

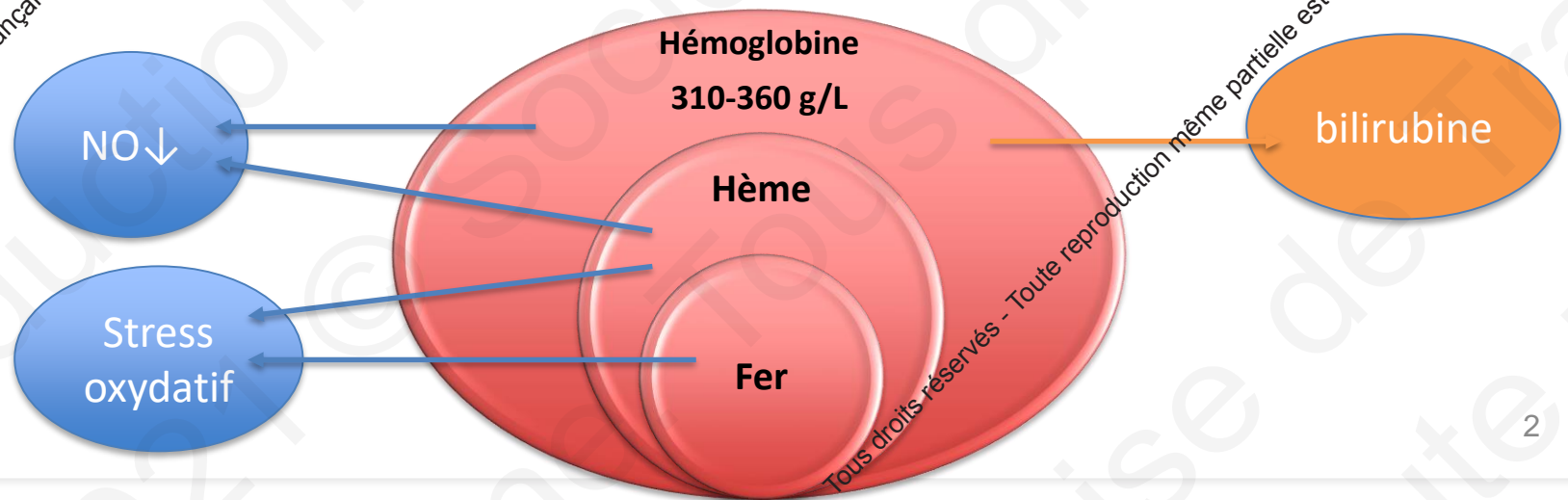
HÉMOLYSE : MÉCANISMES ET CONSÉQUENCES CLINICO-BIOLOGIQUES



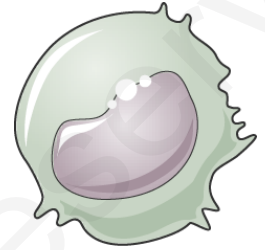
- ▶ SFTS, 24 novembre 2021
- ▶ Dre Sophie Waldvogel Abramowski
- ▶ Unité et laboratoire d'hématologie transfusionnelle
- ▶ Département de Médecine

HÉMOLYSE

- ▶ Destruction accélérée et/ou anormale d'érythrocytes pouvant induire :
 - ▶ une anémie, si elle n'est pas compensée par l'érythropoïèse
 - ▶ des lésions d'organes, si les produits de dégradation de l'hémoglobine ne sont pas efficacement transportés ou éliminés :
 - ▶ Hémoglobine → haptoglobine
 - ▶ Hème → hémopexine
 - ▶ Fer → transferrine



HÉMOLYSE PHYSIOLOGIQUE : ÉQUILIBRE



- ▶ Production journalière d'un adulte : $\sim 180 \cdot 10^9$ érythrocytes; $\sim 5,4$ gr d'hémoglobine.
- ▶ Destruction des érythrocytes sénescents ou malformés : système réticuloendothélial ou phagocytaire mononucléé; foie, rate et moelle osseuse; hémoglobine \rightarrow bilirubine + fer.
- ▶ Norme : hémoglobine libre : $< 3,4 \mu\text{mol/L}$ ($< 57 \text{ mg/L}$)

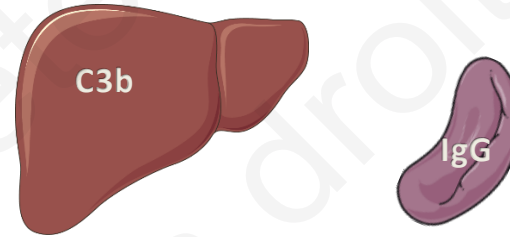
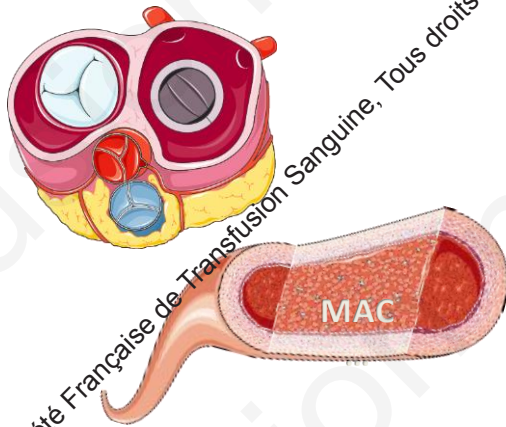
S.Waldvogel

3

HÉMOLYSE

Intra-vasculaire : hémoglobinurie
paroxystique nocturne, matériel
prothétique, incompatibilité ABO...

Extravasculaire : opsonisation,
malformation...
Système réticuloendothélial



LDH ↑↑
Hémoglobinémie, hémoglobinurie
Nécrose tubulaire

LDH ↑
Bilirubine non conjuguée (indirect) ↑↑
Limitation liée à la capacité fonctionnelle des
macrophages.

S.Waldvogel

HÉMOLYSE : ÉTIOLOGIES

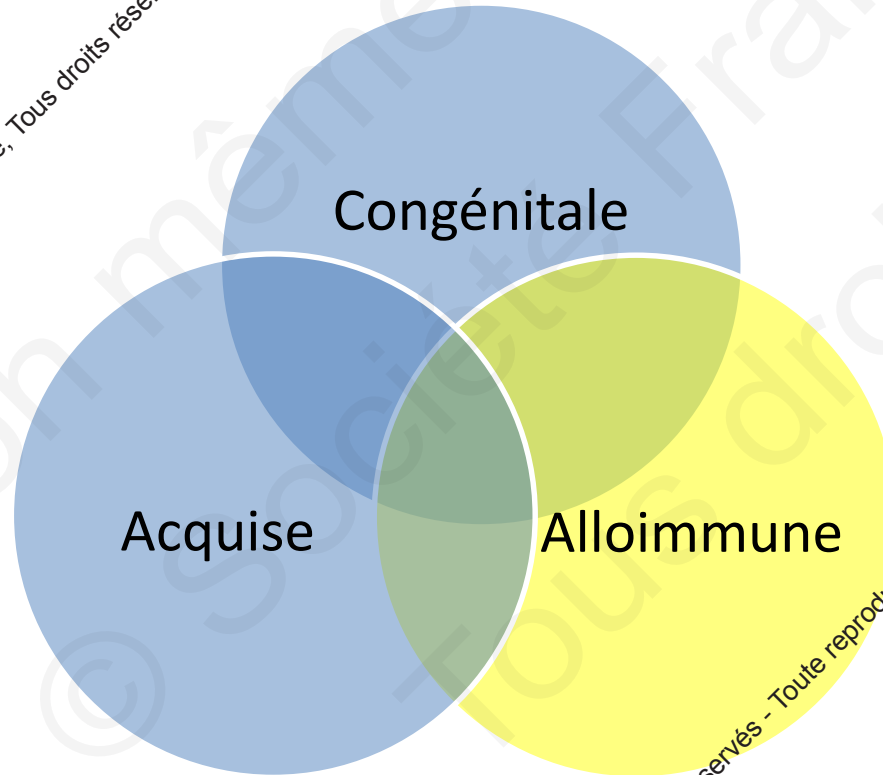


Inherited	Acquired	Alloimmune
Sickle cell disease	Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria	Hemolytic transfusion reaction
Spherocytosis	Autoimmune hemolytic anemia	Hemolytic transplantation reaction
Elliptocytosis	*Thrombotic thrombocytopenic purpura	Fetal and neonatal alloimmune anemia
Pyruvate kinase deficiency	Hemolytic uremic syndrome	Intravenous immunoglobulin
G6PD deficiency	Toxic agents	
Thalassemia	Macroangiopathy	
	Malaria	

*Also inherited : rare

S.Waldvogel

MÉCANISME DE HÉMOLYSE : UNIQUE OU MIXTE



S.Waldvogel

Drépanocytose (simple)

J-1 échange érythrocytaire régulier, asymptomatique

Hémoglobine : 77 g/l

Bilirubine totale 7-25 µmole/l	Haptoglobine 412-1693 mg/l	LDH 87-210 U/l	Réticulocytes 5-15 %
24	NT	447	157

Drépanocytose

J+11 échange érythrocytaire régulier : hémolyse retardée post-transfusionnelle

Hémoglobine : 54 g/l

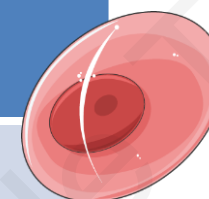
Bilirubine totale 7-25 µmole/l	Haptoglobine 412-1693 mg/l	LDH 87-210 U/l	Réticulocytes 5-15 %	Hémoglobine S
44	< 74	858	215	70%

Drépanocytose

Plasmodium falciparum : positif stade gamécyte uniquement

Hémoglobine : 51 g/l

Bilirubine totale 7-25 µmole/l	Haptoglobine 412-1693 mg/l	LDH 87-210 U/l	Réticulocytes 5-15 %
37	NT	623	101



S.Waldvogel

7

Leucémie lymphoïde chronique
Anémie hémolytique à auto-anticorps chauds (IgG, C3d)
Hémoglobine : 39 g/l

Bilirubine totale 7-25 µmole/l	Haptoglobine 412-1693 mg/l	LDH U/l 87-210	Réticulocytes 5-10‰
63	< 74	466	132

Leucémie lymphoïde chronique et infection
Anémie hémolytique à auto-anticorps froids (C3d, anti-i)
Hémoglobine : 68 g/l

Bilirubine totale 7-25 µmole/l	Haptoglobine 412-1693 mg/l	LDH U/l 87-210	Réticulocytes 5-10‰
30	NT	596	33

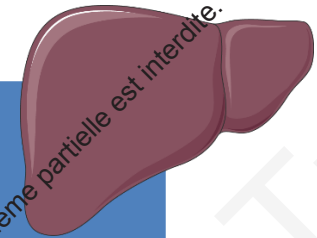
S.Waldvogel

Lymphome splénique
Alloimmunisation anti-f (J7 post transfusion)
Hémoglobine : 75 g/l



Bilirubine totale 7-25 µmole/l	Haptoglobine 412-1693 mg/l	LDH 87-210 U/l	Réticulocytes 5-15‰
84	<7	1132	23

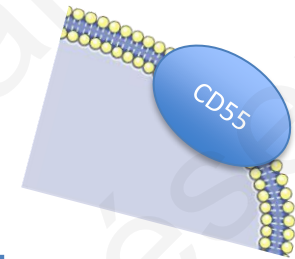
Greffes hépatique
Syndrôme du lymphocyte passager (anti-JK1)
Hémoglobine : 48 g/l



Bilirubine totale 7-25 µmole/l	Bilirubine conjuguée 5-10 µmole/l	Haptoglobine 412-1693 mg/l	LDH 87-210 U/l	Réticulocytes 5-15‰
251	39	<74	712	6.3

S.Waldvogel

HÉMOGLOBINURIE PAROXYSTIQUE NOCTURNE



Hémoglobinurie paroxystique nocturne.
Atteinte clonale associée à une perte de protéine membranaire protectrice de l'activation du complément.
Hémoglobine : 96 g/l

Bilirubine totale 7-25 µmole/l	Haptoglobine 412-1693 mg/l	LDH 87-210 U/l	Réticulocytes 5-15‰
37	<74	411	200

Pathologie clonale de la cellule souche hématopoïétique
induisant une sensibilité accrue à l'activation du complément
Incidence 1,5/mio

ANÉMIES HÉMOLYTIQUES TOXIQUES PLUS RARES

- ▶ Intoxication au plomb : professionnel, plomberie vétuste, vaisselle

Défaut d'utilisation du fer, défaut de synthèse de l'hème

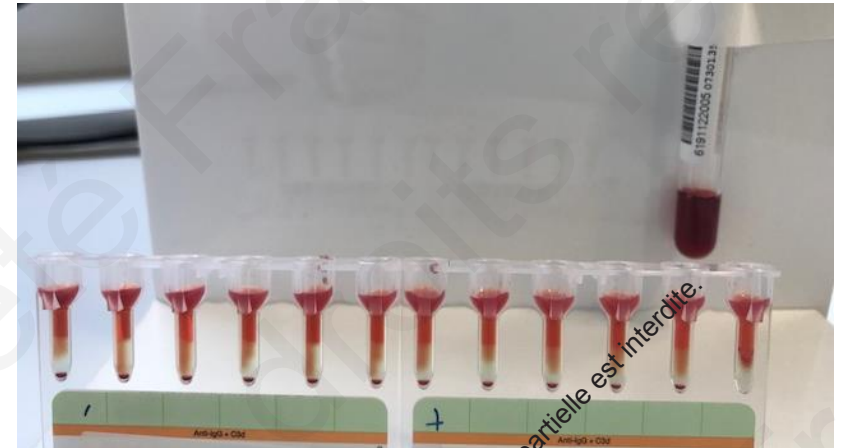
- ▶ Intoxication au cuivre : traitement phytosanitaire, maladie de Wilson, contamination des liquides de dialyse
- ▶ Venins : serpents, araignées, scorpions

S.Waldvogel

11

HÉMOGLOBINE LIBRE

- ▶ Marqueur le plus spécifique
- ▶ Inhibe synthèse et action du NO, effectrice sur l'expression des molécules d'adhésion endothéliale, l'activation plaquettaire et l'agrégation plaquettaire
- ▶ En excès : hémoglobinurie, seuil de réabsorption tubulaire dépassé
- ▶ → marqueur de sévérité clinique.



S.Waldvogel

12

HAPTOGLOBINE : FIXATION DE HB LIBRE

- ▶ Sialo-glycoprotéine d'origine hépatique et de la phase aigüe; 2 allèles majeurs : Hp1-1, Hp2-1, Hp2-2, 2 (affinité variable)
- ▶ Adsorption irréversible des chaînes α puis β de Hb, complexe métabolisé foie >> rate/moelle
- ▶ Demi-vie : 3-5 jours, complexes 20 min. Taux de synthèse : 14-23 mg/kg/h
- ▶ Absence : 1% caucasiens et 4-10% africains
- ▶ Diminution : hémolyse intra-vasculaire >> extra-vasculaire, hématome, insuffisance hépatique, période néonatale, hémodilution, transfusion sanguine
- ▶ Augmentation : inflammation, stéroïdes, anémie aplastique, diabète, tabagisme, syndrome néphrotique, obstruction biliaire...

S.Waldvogel

13

HAPTOGLOBINE : DOSAGE ET UTILITÉ CLINIQUE

- ▶ Spectrométrie (S), immuno-néphélométrie (IN)
- ▶ Validation clinique délicate : pas de gold standard de l'hémolyse, marqueur peu spécifique.
- ▶ IN: <250 mg/L : spécificité de 96% mais sensibilité de 83%. La différenciation entre intravasculaire et extravasculaire n'est pas possible¹
- ▶ S : <280 mg/L : spécificité 98% et sensibilité 92%²
Après chirurgie cardiovasculaire : 71% des patients avec haptoglobine > 250 mg/L³

¹Marchand et al., JAMA 1980

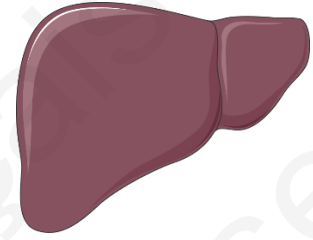
²Kormoczi et al. Eur J Clin Invest 2006

³Warkentin et al. Clin Chem 1987

S.Waldvogel

14

BILIRUBINE



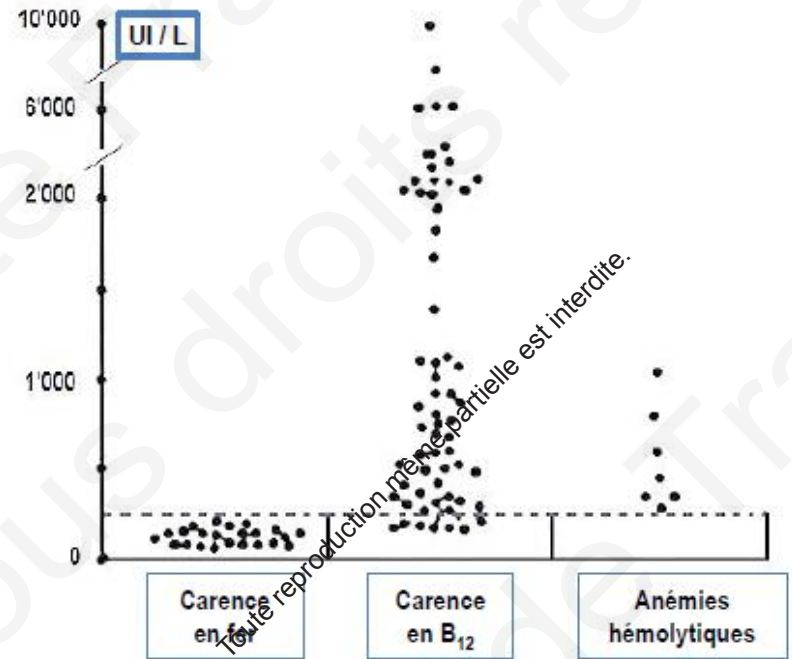
- ▶ Majoritairement le produit de dégradation de l'hémoglobine (env. 80%) par le système réticulo-endothélial : extra-vasculaire
- ▶ Bilirubine insoluble dans l'eau : non conjuguée, indirecte, libre.
- ▶ Excès : Stercobilinogène fécal, urobilinurie
- ▶ Toxicité : cérébrale après naissance dans les contextes d'allo-immunisation foeto-maternelle.

S.Waldvogel

15

LACTATE DESHYDROGÉNASE

- ▶ Le marqueur de toutes les lyses cellulaires
- ▶ Enzyme ubiquitaire
- ▶ Très augmenté lors d'une carence en B12
- ▶ Etudier l'évolution plutôt qu'une valeur isolée.
- ▶ Normalisation en 14 jours.



Emerson P.M. et al. Br j Haematol 1966;12:678-88

S.Waldvogel

16

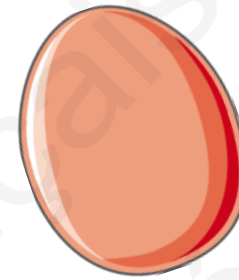
FER ET HÉMOLYSE : DANS TOUTES LES TRAJECTOIRES ...

- Pas assez : Carence en fer lors d'hémoglobinurie
- Trop : Hépcidine diminue lorsque la masse des progéniteurs érythroïde augmente, par augmentation de l'érythroferrone.
 - Si les progéniteurs érythroïdes augmentent, l'érythroferrone augmente, l'hépcidine diminue et l'absorption en fer augmente.
- Iatrogène : une transfusion = 250 mg de fer
- L'analyse du bilan martial n'oriente pas sur le diagnostic ou la sévérité de l'hémolyse.

S.Waldvogel

17

RÉTICULOCYTES



- Diamètre > érythrocytes matures (MCV 104-120 fL)
- Une macrocytose est parfois le simple signe d'une réticulocytose.
- Le marqueur de la cellule **non** transfusée si $>15/10^3$
- L'ampleur de la réticulocytose informe sur l'intensité ou la capacité de l'hématopoïèse de compenser l'hémolyse.
- Réticulocytopénie : «épuisement» médullaire (carence en vitamine, chimiothérapie aplasante,...) ou hémolyse ciblant le progéniteurs érythroïdes (alloimmunisation anti-K, thalassémie, ...).

S.Waldvogel

18



Date Prélèvement	14.12.07	14.12.07
Heure Prélèvement	03 h 00	11 h 00
Date Réception	14.12.07	14.12.07
Heure Réception	03 h 43	11 h 39
Matériel		



Analyses	Val.usuelles	Unités		
Hémogramme et VS				
Formule sanguine :				
Leucocytes	5.0-21.0	G/l	18.9	22.8
Erythrocytes	3.9-6.3	T/l	* 0.97	* 3.63
Hémoglobine	135-215	g/l	* 33 [A	* 118
Hématocrite	42-66	%	* 10	* 32
MCV	88-126	fl	100	* 80
MCH	28-40	pg	34	32.5
MCHC	290-360	g/l	340	365
RDW		%	17	16.1
Plaquettes	150-350	G/l	307	221
Erythroblastes		/% leuc.	2	3
Schistocytes		°/oo	<5	
Réticulocytes	10-29	°/oo	10	
Réti. absolus		G/l	* 9.6	

2021 © Société Française de Transfusion Sanguine. Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.



: Blueberry muffins

ABL815 ABL0		02:09	14
DOSSIER PATIENT		Capillaire - FLEXMODE	Echant. #
Identifications			
ID patient	10		
Type d'échant.	Capillaire		
	37.0 °C		
Valeurs des gaz du sang			
pH	7.089		
pCO ₂	66.6	mmHg	
pO ₂	18.0	mmHg	
Valeurs corrigées de la temp			
pH(T)	7.089		
pCO ₂ (T)	66.6	mmHg	
pO ₂ (T)	18.0	mmHg	
p50(T) _e	26.07	mmHg	
Valeurs d'oxymétrie			
ctHb	5.1	g/dL	
Hct _c	16.1	%	
sO ₂	28.3	%	
FO ₂ Hb _e	28.1	%	
Valeurs des métabolites			
cLac _c	7.6	mmol/L	
Etat d'oxygénation			
ctO _{2e}	2.0	Vol%	
p50 _e	26.07	mmHg	
Etat acido-basique			
cHCO ₃ ⁻ (P) _c	19	mmol/L	
cHCO ₃ ⁻ (P.st) _c	16	mmol/L	
ctCO ₂ (P) _c		Vol%	
ABE _c		mmol/L	
SBE _c		mmol/L	

7.089

7.6

Acidose mixte

S. Walz/vogel

Anti-MNS9



Valais

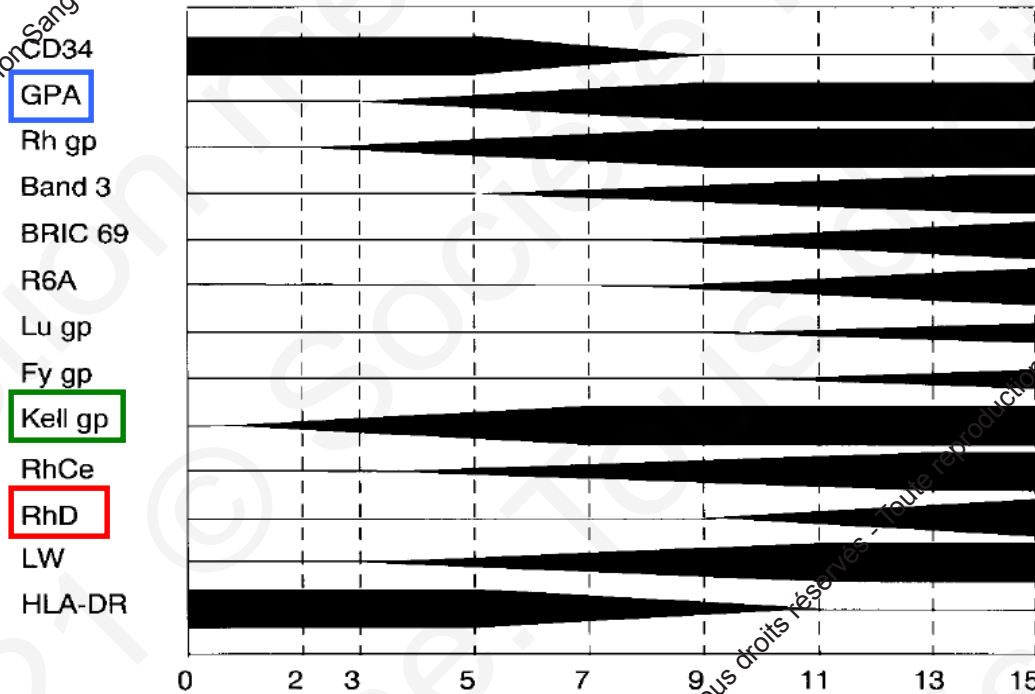


Grisons

S.Waldvogel

EXPRESSION ANTIGÉNIQUE DES PROGÉNITEURS ÉRYTHROÏDE

Maturation specificity



Southcott JC et al. Blood 1999; 93: 4425-4435

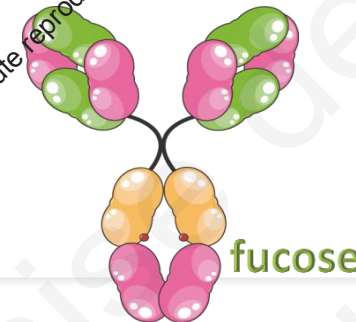
S. Wardvogel

GLYCOSYLATION DES IG ET ANTI-HPA 1A ET LA THROMBOPÉNIE NÉONATALE IMMUNE

- ▶ Le taux de fucosylation est :
 - ▶ inversement proportionnel à l'activité de phagocytose FcγRIII (cytotoxicité)
 - ▶ proportionnel au taux de thrombocytes fœtaux à la naissance
 - ▶ Phénomène non observé pour les transfusions refractaires (anti-HLA) : analysés sur les mêmes échantillons

Kapur et al. Blood 2014

S.Waldvogel



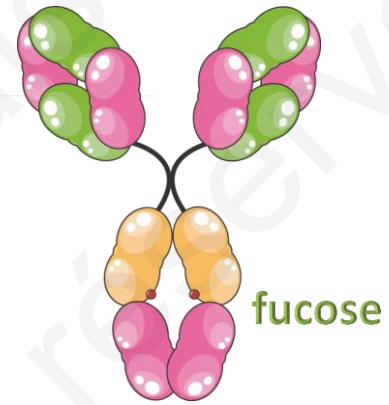
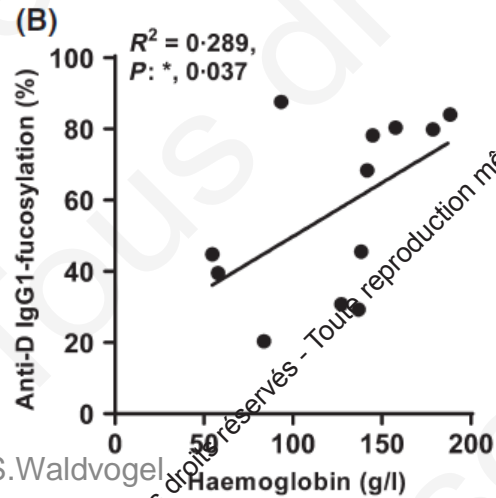
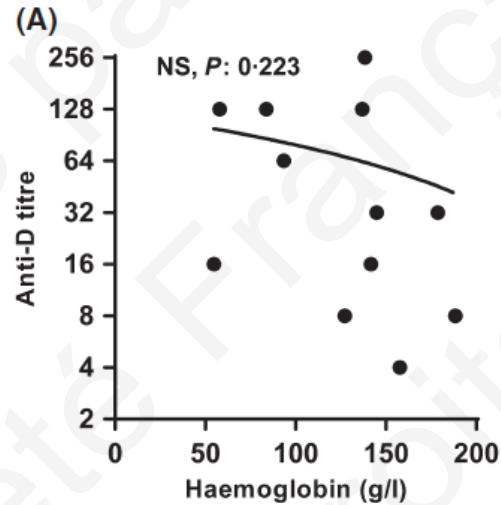
23

GLYCOSYLATION ANTI-D : 70 ÉCHANTILLONS

Le degré de fucosylation
des anti-D de parturientes
immunisées est corrélé avec
le taux d'hémoglobine
fœtale

Un nouveau marqueur
prédictif de sévérité?

Kapur et al. BJH, 2014.



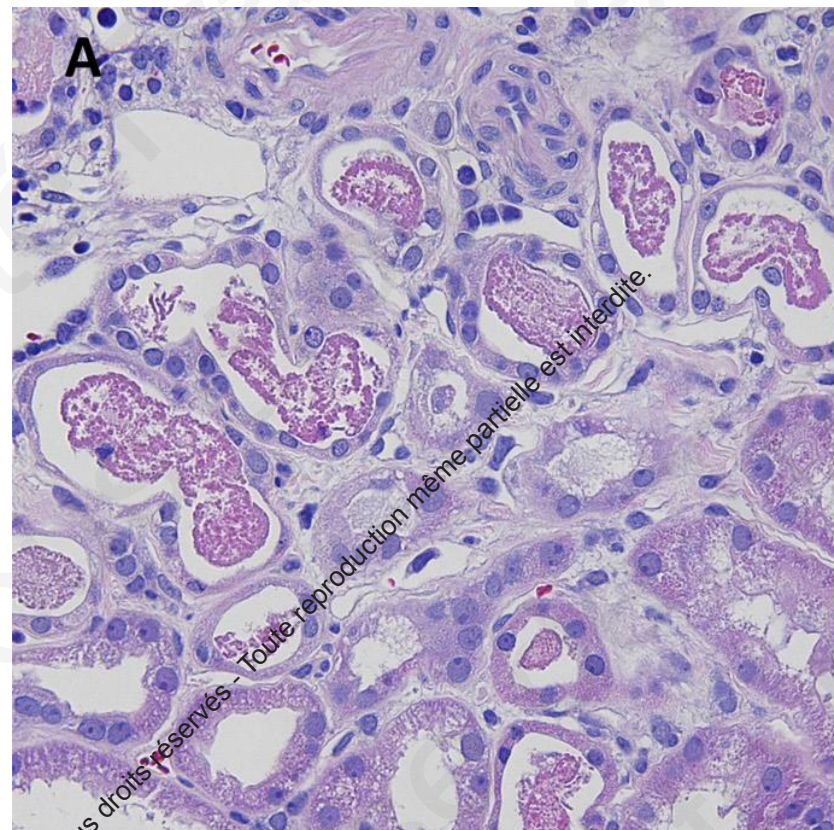
S. Waldvogel

24

NEPHROPATHIE INDUITE PAR L'HÈME



- ▶ Toxicité, médiée par l'inflammation et le l'activation du complément du noyau hème sur cellules : nécrose tubulaire.
- ▶ Hémoglobine filtrée mais capacité de réabsorption limitée.
- ▶ Traitement : augmenter le volume de la diurèse (hydratation) pour éviter l'insuffisance rénale.
- ▶ Situation semblable aux rhabdomyolyses



Khalighi, AJKD. 2015
Teaching case

HEMOPEXINE

- ▶ Physiologique : liaison irréversible avec l'hème et élimination
- ▶ Souris knockout : lésion rénale en cas d'hémolyse
- ▶ Cible thérapeutique testée sur la souris¹ :
 - ▶ Injection d'hémopexine humaine purifiée
 - ▶ inhibition de l'activation du complément et inhibition partielle des atteintes rénales.

¹Poillerat et al. 2020, Frontiers in Immunology

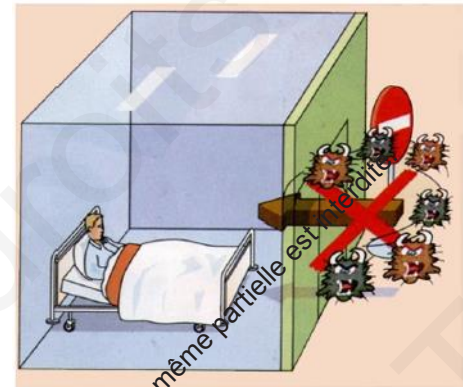


S.Waldvogel

26

TRAITEMENT CURATIF HÉMOGLOBINOPATHIES : TRANSPLANTATION DE CELLULES SOUCHES HÉMATOPOÏÉTIQUES (TCSH) ET THÉRAPIE GÉNIQUE

- ▶ Données EBMT 2018¹ :
 - ▶ 7% des transplantations en Europe pour des pathologies non malignes
 - ▶ Thalassémie : 414 TCSH allogéniques (7% non apparentées)
 - ▶ Dépanocytoses : 225 TCSH (6% non apparentées)
 - ▶ Risque : rejet, GVH, toxicité
- ▶ Thérapie génique thalassémie (LentiGlobin BB305) :
 - ▶ Transfection de cellules souches hématopoïétiques autologues
 - ▶ 22/26 patients, médiane 26 mois, réduction partielle 9 ou totale 13 de transfusion.



S.Waldvogel

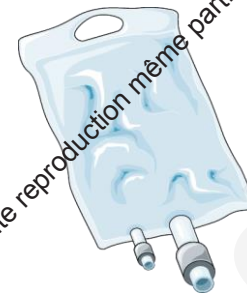
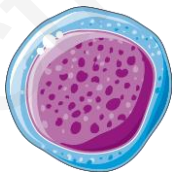
¹Passweg et al. BMT, 2020

²Thompson et al. NEJM 2018

27

THÉRAPIE GÉNÉRIQUE : EN BREF

- ▶ Approche thérapeutique différente entre thalassémie (nombreux variants sur les chaînes α et β de la globine et drépanocytose (une mutation ponctuelle sur la chaîne β)
- ▶ Deux possibilités technologiques :
 - ▶ Lentivirus: vecteur viraux (risque immunologique et oncologique)
 - ▶ CRISPR-Cas9¹ : active la production de γ globine, production hémoglobine fœtale

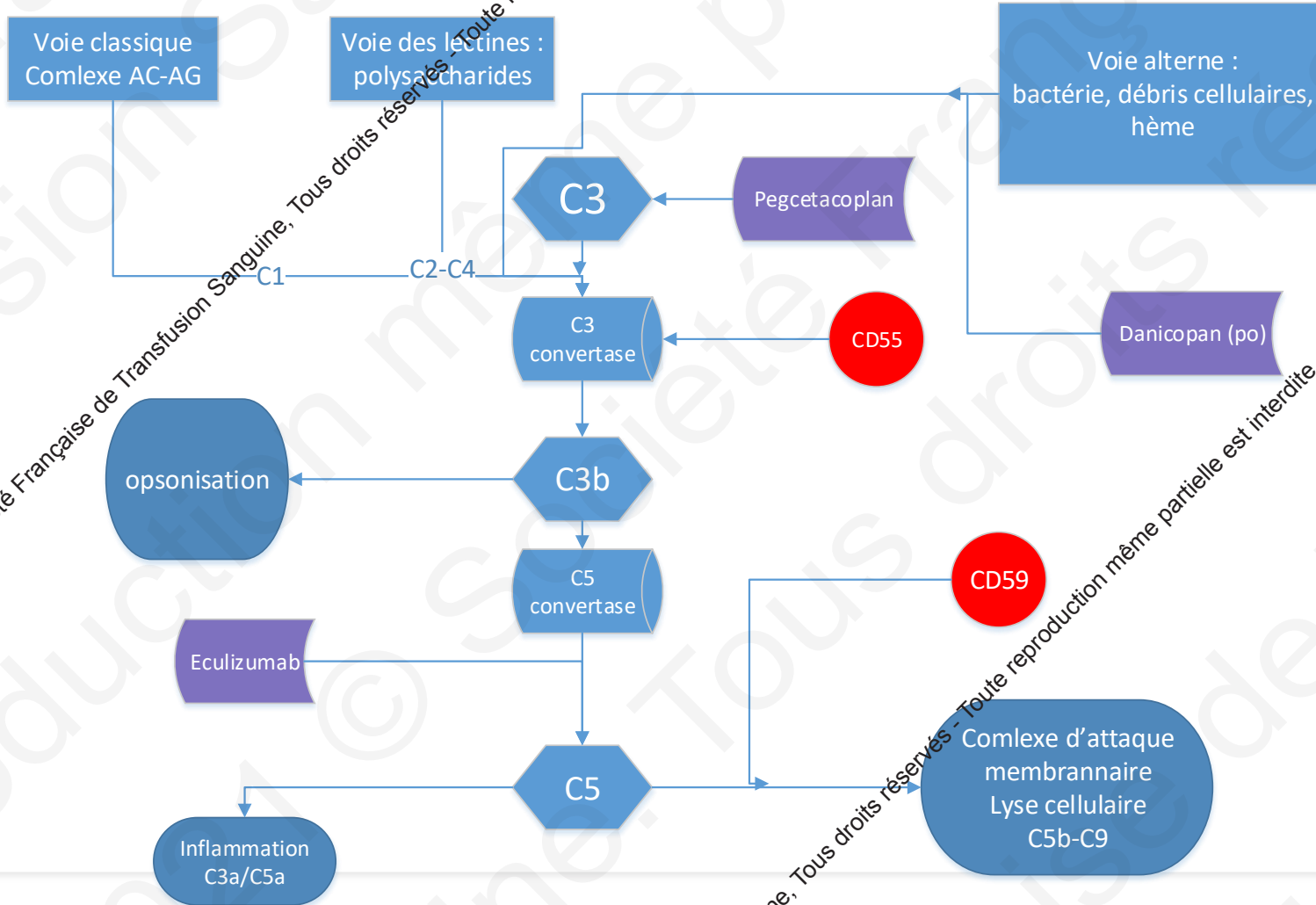


¹Frangoul et al. NEJM 2021

S.Waldvogel

28

ACTIVATION DU COMPLÉMENT



2021 © Société Française de Transfusion Sanguine, Tous droits réservés - Toute reproduction même partielle est interdite.

Société Française de Transfusion Sanguine, Tous droits réservés - Toute reproduction même partielle est interdite.

TRAITEMENT DE L'HÉMOGLOBINURIE PAROXYSTIQUE NOCTURNE : ACTUALITÉ

- ▶ Eculizumab (courant) : ~900 mg /14 jour, également une efficacité sur le risque thrombotique... également utilisé pour les accidents hémolytiques sur incompatibilité ABO¹.
- ▶ Pegcetacoplan (anti-C3, pentadécapeptide) ² comparé à Eculizumab (N: 41/39) après 4 semaines de run-in : après 16 semaines Pegcetacoplan est supérieur
- ▶ Danicoplan : anti-facteur D (oral) en association avec Eculizumab³, blocage de la C3 convertase : 11 sujet avec une augmentation de 24 g/L d'hémoglobine à 24 semaine.

Risque infectieux : *Neisseria*, *Pneumocoque*, *Méningocoque*

Asplénie fonctionnelle à considérer pour la drépanocytose

¹Weinstock et al. Transfusion 2015; 55:605-610

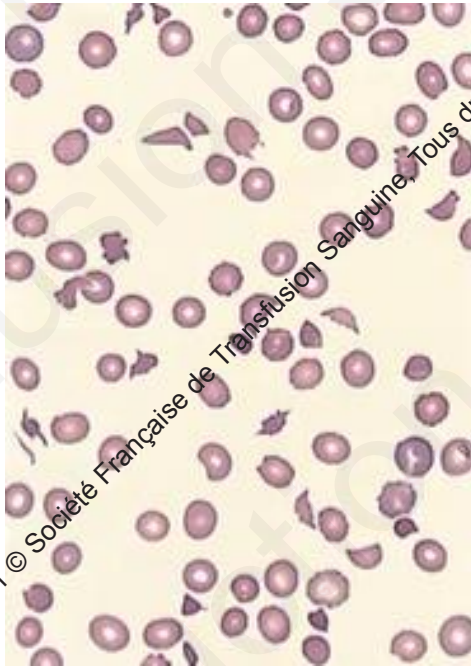
²Hillmen et al. N Engl J Med 2021; 384:1028-1037

³Kulasekararaj et al. Blood, november 2021

S.Waldvogel

30

PUPURA THROMBOTIQUE THROMBOCYTOPENIQUE



- ▶ Anticorps dirigé contre l'ADAMST 13 (enzyme qui clive le Von Willebrand).
- ▶ Adhésion du F. Von Willebrand aux cellules endothéliales et plaquettes ↑
- ▶ Consommation de plaquettes et formation de thrombi.
- ▶ Les érythrocytes sont lésés par les thrombi. anémie hémolytique.
- ▶ Atteintes d'organes et anémie avec fragment
- ▶ Traitement courant : échanges plasmatiques, Rituximab
- ▶ Réfractaire : Eculizumab

PURPURA THROMBOTIQUE THROMBOCYTOPENIQUE : CAPLACIZUMAB

- Inhibe l'adhésion des multimères de Von Willebrand aux plaquettes, «nanobody»
- Phase II et III, effet secondaire le plus fréquent : hémorragie mucocutanées,
- Efficacité : cas réfractaires, récives, mortalité, délais de réponse sur le taux plaquettaire, échange plasmatiques (33%, médiane des séances)
- Cas rapporté : un traitement réussi sans échanges plasmatiques après une réaction transfusionnelle sévère au plasma

Peyvandi et al. Blood Advances, 2021.
TITAN and HERCULES trials
Irani et al. Transfusion, 2020

S.Waldvogel



32

EFFICACITÉ TRANSFUSIONNELLE



- ▶ Dans les situations immuno-hématologiques complexes, contrôle de l'hémoglobine est vital :
 - ▶ Variation d'hémoglobine (T0,T1-2h)
 - ▶ \pm Hémolyse intense lors de la transfusion (T0,T12-24h)
 - ▶ \pm Haut risque d'hémolyse retardée : T0,T10j avec recherche d'anticorps

Drépanocytose :

- ▶ Haut risque d'hémolyse retardée ou échange érythrocytaire : taux d'hémoglobine S (T0,T1-2h)





**LUCAS VOUS
REMERCIE
D'AVOIR SAUVÉ
SA MAMAN
DONNER
SON SANG
C'EST SAUVER
DES VIES**

HUG Hôpitaux
Universitaires
Genève

L'ESSENTIEL, C'EST VOUS.

 www.dondusang.ch

S.Waldvogel

34

HUG Hôpitaux
Universitaires
Genève



**UNIVERSITÉ
DE GENÈVE**

FACULTÉ DE MÉDECINE



Hôpitaux
Universitaires
Genève

2021 © Société Française de Transfusion Sanguine, Tous droits réservés - Toute reproduction même partielle.

2021 © Société Française de Transfusion Sanguine, Tous droits réservés - Toute reproduction même partielle est interdite.