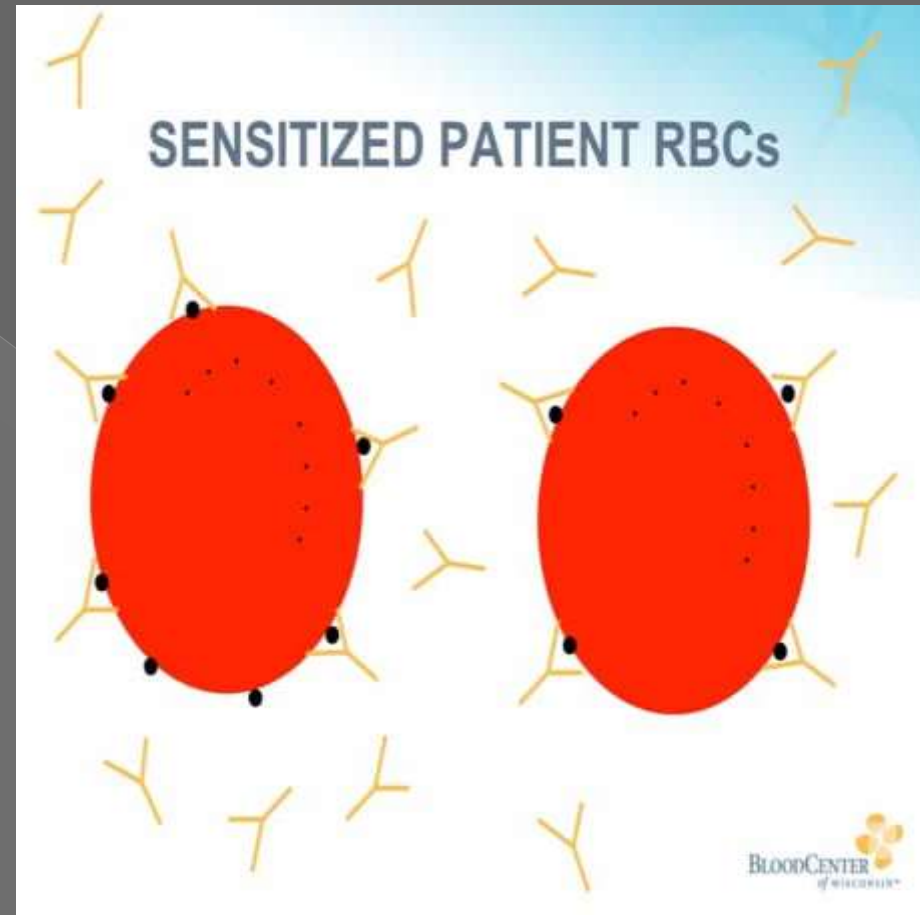
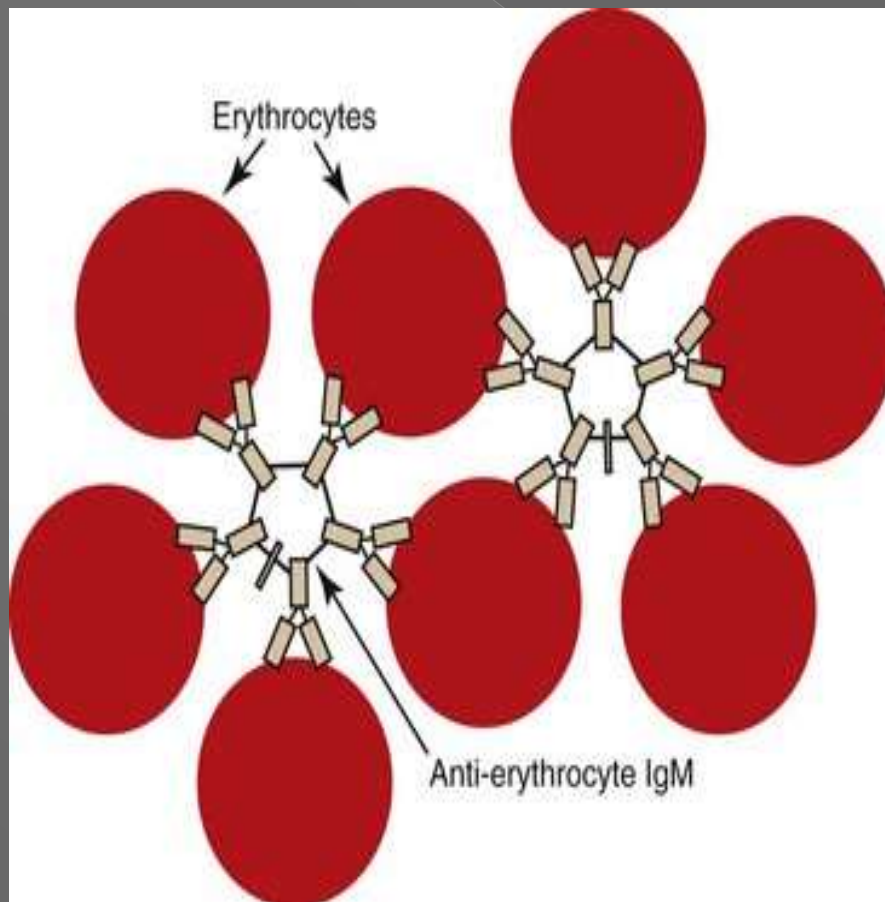
Ανοσοαιματολογικά ευρήματα
(ταυτοποίηση DAT, φαινότυπος ερυθρών, έμμεση Coombs, πάνελ
αντισωμάτων , έκλουση, προσρόφηση)

Άμεση δοκιμασία αντισφαιρινικού ορού ή Άμεση αντίδραση Coombs

- Η δοκιμασία περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1945 από τον Coombs και τους συν.
- Αντισώματα έναντι ανθρώπινων σφαιρινών (AHG) –αντι-σφαιρινικός ορός -ανιχνεύουν ατελή IgG στην επιφάνεια των ερυθρών αιμοσφαιρίων ή στον ορό
- Fab τμήμα της αντισφαιρίνης – Fc τμήμα του αντισώματος ή με συστατικά του συμπληρώματος
- Πολυδύναμος αντι-σφαιρινικός ορός (αντι-IgG και αντι-C3d)
- Μονοδύναμος AHG περιέχει μόνο αντι-IgG, αντι-C3d,, αντι-IgM αντι-IgA



Δοκιμασία αντισφαιρινικού ορού ή Αντίδραση Coombs



Άμεση αντίδραση Coombs

- Γεφυρώνει το κενό ανάμεσα σε γειτονικά ερυθρά αιμοσφαίρια ώστε να γίνει ορατή η συγκόλληση.
- Θετικό αποτέλεσμα σημαίνει ευαισθητοποίηση, in vivo, των ερυθρών με IgG ή C3d ή και τα δύο
- Εκτελείται αμέσως μετά τη συλλογή του αίματος που λαμβάνεται με αντιπηκτικό EDTA
- Η άμεση Coombs πρέπει να διενεργείται σε κάθε ασθενή με αιμόλυση, έτσι ώστε να μπορεί να διακριθεί η άνοση από την μη άνοση αιμολυτική αναιμία.

Άμεση αντίδραση Coombs- τεχνικές ανίχνευσης

- **Τεχνική μικροσωλημαρίων γέλης/μικροσφαιριδίων**
- Τα ερυθρά του ασθενούς εναιωρούνται σε διάλυμα Liss (diluent 2 αποτελεί ένα τροποποιημένο διάλυμα LISS για τα εναιωρήματα ερυθροκυττάρων) και τοποθετούνται σε ειδικά βυθίσματα σε κάρτες οι οποίες περιέχουν μικροσωληνάρια γέλης/μικροσφαιριδίων με ενσωματωμένο τον πολυδύναμο AGH.
- Ακολουθεί φυγοκέντρηση. Η γέλη ή τα μικροσφαιρίδια λειτουργούν ως παγίδα για τις συγκολλήσεις των ερυθρών και ανάλογα με το μέγεθος τους αυτές κατανέμονται και διαχέονται κατά μήκος των μικροσωληναρίων δίνοντας θετικό ή αρνητικό αποτέλεσμα με βαθμονόμηση 1+ έως 4+.



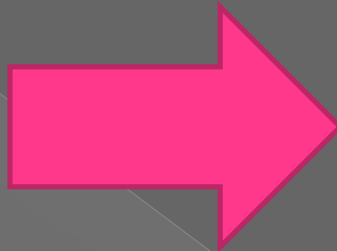
Ειδικότητα και ευαισθησία της Άμεσης Coombs

- Όταν η άμεση Coombs γίνει με ακρίβεια, είναι θετική στους ασθενείς με AAA σε ποσοστό 97-99% έναντι <1% στο γενικό πληθυσμό. Σε υγείς αιμοδότες η άμεση Coombs είναι θετική σε συχνότητα που κυμαίνεται από 1/1000 έως 1/36.000. Μια θετική Coombs μπορεί να προηγείται της διάγνωσης μιας κακοήθειας, ιδίως λεμφουπερπλαστικού νοσήματος, για μήνες ή έτη.
- Θετική Coombs από μόνη της δεν είναι διαγνωστική αυτό-άνοσης αιμολυτικής αναιμίας.
- Η DAT μπορεί να ανιχνεύσει 100-500 μόρια IgG /RBC και 400-1100 μόρια C3d/RBC

Θετική άμεση Coombs και αυτό-άνοση αιμολυτική αναιμία



97-99% των ασθενών
με αυτό-άνοση
αιμολυτική αναιμία



Θετική άμεση
Coombs

Θετική Coombs από μόνη της δεν είναι διαγνωστική αυτό-άνοσης αιμολυτικής αναιμίας. Είναι θετική στην επιβραδυνόμενη αιμολυτική αντίδραση, αιμολυτική αντίδραση του νεογνού ή του εμβρύου και στην χορήγηση ενδοφλέβιας Ig.

Αξιολόγηση θετικής άμεσης Coombs



Περιπτώσεις με Θετική άμεση Coombs

1. **Αυτό-άνοση αιμολυτική αναιμία** λόγω θερμού ή ψυχρού αυτό-αντισώματος ή συνδυασμού αυτών
2. **Επιβραδυνόμενη αιμολυτική αντίδραση**, μετά από μετάγγιση, όπου τα ερυθρά του δότη φέρουν αντιγόνο για το οποίο υπάρχει άλλο-αντίσωμα στον ορό του δέκτη. Επίσης μπορεί να παρατηρηθεί και εικόνα διπλού πληθυσμού
3. **Αιμολυτική νόσο του νεογνού**, όπου το μητρικό αντίσωμα είναι συνδεδεμένο με τα ερυθρά του νεογνού
4. **Χορήγηση IV ανοσοσφαιρίνης**
5. **Χορήγηση ορισμένων φαρμάκων** (α -methyl DOPA, κινιδίνη κ.α.)

DAT +

```
graph TD; A["DAT +"] --> B["Εικόνα αιμόλυσης"]; A --> C["Δεν υπάρχει εικόνα αιμόλυσης"]; B --> D["Ορολογικός έλεγχος ταυτοποίησης αυτό-αντισώματος"]; B --> E["Ορολογικός έλεγχος ταυτοποίησης άλλο-αντισωμάτων"]; C --> F["Δεν προχωρούμε τον έλεγχο εκτός αν υπάρχει ανάγκη μετάγγισης και ο προ-μεταγγισιακός έλεγχος δίνει ασυμβατότητα"];
```

Εικόνα αιμόλυσης

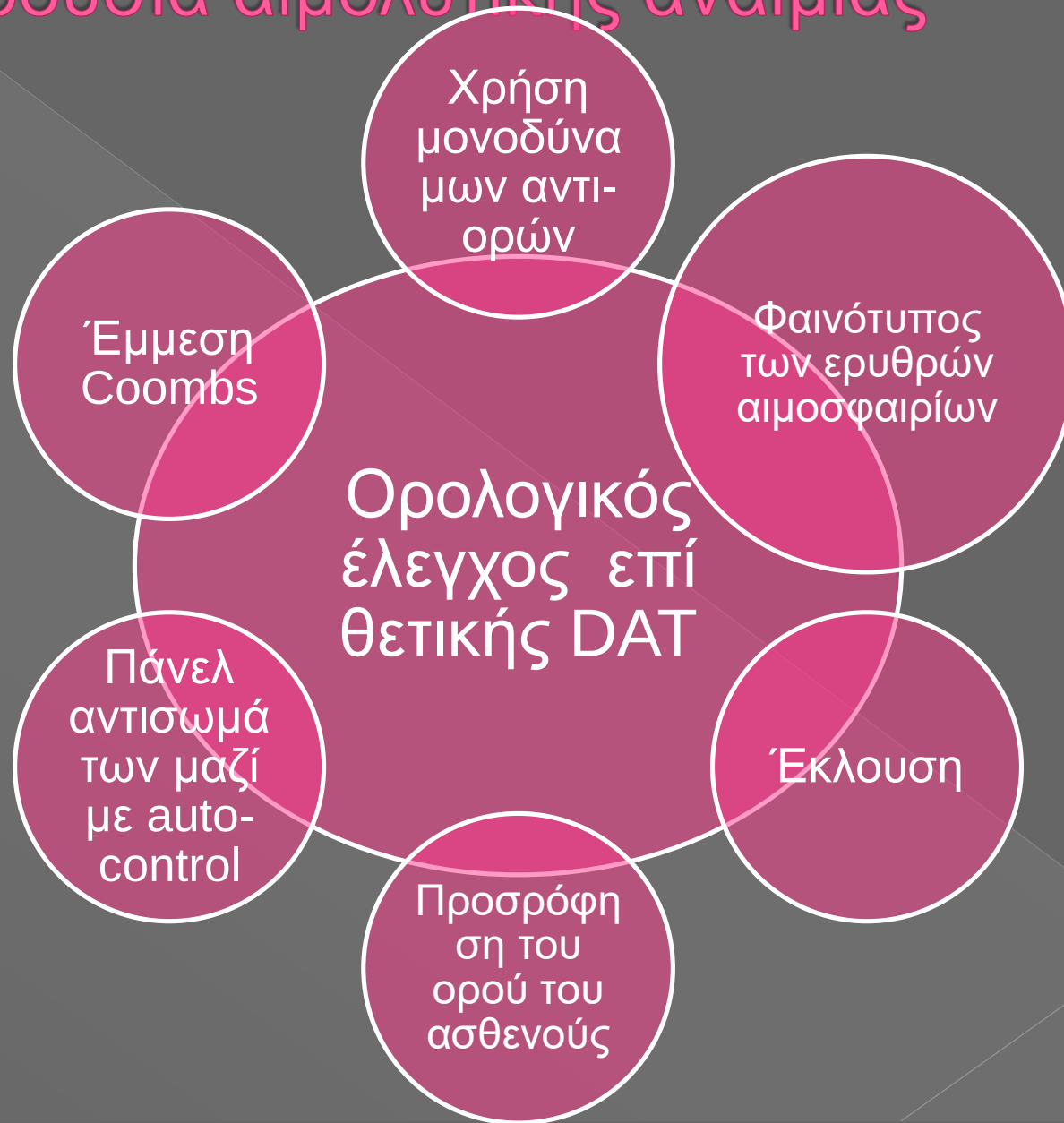
Δεν υπάρχει
εικόνα αιμόλυσης

Ορολογικός έλεγχος
ταυτοποίησης αυτό-
αντισώματος

Ορολογικός έλεγχος
ταυτοποίησης άλλο-
αντισωμάτων

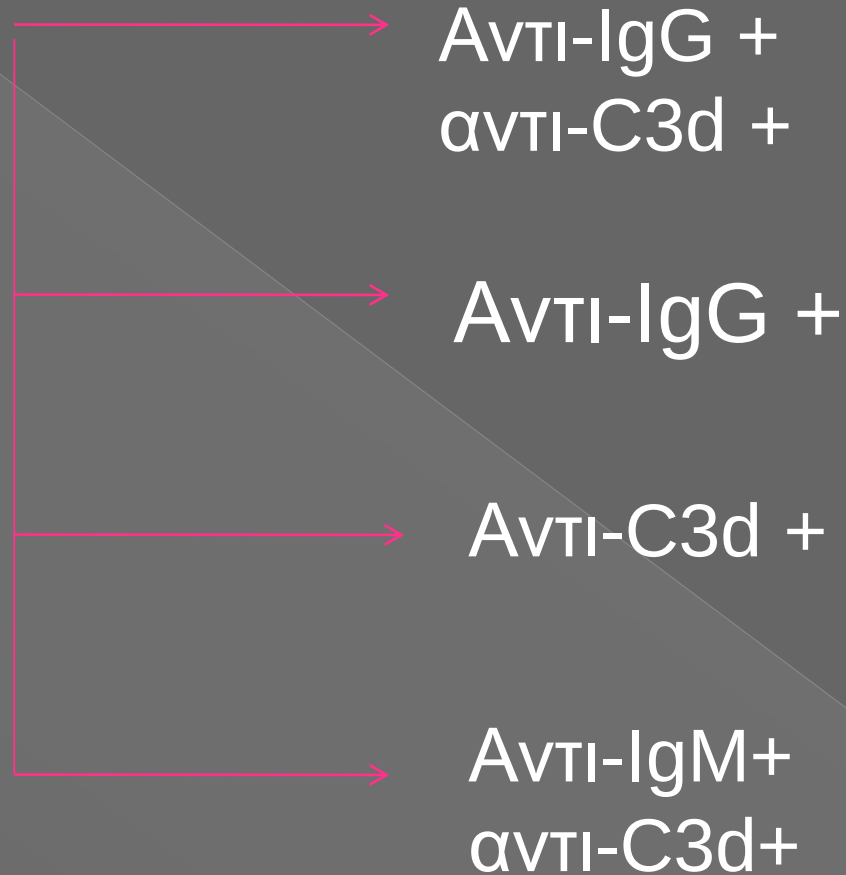
Δεν προχωρούμε
τον έλεγχο εκτός αν
υπάρχει ανάγκη
μετάγγισης και ο
προ-μεταγγισιακός
έλεγχος δίνει
ασυμβατότητα

Αξιολόγηση θετικής άμεσης Coombs παρουσία αιμολυτικής αναιμίας



1. Ταυτοποίηση αντισώματος στην DAT Επίλυση περιπτώσεων AAA

DAT +



Positive polyspecific DAT

Separate DATs for C3 and IgG

C3+ IgG-

0-1+

2-4+

Acute or delayed hemolytic transfusion reaction.

- Drug-induced immune hemolytic anemia.
- Paroxysmal cold hemoglobinuria.
- Cold agglutinin disease.

Main diagnoses:

C3- IgG+

0-1+

2-4+

- ABO hemolytic disease of the fetus/newborn
- Acute or delayed hemolytic transfusion reaction.
- Passively acquired antibody.

- Rh hemolytic disease of the fetus/newborn.
- Other hemolytic disease of the fetus/newborn.
- Drug-induced immune hemolytic anemia.
- Warm autoimmune hemolytic anemia.

C3+ IgG+

0-1+

2-4+

Acute or delayed hemolytic transfusion reaction.

- Drug-induced immune hemolytic anemia.
- Warm autoimmune hemolytic anemia.

Ορολογικά ευρήματα ΑΑΑ θερμού τύπου

1. DAT + με αντι-IgG+ και αντι-C3d +
2. Έμμεση Coombs + λόγω περίσσειας του αυτό-αντισώματος στον ορό
3. Panel αντισωμάτων + σε όλες τις θέσεις του panel



Παν-αντίσωμα

4. Auto-control +
- Αυτό-αντίσωμα
ή
Αυτο-αντίσωμα με άλλο-αντίσωμα



ΚΑΙ ΤΩΡΑ ΤΙ ΚΑΝΟΥΜΕ;

Διενέργεια έκλουσης και panel στο έκλουμα

- Η **έκλουση** είναι μία τεχνική που μας επιτρέπει να απομακρύνουμε τα προσκολλημένα στα ερυθρά αντισώματα έτσι ώστε να μπορέσουμε να τα απομονώσουμε και να τα **ταυτοποιήσουμε με πάνελ**
- Τυπικά η έκλουση ελέγχει την παρουσία **IgG αντισωμάτων**.
-
- Εφαρμόζεται για την επεξεργασία και ταυτοποίηση **θερμών αυτοαντισωμάτων**.

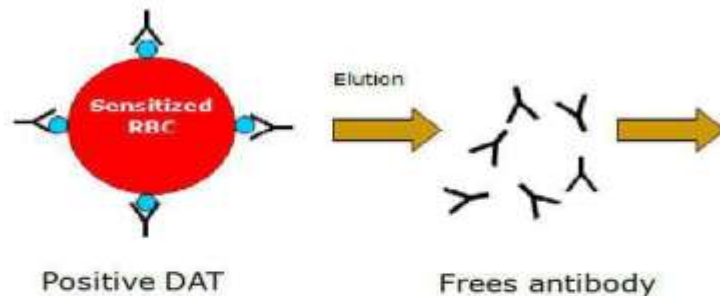
Έκλουση

- Χρησιμοποιείται για την διερεύνηση άνοσων αιμολυτικών αντιδράσεων, αν ο ορολογικός έλεγχος είναι ασαφής σε ασθενή που έχει μεταγγιστεί πρόσφατα, αν υπάρχει υποψία για αιμολυτική αναιμία εμβρύου και νεογνού
- Αν η αιμολυτική αντίδραση οφείλεται σε ασυμβατότητα ABO εφαρμόζεται **θερμή έκλουση**
- Αν η αιμολυτική αντίδραση οφείλεται σε αυτό- ή άλλο-αντίσωμα χρησιμοποιείται ένας διαλύτης όπως η όξινη γλυκίνη για να αποδεσμεύσει τα αντισώματα από την επιφάνεια των ερυθρών (**όξινη έκλουση**)
- Αν τα ερυθρά επικαλύπτονται με συμπλήρωμα το έκλουμα είναι αρνητικό
- Αν η DAT είναι αρνητική και υπάρχει εικόνα αιμόλυσης , η έκλουση πρέπει να γίνεται καθώς η DAT μπορεί να είναι ψευδώς αρνητική

Elution test

Elution (whenever DAT is positive)

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



Cell Number	D	C	E	c	e	f	M	N	S	s	P1	Lea	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	+	+	+	+	+	0	+			
4	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+			
5	0	0	+	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+			
6	0	0	0	+	+	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	0	+	+			
7	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+			
8	0	0	0	+	+	+	+	+	0	+	+	0	0	+	+	0	0	+	0			
9	0	0	0	+	+	+	+	0	+	0	0	+	0	0	+	0	+	+	+			
10	0	0	0	+	+	+	+	0	0	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0			
11	0	0	0	+	+	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+			
Patient Typing																						
INTERPRETATION:																						

Antibody ID

Έκλουμα με θετικό panel αντισωμάτων

- Αν το panel από το έκλουμα είναι θετικό τότε

Επιβραδυνόμενη αιμολυτική
αντίδραση



Ταυτοποίηση
άλλο-αντισώματος

Αυτό-άνοση αιμολυτική
αναιμία θερμού τύπου

**Αν το έκλουμα είναι αρνητικό
τότε πρόκειται για ψυχρό
αυτό-αντισώμα ή αντίσωμα
έναντι φαρμάκου**

Διενέργεια έκλουσης στην αυτό-άνοση αιμολυτική αναιμία

- Έκλουμα θετικό σε όλα τα κύτταρα του panel
 παν-αντίσωμα (90%)
- Έκλουμα θετικό σε κάποια κύτταρα του panel
 αυτό-αντίσωμα με ειδικότητα (<10%)

Συνήθως μιμείται κάποιο αντίσωμα του Rhesus (DCcEe
το auto anti- e το πιο σύνηθες σε ποσοστό 2%)
anti-Kell

Διενέργεια έκλουσης στην αυτό-άνοση αιμολυτική αναιμία

- Η έκλουση πρέπει να γίνεται πάντα σε θετική άμεση Coombs. Το αντίσωμα που ανιχνεύεται σε αυτή είναι πιο ισχυρό σε σχέση με αυτό που υπάρχει στον ορό διότι η διαδικασία της έκλουσης αυξάνει τη συγκέντρωση του
- Δεν είναι ασύνηθες να ανιχνεύεται άλλο-αντίσωμα στο έκλουμα και όχι στον ορό.

Προβλήματα κατά τον ορολογικό έλεγχο ασθενών με AAA

1) Έλεγχος ομάδος αίματος και φαινοτύπου των ερυθρών

Η παρουσία του θερμού αυτό-αντισώματος μπορεί να προκαλέσει προβλήματα στον προσδιορισμό του πλήρους φαινοτύπου των ερυθρών, ιδιαίτερα αν χρησιμοποιούνται αντιδραστήρια ή κάρτες γέλης που βασίζονται στην τεχνική του αντι-σφαιρινικού ορού.

Χρησιμοποιούμε το αντιδραστήριο EGA (γλυκίνη) απομακρύνει τα αντισώματα από την επιφάνεια των ερυθρών (η άμεση Coombs γίνεται αρνητική) απελευθερώνοντας έτσι τις αντιγονικές θέσεις. Περιορισμό στα αντιγόνα του MNS

Προβλήματα κατά τον ορολογικό έλεγχο ασθενών με AAA

2) Απομόνωση και Ταυτοποίηση άλλο-αντισωμάτων

Ο ορός των ασθενών με θερμού τύπου AAA εκτός από το αυτό-αντίσωμα μπορεί να περιέχει και άλλο-αντίσωμα λόγω προηγούμενων μεταγγίσεων ή κυήσεων, τα οποία δεν ταυτοποιούνται εύκολα λόγω της εικόνας της παν-συγκολλητίνης που δίνει το αυτό-αντίσωμα στο panel

Η απομάκρυνση του αυτό-αντισώματος από τον ορό προκειμένου να ανιχνευθούν πιθανά άλλο-αντισώματα γίνεται με **διαδικασίες προσρόφησης**.

Η προσρόφηση είναι μία τεχνική κατά την οποία το αντίσωμα μπορεί να μετακινηθεί από τον ορό και να προσκολληθεί σε συγκεκριμένα ερυθρά που έχουν το αντίστοιχο αντιγόνο (να προσροφηθεί)

Το συνδεδεμένο αντίσωμα μπορεί στη συνέχεια να ανακτηθεί με την τεχνική της έκλουσης και να ανιχνευθεί κάνοντας panel στο έκλουμα.

Τεχνικές προσρόφησης

Αν ο ασθενής έχει επαρκή όγκο ερυθρών και δεν έχει μεταγγιστεί πρόσφατα (πρέπει να έχει παρέλθει 3μηνο από την τελευταία την μετάγγιση)



Αυτόλογη προσρόφηση

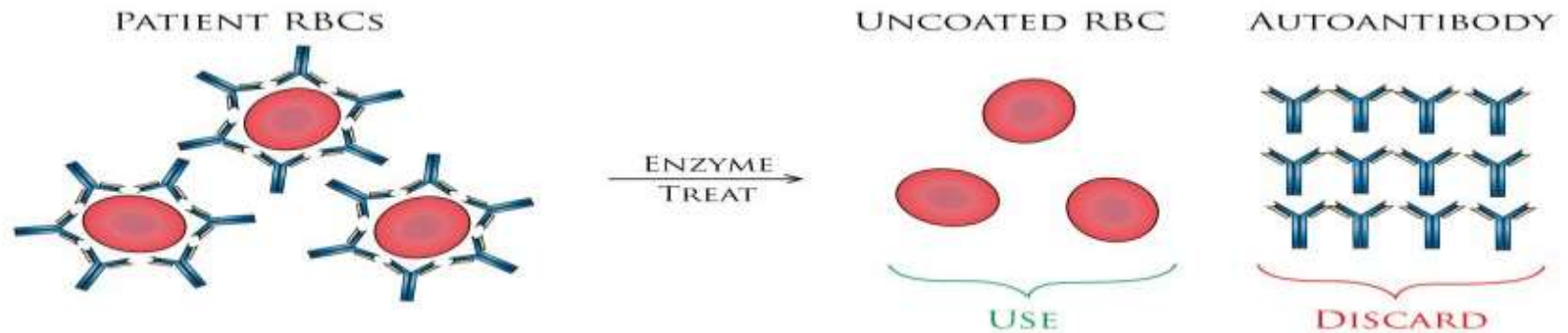
Αν ο ασθενής δεν έχει επαρκή όγκο ερυθρών ή έχει μεταγγιστεί πρόσφατα



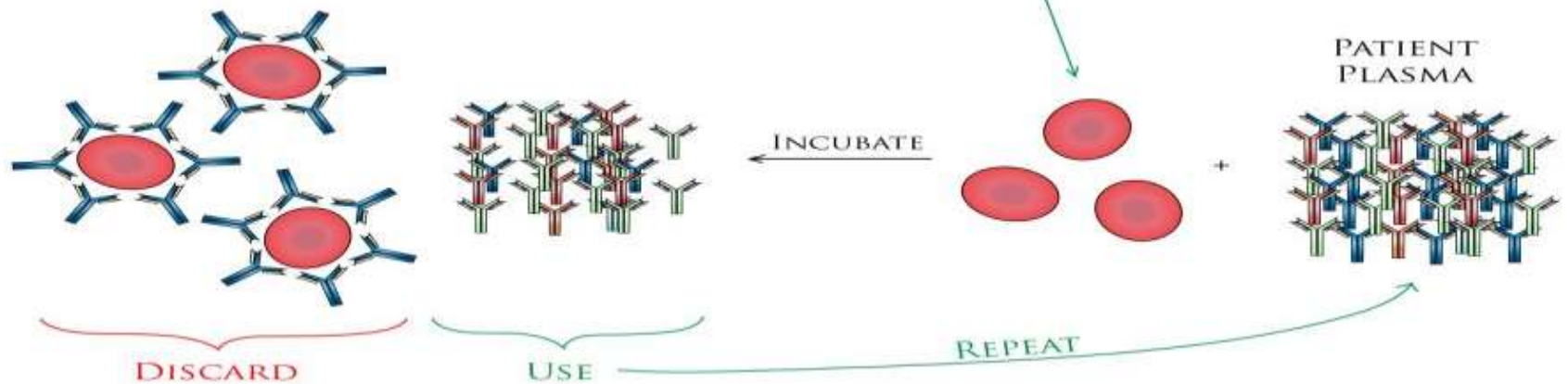
Αλλογενή προσρόφηση

Αυτόλογη προσρόφηση

1



2



3



Αυτόλογη προσρόφηση

- Γίνεται επεξεργασία των ερυθρών του ασθενή με ειδικά αντιδραστήρια ZZAP(παπαΐνη και DDT)για να γίνει η αποδέσμευση του αυτό-αντισώματος από τα ερυθρά, ώστε να ελευθερωθούν οι αντιγονικές θέσεις και να επιτευχθεί η απορρόφηση του αυτοαντισώματος από τον ορό
- Στη συνέχεια επωάζονται με τον ορό του ασθενούς με σκοπό να προσροφήσουν το αυτό-αντίσωμα και να παραμείνει το πιθανό άλλο-αντίσωμα στον ορό και έτσι να μπορέσουμε να το ταυτοποιήσουμε.
- Ενδέχεται να χρειαστεί και δεύτερη προσρόφηση με νέα αυτόλογα ερυθρά, αν είναι ψηλή η συγκέντρωση του αυτοαντισώματος, έτσι ώστε να είναι επαρκής η απομάκρυνση του από τον ορό και να είναι δυνατή η ταυτοποίηση του αλλοαντισώματος, κάνοντας panel στον προσροφημένο ορό.
- Για να είναι επιτυχής η διαδικασία προσρόφησης θα πρέπει η άμεση Coombs των ερυθρών που χρησιμοποιούμε να είναι αρνητική ή αντίθετα τα προσροφημένα ερυθρά να έχουν θετική άμεση Coombs

Αυτόλογη προσρόφηση

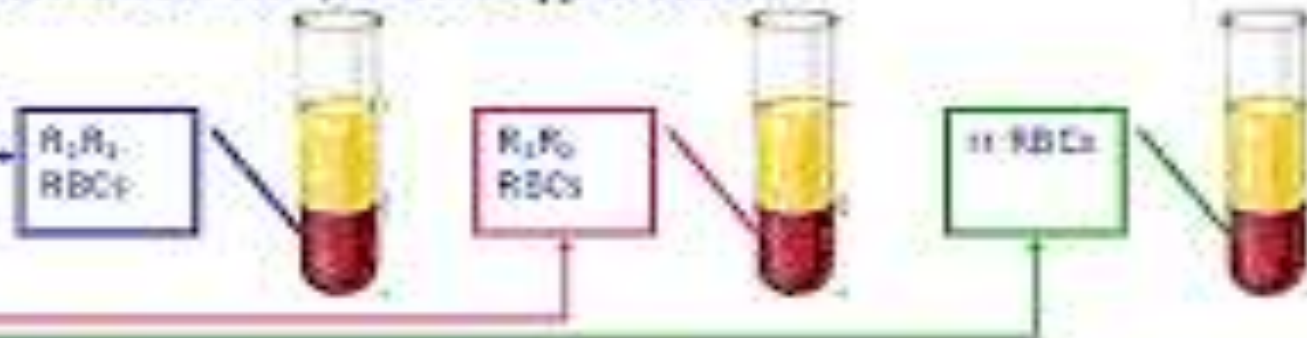
- ◉ Ως οδηγός, για τον αριθμό των κύκλων της αυτόλογης προσρόφησης που θα χρειαστεί να κάνουμε, χρησιμοποιούμε την αρχική αντιδραστικότητα του ορού στην δοκιμή ΙΑΤ. Αν είναι 1+ τότε συνήθως απαιτείται μία μόνο προσρόφηση. Αντισώματα με αντιδραστικότητα 2+ και 3+ αφαιρούνται με 2-3 προσροφήσεις. Αν ο ορός περιέχει υψηλά επίπεδα αυτό-αντισώματος συνήθως απαιτούνται πολλές διαδοχικές προσροφήσεις.
- ◉ Κατά την διαδοχική προσρόφηση ο όρος ασθενή που προσροφήθηκε επωάζεται με ένα νέο δείγμα επεξεργασμένων ερυθρών. Ο προσροφημένος ορός στη συνέχεια ελέγχεται με ΙΑΤ η οποία αν είναι αρνητική τότε πιθανόν δεν υπάρχει άλλο-αντίσωμα.
- ◉ Αν η ΙΑΤ είναι θετική σε όλα τα κύτταρα με θετικό AC τότε χρειάζονται και άλλες προσροφήσεις. Επί θετικότητας με ειδικότητα γίνεται ανάλυση με πάνελ ερυθρών για την ταυτοποίηση του άλλο-αντισώματος.
- ◉ Ο κάθε κύκλος αυτόλογης προσρόφησης χρειάζεται > 3 ώρες για να ολοκληρωθεί

Αλλογενής προσρόφηση

Example Set of RBCs for Allogeneic Adsorption

	D	C	E	c	e	M	N	S	s	K	k	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b
R ₁ R ₁			0	0						0		0			0
R ₂ R ₂		0			0			0		0			0	0	
rr	0	0	0						0	0		0			

Three aliquots of patient's plasma are adsorbed, one with each Rh phenotype RBCs:



After incubation at 37C, each aliquot of adsorbed plasma is harvested and tested.

Αλλογενής προσρόφηση

- Δεν είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν τα ερυθρά του ασθενούς αν έχει μεταγγιστεί πρόσφατα, διότι κυκλοφορούν και τα μεταγγισθέντα ερυθρά, εκτός από τα δικά του τα οποία ενδέχεται να προσροφήσουν τα άλλο-αντισώματα ,αν αυτά υπάρχουν.
- Τα ερυθρά αιμοσφαίρια που χρησιμοποιούνται δεν πρέπει να έχουν αντιγόνα έναντι των οποίων δρουν τα άλλο-αντισώματα. Επειδή όμως η ειδικότητα του άλλο-αντισώματος είναι άγνωστη, επιλέγουμε κύτταρα τα οποία δεν έχουν αντιγόνα για τα οποία είναι πιθανόν να υπάρχουν κλινικά σημαντικά άλλο-αντισώματα. Αυτά περιλαμβάνουν τα αντιγόνα Rh, Kell, Fya, Fyb, Jka, Jkb, S,s
- Αν ο φαινότυπος του ασθενούς είναι γνωστός τότε προτιμώνται φαινοτυπικά ταυτόσημα ερυθρά για την αλλογενή προσρόφηση ή τουλάχιστον να ταιριάζουν με τους φαινοτύπους Rhesus, Kidd, Duffy και S. Αν , για παράδειγμα ο φαινότυπος είναι E-K-S-Fya-Jka-, στα κύτταρα προσρόφησης θα πρέπει να απουσιάζουν και τα πέντε αντιγόνα.

Αλλογενής προσρόφηση

- Επίσης αν ο φαινότυπος του ασθενούς είναι γνωστός είναι δυνατή η προσρόφηση με ένα μόνο δείγμα ερυθρών αιμοσφαιρίων.
- Αν ο φαινότυπος του ασθενούς δεν είναι γνωστός επιλέγουμε ερυθρά αιμοσφαίρια ομάδος O, με τρεις διαφορετικούς φαινοτύπους Rh (R1R1, R2R2, rr). Στο ένα δείγμα θα πρέπει να απουσιάζει το Jka και στο άλλο το Jkb



- Ο προσροφημένος ορός, σε καθένα από τα τρία σωληνάρια ελέγχεται με panel, προκειμένου να ταυτοποιηθεί άλλο-αντίσωμα.
- Για την διαδικασία της αλλογενούς προσρόφησης απαιτούνται 65 min

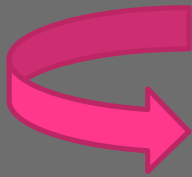
Επείγουσα μετάγγιση σε ασθενή με θερμού τύπου AAA

- Τι πρέπει να γίνει αν ο κλινικός γιατρός ζητάει επείγοντως αίμα ;



Επείγουσα μετάγγιση σε ασθενή με θερμού τύπου AAA

- Τι μας ενδιαφέρει κυρίως κατά την επιλογή φιαλών για μετάγγιση σε ασθενή με AAA ;



Να βρεθούν συμβατές φιάλες;

Το βασικό ζητούμενο είναι να μην χορηγήσουμε αντιγόνα για τα οποία υπάρχουν άλλο-αντισώματα, τα οποία συγκαλύπτονται από την γενική εικόνα της συγκόλλησης σε όλα τα ερυθρά του panel, με σκοπό να μην συμβεί επιπλέον αιμόλυση λόγω του ή των άλλο-αντισωμάτων.

Επείγουσα μετάγγιση σε ασθενή με θερμού τύπου AAA

⊙ Προσροφήσεις

➡ Ταυτοποίηση άλλο-αντισωμάτων



Μετάγγιση με μονάδες που να λείπει το συγκεκριμένο αντιγόνο



Μετάγγιση με βάση τα αντιγόνα του φαινοτύπου του ασθενούς



Φαινοτύπηση των ερυθρών του ασθενούς

Επείγουσα μετάγγιση σε ασθενή με θερμού τύπου AAA

- Η μετάγγιση ασθενών με αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία (ΑΙΗΑ) αποτελεί μία πρόκληση για την αιμοδοσία δεδομένου του συνόλου των πιθανών προβλημάτων που θα αντιμετωπίσουν οι γιατροί .
- Όταν ο ασθενής έχει ένα ευρέως αντιδραστικό αυτοαντισώμα, όπως γενικά συμβαίνει, όλες οι μονάδες ερυθρών αιμοσφαιρίων (RBC) είναι ασύμβατες , προσθέτοντας έτσι ένα στοιχείο αβεβαιότητας στην αναλογία κινδύνου-οφέλους της μετάγγισης
- Σε αυτές τις συνθήκες, θα πρέπει να υπάρχει καλή επικοινωνία μεταξύ των ιατρών και των γιατρών της αιμοδοσίας. Οι κλινικοί γιατροί οφείλουν να κατανοήσουν ότι απαιτείται χρόνος προκειμένου να ολοκληρωθούν οι διαδικασίες επιλογής των κατάλληλων προ μετάγγιση φιαλών σε ασθενείς με ΑΙΗΑ

Επείγουσα μετάγγιση σε ασθενή με θερμού τύπου AAA

- Ο πιο σημαντικός παράγοντας που θα λάβουμε υπόψη, στην επιλογή φιαλών για μετάγγιση, είναι ο αποκλεισμός της παρουσίας άλλο-αντισωμάτων
- Ασθενείς με θερμού τύπου αυτό-αντισώματα έχουν 32% πιθανότητα άλλο-ανοσοποίησης
- Στόχος μας είναι η αποφυγή χορήγησης αντιγόνων για τα οποία υπάρχει άλλο-αντίσωμα αλλά και η αποφυγή δημιουργίας νέων άλλο-αντισωμάτων
- Όταν ξέρουμε τον φαινότυπο των RBC του ασθενούς, είναι δυνατόν να προσδιορίσουμε ποια αλλοαντισώματα θα μπορούσε να έχει αναπτύξει ένας ασθενής ως αποτέλεσμα προηγούμενων μεταγγίσεων ή κυήσεων. Για παράδειγμα, εάν ένας ασθενής είναι Jk (a +), είναι αδύνατο να αναπτύξει ένα αντι-Jk^a αλλοαντίσωμα. Η μετάγγιση των RBC που επιλέγονται με βάση τον εκτεταμένο φαινότυπο του ασθενούς παρέχει ένα είδος ασφάλειας.

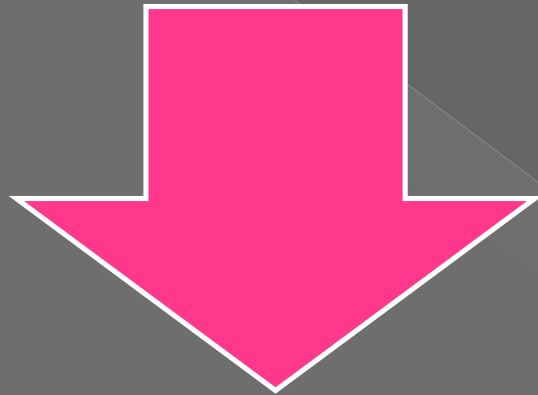
Επείγουσα μετάγγιση σε ασθενή με θερμού τύπου AAA

- Έχει περιγραφεί ένα πρωτόκολλο διαχείρισης της μετάγγισης που χρησιμοποιεί προληπτικά, μονάδες με αντίστοιχο φαινότυπο αντιγόνων με αυτό του ασθενούς, λαμβάνοντας υπόψη τα ίδια αντιγόνα για τα πιο συχνά απαντώμενα κλινικά σημαντικά αντισώματα (Rhesus, Kell, Duffy, Kidd, S, s)
- Αν και η μετάγγιση RBC δεν αποτελεί αντένδειξη στο AIHA, ωστόσο η χρήση της πρέπει να περιορίζεται σε περιπτώσεις απειλητικής για τη ζωή αναιμίας ή υψηλού κινδύνου καρδιακών ή εγκεφαλοαγγειακών ισχαιμικών επεισοδίων.
- Η ορολογική επεξεργασία περιπλέκεται από τα πανσυγκολλητικά ζεστά αυτοαντισώματα που συχνά καλύπτουν τα υπάρχοντα αλλοαντισώματα καθιστώντας έτσι τη διαδικασία της διασταύρωσης ασύμβατη.
- Εάν ο ασθενής δεν έχει υποστεί πρόσφατα μετάγγιση και δεν έχει αυτοαντισώματα υψηλού τίτλου, οι τεχνικές αυτόλογης προσρόφησης μπορούν να απομακρύνουν το αυτοαντισώμα και να οδηγήσουν στην ταυτοποίηση του άλλο-αντισώματος.

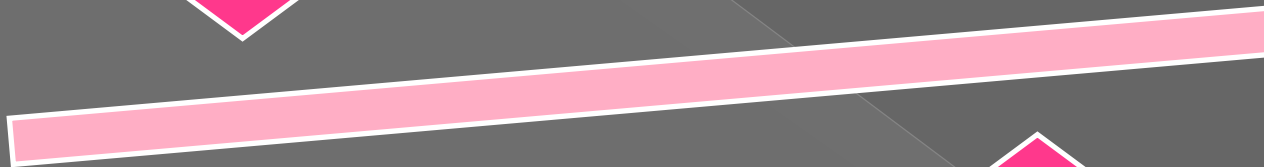
Επείγουσα μετάγγιση σε ασθενή με θερμού τύπου ΑΑΑ

- Όταν απαιτείται μετάγγιση, τότε πρέπει να δοθεί η λιγότερο ασύμβατη μονάδα και η έγχυση πρέπει να είναι αργή και να παρακολουθείται προσεκτικά.
- Τα ερυθρά του δότη καταστρέφονται με τον ίδιο ρυθμό με τα αυτόλογα ερυθρά εκτός εάν τα αυτοαντισώματα παρουσιάζουν ειδικότητα, οπότε οι αντιγόνο-αρνητικές μονάδες θα πρέπει να μεταγγιστούν εάν είναι διαθέσιμες.
- Η μετάγγιση έχει πάντα την τάση να προκαλεί περαιτέρω παραγωγή αυτοαντισωμάτων και άλλο-αντισωμάτων
- Η απόφαση για μετάγγιση σε ΑΙΗΑ πρέπει να βασίζεται στην κλινική κατάσταση του ασθενούς. Κανένας κρίσιμος ασθενής δεν πρέπει να στερείται μετάγγισης αίματος λόγω ορολογικής ασυμβατότητας
- Ο όγκος αίματος που μεταγγίζεται είναι η ελάχιστη ποσότητα που απαιτείται για την διατήρηση επαρκούς παροχής οξυγόνου στους ιστούς.

Μετάγγιση ασθενών με AAA θερμού τύπου



Κίνδυνος από
την μετάγγιση



Ανάγκη για
μετάγγιση



