

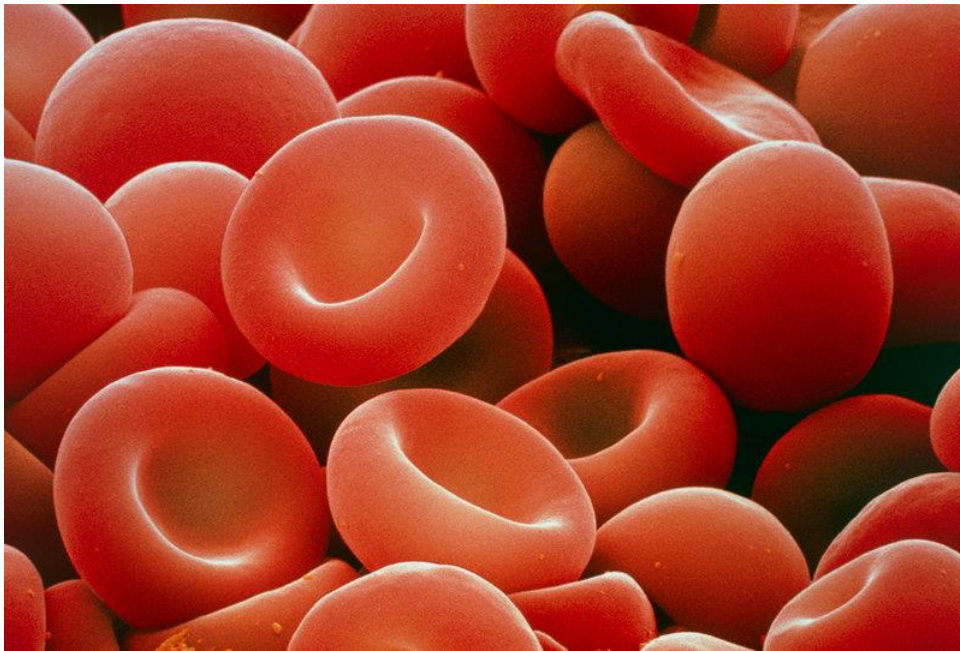


Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Σχολή Επιστημών Υγείας

Τμήμα Δημόσιας και Ενιαίας Υγείας

« Η πρόληψη Μεσογειακής Αναιμίας και Δρεπανοκυτταρικής Νόσου στο Νομό
Καρδίτσας»



Φοιτήτρια: Τσίνα Γκισέλντα, 2219094

Επιβλέπουσα Επίκουρη καθηγήτρια: Σάτρα Μαρία

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όσους συνέβαλαν στην εκπόνηση της παρούσας πτυχιακής εργασίας.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα καθηγήτριά μου, **κα. Σάτρα Μαρία**, για την καθοδήγηση, την υποστήριξη, καθώς και την συμπαράστασή της, ώστε να πραγματοποιηθεί η μελέτη αυτή.

Έπειτα θα ήθελα να ευχαριστήσω το προσωπικό της **Μονάδας Πρόληψης Μεσογειακής Αναιμίας και Δρεπανοκυτταρικής Νόσου**, όπου πραγματοποίησα την πρακτική μου άσκηση, και ολοκλήρωσα με τη βοήθεια και καθοδήγηση του προσωπικού, και ειδικά του Βιολόγου της Μονάδας, **κ. Καλαμάρα Άγγελου**, να συλλέξω και να κατανοήσω όλες αυτές τις πληροφορίες γύρω από το θέμα της πτυχιακής μου.

Επιπλέον, θα ήθελα να αφιερώσω την πτυχιακή εργασία, στην οικογένειά μου και τους φίλους μου, καθώς η συμπαράσταση τους ήταν πολύ σημαντική για την ολοκλήρωση όχι μόνο της πτυχιακής εργασίας αλλά και ολόκληρου του κύκλου σπουδών.

Επίσης θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου, σε όσους ασχολήθηκαν με το συγκεκριμένο θέμα πριν από εμένα, ώστε να αντλήσω και να συλλέξω στοιχεία και πληροφορίες για την εκπόνησή της.

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες	σελ. 2
Περίληψη.....	σελ. 5
Λέξεις κλειδιά.....	σελ. 5
Abstract.....	σελ. 6
Key words	σελ. 6
1. Εισαγωγή.....	σελ. 7
2. Γενετική	σελ.8
2.1 Κύτταρα, χρωμοσώματα, γονίδια και πρωτεΐνες.....	σελ.8
2.2 Διαφορετικές μορφές γονιδίων.....	σελ.8
2.3 Ορισμός της γενετικής ασθένειας.....	σελ. 9
3. Αιμοσφαιρίνη.....	σελ.11
3.1 Δομή.....	σελ.11
3.2 Σύνθεση.....	σελ.11
4. Αιμοσφαιρινοπάθειες.....	σελ.12
5. Διάγνωση Αιμοσφαιρινοπαθειών	σελ.13
5.1 Τεχνικές διάγνωσης στη Μονάδα Πρόληψης Μεσογειακής Αναιμίας και Δρεπανοκυτταρικής Νόσου στο Γενικό Νοσοκομείο Καρδίτσας.....	σελ.22
6. Θαλασσαιμία-Μεσογειακή αναιμία.....	σελ.27
6.1 Ορισμός.....	σελ.27
6.2 Ιστορική Αναδρομή.....	σελ.27
6.3 α- Μεσογειακή αναιμία.....	σελ.28
6.4 Αιμοσφαιρινοπάθεια Η.....	σελ.30
6.5 β- Μεσογειακή αναιμία.....	σελ.32
6.6 Ετερόζυγη β- Θαλασσαιμία.....	σελ.32
6.7 Ομόζυγη β- Θαλασσαιμία ή μείζων β- Θαλασσαιμία.....	σελ.35
7. Πως κληρονομείται η Μεσογειακή Αναιμία.....	σελ.36
8. Πρόληψη.....	σελ.37
9. Δρεπανοκυτταρική Νόσος.....	σελ.41

9.1 Ιστορική αναδρομή.....	σελ.41
9.2 Αιτιολογία.....	σελ.42
9.3 Κλινική εικόνα.....	σελ.42
9.4 Ευρήματα εργαστηρίου.....	σελ.45
9.5 Διάγνωση.....	σελ.45
9.6 Επιπλοκές και πρόγνωση.....	σελ.46
10. Συμπεράσματα.....	σελ.47
11. Επίλογος.....	σελ. 48
11. Βιβλιογραφία.....	σελ. 49

Περίληψη

Οι αιμοσφαιρινοπάθειες αποτελούν ένα από τα πιο συχνά κληρονομικά μονογονιδιακά νοσήματα της Ελλάδας, αλλά και παγκοσμίως, ιδιαίτερα στο Ν. Καρδίτσας ο οποίος έχει τα μεγαλύτερα ποσοστά ετεροζυγωτών (φορέων) σε σχέση με τους υπόλοιπους νομούς, και ιδιαίτερα όλων σχεδόν των μεταλλάξεων του ελληνικού πληθυσμού. Αυτές που μας απασχολούν περισσότερο και η εμφάνιση τους είναι πιο συχνή είναι η β- Θαλασσαιμία (σε ποσοστό 15% έως 16% στο νομό) και δευτερευόντως η α- Μεσογειακή Αναιμία, δβ- Μεσογειακή Αναιμία, η αιμοσφαιρινοπάθεια Lepor (Πύλος) καθώς και η ποιοτική μετάλλαξη της Δρεπανοκυτταρικής Αναιμίας αναφορικά πάντα με τα ποσοστά των ετεροζυγωτών. Κύριο χαρακτηριστικό της θαλασσαιμίας αποτελεί η έλλειψη ή την ελαττωμένη σύνθεση μιας από τις δυο αλυσίδες της αιμοσφαιρίνης στα ερυθρά αιμοσφαίρια. Οι πιο συνηθισμένοι τύποι με βαριά κλινική εικόνα είναι η β- μείζωνα Θαλασσαιμία και η α- Θαλασσαιμία. Η Δρεπανοκυτταρική Νόσος αντίστοιχα οφείλεται στην αλλαγή ενός μόνο αμινοξέος της β-σφαιρίνης, πιο συγκεκριμένα της αντικατάστασης του γλουταμινικού οξέος από τη βαλίνη στην 6^η θέση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας. Η διάγνωση και η πρόληψη των αιμοσφαιρινοπαθειών είναι σημαντική για τη χώρα μας, καθώς τα ποσοστά φορέων είναι αρκετά υψηλά, με κυριότερο στόχο την αποφυγή γεννήσεων ατόμων με σοβαρές αναιμίες και με χρόνια προβλήματα που μειώνουν το προσδόκιμο ζωής. Η επιτυχία των προγραμμάτων πρόληψης που εφαρμόζονται στην χώρα μας, φαίνεται από το γεγονός ότι ο ετήσιος αριθμός γεννήσεων παιδιών που πάσχουν από Μεσογειακή αναιμία, έχει μειωθεί από την εφαρμογή του προγράμματος πρόληψης στην Ελλάδα, πριν από 35 σχεδόν χρόνια, στο ελάχιστο. Σε διαφορετική περίπτωση θα γεννιούνταν στην χώρα μας 150 παιδιά ετησίως με Μεσογειακή Αναιμία και Δρεπανοκυτταρική Νόσο. Στην παρούσα εργασία συλλέξαμε στοιχεία από τη Μονάδα Πρόληψης Μεσογειακής Αναιμίας και Δρεπανοκυτταρικής Νόσου του Γενικού Νοσοκομείου Καρδίτσας σχετικά με τους παραπάνω τύπους των αιμοσφαιρινοπαθειών, κάνοντας αρχικά ιστορική αναδρομή και αναλύοντας στη συνέχεια τους τρόπους διάγνωσης, πρόληψης, αντιμετώπισης και θεραπείας.

Λέξεις κλειδιά

Αιμοσφαιρινοπάθειες, μεταλλάξεις, κληρονομικότητα, χρωμοσώματα, ηλεκτροφόρηση, γενική αίματος.

Abstract

Hemoglobinopathies are one of the most common hereditary monogenic diseases in Greece and worldwide, especially in Karditsa, which has the highest percentage of heterozygotes (carriers) compared to the other prefectures, and especially of almost all mutations in the Greek population. The ones with the highest frequency are beta-thalassemia (15% to 16% in the prefecture) and, secondarily, alpha-Mediterranean anaemia, db-Mediterranean anaemia, Lepor haemoglobinopathy (Pylos) and the qualitative mutation of sickle-cell anaemia, always with regard to the percentage of heterozygotes. The main feature of thalassaemia is the lack or reduced synthesis of one of the two haemoglobin chains in red blood cells. The most common types with a severe clinical picture are beta- thalassaemia and α -thalassaemia. Sickle Cell Disease respectively is due to the change of only one amino acid of β -globulin, more specifically the replacement of glutamic acid by valine at position 6 of the polypeptide chain. The diagnosis and prevention of haemoglobinopathies is important for our country, as the carrier rates are quite high, so we aim to avoid the birth of individuals with severe anaemias and with chronic problems that reduce life expectancy. The success of the prevention programmes implemented in our country is shown by the fact that the annual number of births of children suffering from thalassaemia has been reduced to a minimum since the implementation of the prevention programme in Greece almost 35 years ago. Otherwise, 150 children would be born in our country every year with thalassaemia and sickle-cell disease. In this essay we reviewed the above types of hemoglobinopathies, using information collected from the Unit for the Prevention of Mediterranean Anemia and Sickle Cell Disease at the General Hospital of Karditsa, referring to an historical background, but mainly presenting the methods of diagnosis, prevention, treatment and therapy.

Key words

Haemoglobinopathies, mutations, heredity, chromosomes, electrophoresis, complete blood count.

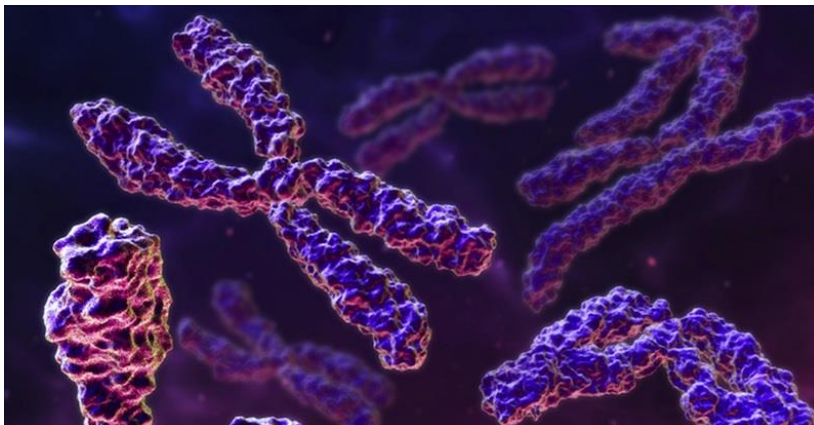
1.Εισαγωγή

Οι αναιμίες ταξινομούνται σχετικά με το αίτιο που τις προκαλεί και ονομάζονται αιτιολογικές και με βάση την παθογένεια και ονομάζονται παθογενετικές. Σύμφωνα με τη δεύτερη κατηγορία, η αναιμία κατατάσσεται στις «ανωμαλίες» που προκύπτουν από την διαταραχή στην παραγωγή των ερυθρών αιμοσφαιρίων, όπως η ανεπάρκεια στη σύνθεση της σφαιρίνης, και στις «ανωμαλίες» οι οποίες προκύπτουν γιατί ο ρυθμός καταστροφής των ερυθροκυττάρων είναι αυξημένος, όπως είναι η Δρεπανοκυτταρική Νόσος και οι Θαλασσαιμίες ή Μεσογειακές Αναιμίες.

Τα μεσογειακά σύνδρομα είναι από τα πιο κοινά μονογονιδιακά νοσήματα με 270 εκατομμύρια φορείς σε όλο τον κόσμο. Λόγω της ανθεκτικότητας των φορέων στην ελονοσία ευνοήθηκε στα τροπικά και υποτροπικά μέρη η εξάπλωση των παθολογικών αλληλόμορφων. Στα μεσογειακά σύνδρομα περιλαμβάνεται ένα ευρύ φάσμα διαταραχών με κύριο χαρακτηριστικό την ελαττωμένη σύνθεση μιας ή πιο πολλών αλυσίδων αιμοσφαιρίνης, οι οποίες συνθέτουν το μόριο της αιμοσφαιρίνης των ερυθροκυττάρων. Οι αιμοσφαιρίνες είναι τετραμερή μόρια που αποτελούνται τα 4 πολυπεπτιδικές αλυσίδες. Οι δύο προέρχονται από τα γονίδια του συμπλέγματος των α- αλυσίδων αιμοσφαιρίνης και οι άλλες δύο από τα γονίδια των β- αλυσίδων αιμοσφαιρίνης. Η κάθε μια αλυσίδα συνδέεται με μια ομάδα αίμης. Την περίοδο της εμβρυϊκής και της ενηλίκου ζωής εμφανίζεται μια αλλαγή στους τύπους της αιμοσφαιρίνης που συντίθενται εξ' αιτίας της μεταβολής στην έκφραση των παραπάνω γονιδίων κατά την ανάπτυξη. Στους φυσιολογικούς ενήλικες η αιμοσφαιρίνη A (Hb A ($\alpha_2\beta_2$)) αναλογεί περίπου στο 97.5% της ολικής αιμοσφαιρίνης των ερυθροκυττάρων, ενώ δυο άλλες αιμοσφαιρίνες η A2 (Hb A2 ($\alpha_2\delta_2$)) και η F (Hb F ($\alpha_2\gamma_2$)) περιορίζονται περίπου σε ποσοστά <2.5% και 1-2% αντίστοιχα. Τα μεσογειακά σύνδρομα κατανέμονται με βάση το είδος της αλυσίδας της οποίας η σύνθεση βρίσκεται σε έλλειψη. Μια από τις κυριότερες κατηγορίες είναι η α-Μεσογειακή Αναιμία (α-MA) που οφείλεται στη μειωμένη σύνθεση των α- αλυσίδων αιμοσφαιρίνης και η β-Μεσογειακή Αναιμία (β-MA) που οφείλεται σε μειωμένη σύνθεση των β- αλυσίδων. Συχνή επίσης είναι και η δβ- Μεσογειακή Αναιμία (δβ-MA), που οφείλεται σε μειωμένη σύνθεση των β και δ αλυσίδων αιμοσφαιρίνης, ενώ σπανιότερα συναντώνται οι: γ-MA, γδβ- MA και δ-MA.

2. Γενετική

2.1 Κύτταρα, χρωμοσώματα, γονίδια και πρωτεΐνες



Στον ανθρώπινο οργανισμό περιέχονται 10^9 εκατομμύρια κύτταρα περίπου. Τα σωματικά κύτταρα έχουν 23 ζεύγη ομολογων χρωμοσωμάτων όπου τα 22 ονομάζονται αυτοσωμικά και το 23ο ζεύγος είναι τα φυλετικά χρωμοσώματα (XX στη γυναίκα, XY στον άνδρα) (εικόνα 1). Τα ωάρια και τα σπερματοζωάρια είναι απλοειδή και φέρουν τη μισή ποσότητα του DNA, δηλαδή 23 χρωμοσώματα. Τα χρωμοσώματα αποτελούνται από DNA και πρωτεΐνες. Στο DNA υπάρχουν όλες οι πληροφορίες οι οποίες καθορίζουν όλα τα χαρακτηριστικά ενός οργανισμού και ονομάζονται γονίδια.

Τα χαρακτηριστικά που κληρονομούμε ελέγχονται από τα γονίδια. Σε ορισμένες περιπτώσεις ένα χαρακτηριστικό που κληρονομείται μπορεί να ελέγχεται από ένα μόνο γονίδιο, τότε αναφερόμαστε στον μονογονιδιακό τρόπο κληρονόμησης. Τα χαρακτηριστικά τα οποία τα βλέπουμε συνήθως αποτελούν αποτέλεσμα της συνεργασίας και αλληλεπίδρασης πολλών γονιδίων με το περιβάλλον τους. Τέτοια χαρακτηριστικά είναι το ύψος και η νοημοσύνη καθώς προκύπτουν από πολλές και σύνθετες αλληλεπιδράσεις, αναφέρονται πιο συγκεκριμένα ως πολυγονιδιακά χαρακτηριστικά.

2.2 Διαφορετικές μορφές γονιδίων

Τα γονίδια μπορεί να εμφανίζεται με διαφορετικές μορφές που ονομάζονται αλληλόμορφα. Παράδειγμα, υπάρχει ένα μόνο γονίδιο το οποίο είναι για το χρώμα των ματιών, μια μορφή του είναι υπεύθυνο για το μπλέ χρώμα, άλλη μορφή είναι για το καστανό. Σε όλα τα γονίδια μεταδίδονται δυο αλληλόμορφα που είναι σε θέσεις που αντιστοιχούν στο ζεύγος των ομόλογων χρωμοσωμάτων που κληρονομούνται από τους γονείς. Κάποια αλληλόμορφα είναι επικρατή ως προς τη δράση ενώ ορισμένα αλληλόμορφα είναι υπολειπόμενα και τα αποτελέσματα της δράσης τους είναι ορατά μόνο όταν υπάρχει το αλληλόμορφο σε ομόζυγη

κατάσταση. Τυχαία από κάποια μετάλλαξη μπορεί να παρουσιαστεί σε συνθήκες φυσιολογικές αλλαγή στα γονίδια. Κάποιες μεταλλάξεις μπορεί να έχουν αρνητικές επιπτώσεις και να είναι σοβαρές, αντίθετα άλλες φορές μπορεί να μην είναι ορατές οι επιπτώσεις του.

2.3 Ορισμός της γενετικής ασθένειας

Περίπου 4.000 γενετικές ασθένειες στον άνθρωπο οφείλονται σε μονογονιδιακές μεταβολές. Οι πιο πολλές είναι σπάνιες, ωστόσο αρκετές από αυτές προκαλούν σοβαρές παθήσεις και συνήθως καταλήγουν σε πρόωρο θάνατο. Παρά το γεγονός ότι οι γενετικές ασθένειες μεμονωμένα σπάνια παρουσιάζονται, ο αριθμός των ανθρώπων που προσβάλλεται συνολικά είναι 2% των γεννήσεων ανά χρόνο. Πλέον, για την πλειοψηφία των παθήσεων δεν υπάρχει αντιμετώπιση που ενδίδει ή κάποια θεραπευτική αγωγή. Οι πιο πολλές γενετικές διαταραχές παραμένουν στους πληθυσμούς από τη μεταβίβαση από τους γονείς στα παιδιά και από μια σταθερή πρόκληση νέων μεταλλάξεων. Βέβαια, ορισμένες γενετικές διαταραχές δεν είναι κληρονομικές. Κάποιες νοσογόνες μεταλλάξεις και μερικές χρωμοσωματικές ανωμαλίες μπορούν να προκύψουν κατά τη δημιουργία των ωαρίων και των σπερματοζωαρίων ή στα αρχικά στάδια της ανάπτυξης του εμβρύου. Όλες οι μονογονιδιακές ασθένειες έχουν ξεκάθαρο πρότυπο κληρονόμησης. Δηλαδή γίνεται να προβλέψουμε τις φαινοτυπικές αλλαγές που θα εκδηλώσει κάποιος, αν κληρονομήσει μια ιδιαίτερη ασθένεια.

Τα πρότυπα κληρονόμησης ταξινομούνται σε τρεις κυρίως κατηγορίες:

A) Αυτοσωμική υπολειπόμενη κληρονομικότητα

Ορισμένες ασθένειες προκαλούνται από υπολειπόμενα αλληλόμορφα των γονιδίων: ένα άτομο για να νοσεί θα πρέπει να έχει το αλληλόμορφο σε ομοζυγή κατάσταση. Στη περίπτωση της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας εμφανίζεται σε άτομο το οποίο έχει κληρονομήσει δυο αντίγραφα του ίδιου αλληλόμορφου. Το αλληλόμορφο που ευθύνεται για τη δρεπανοκυτταρική αναιμία είναι υπολειπόμενο. Στην περίπτωση που κάποιος κληρονομήσει μόνο ένα αντίγραφο του αλληλόμορφου δεν θεωρείται ότι πάσχει, καθώς το επικρατές είναι το φυσιολογικό αλληλόμορφο που είναι στο άλλο ομόλογο χρωμόσωμα. Αν έχουν κληρονομήσει ένα συγκεκριμένο αντίγραφο υπολειπόμενου αλληλόμορφου τότε είναι φορείς, δηλαδή εκείνοι δεν πάσχουν αλλά το κληρονομούν τα παιδιά τους. Τα παιδιά θα πάσχουν όμως μόνο αν και οι δυο γονείς τους μεταβιβάσουν το μη φυσιολογικό αλληλόμορφο.

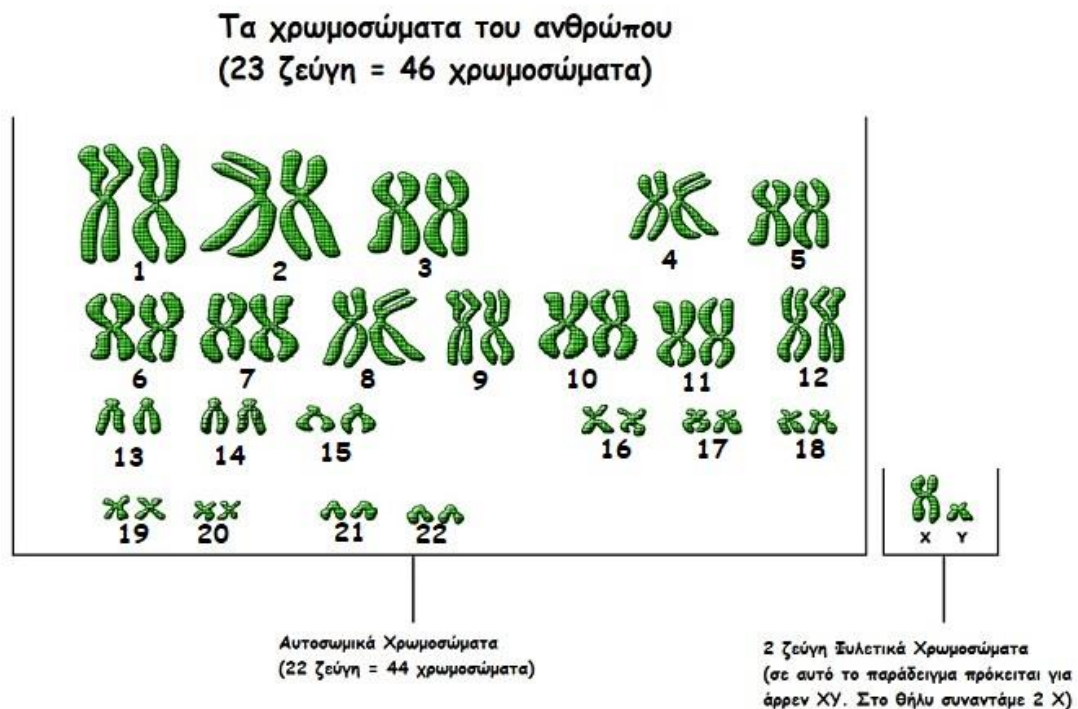
B) Αυτοσωμική επικρατής κληρονομικότητα

Σε αυτή την περίπτωση για να πάσχει ένα άτομο αρκεί να έχει κληρονομήσει το επικρατές αλληλόμορφο ενός γονιδίου. Αν κάποιος απόγονος ενός ατόμου που πάσχει, κληρονομήσει το

επικρατές αλληλόμορφο, θα πάσχει και ο ίδιος και έχει 50% πιθανότητες να το κληρονομήσουν τα παιδιά του.

Γ) Φυλοσύνδετη κληρονομικότητα

Ένα από τα 23 ζεύγη χρωμοσωμάτων που υπάρχουν στον άνθρωπο, είναι τα φυλετικά χρωμοσώματα, X και Y, των οποίων η κληρονομία συνδέεται με το φύλο. Τα θηλυκά έχουν δυο X φυλετικά χρωμοσώματα, ενώ τα αρσενικά έχουν ένα X και ένα Y τα οποία δεν είναι μορφολογικά όμοια ούτε έχουν τον ίδιο αριθμό γονιδίων. Στα φυλετικά χρωμοσώματα υπάρχουν και γονίδια που βρίσκονται στην περιοχή του χρωμοσώματος X που δεν έχει ομολογη στο Y και ονομάζονται φυλοσύνδετα. Οι γενετικές παθήσεις που προκύπτουν από γονίδια που υπάρχουν στο X χρωμόσωμα εκδηλώνονται συχνότερα στους άνδρες.



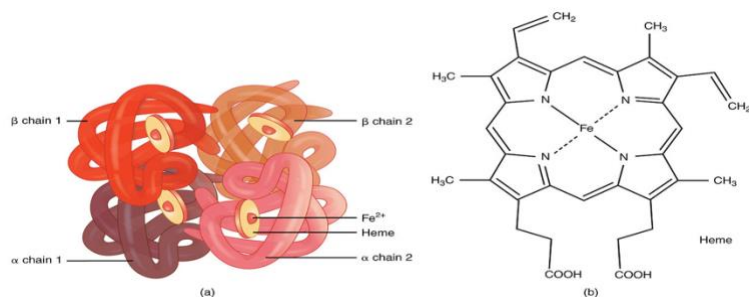
Εικόνα 1: Τα χρωμοσώματα ενός ανθρώπου με φυσιολογικό φαινότυπο

3. Αιμοσφαιρίνη

3.1 Δομή

Η αιμοσφαιρίνη υπάρχει στα ερυθρά κύτταρα και έχει κύριο ρόλο στη μεταφορά των αερίων στους διαφορετικούς ιστούς του σώματος. Η αιμοσφαιρίνη αποτελεί μια τετραμερή πρωτεΐνη, με σχήμα σφαιρικό. Αποτελείται από δύο ζεύγη ανόμοιων πολυπεπτιδικών αλυσίδων, τις

οποίες αποκαλούνται σφαιρίνες και σε κάθε υπομονάδα περιέχεται ένα μόριο αίμης, μια πρωτοπορφυρίνη με σίδηρο (Fe) που είναι συνδεδεμένη με το οξυγόνο (O₂) και έτσι δίνει στο μόριο την δυνατότητα μεταφοράς οξυγόνου (εικόνα 2). Στον ενήλικα υπάρχουν δύο α και δύο β αλυσίδες, ενώ στα έμβρυα υπάρχουν δύο α και δύο γ αλυσίδες.



Εικόνα 2: δομή της αιμοσφαιρίνης

3.2 Σύνθεση

Η σύνθεση της αιμοσφαιρίνης ξεκινάει από τους ερυθροβλάστες και ακολουθεί εν συνεχεία σε όλα τα στάδια μέχρι και του δικτυοερυθροκυττάρου. Ο σχηματισμός της αίμης γίνεται από το οξικό οξύ και τη γλυκίνη στα μιτοχόνδρια, από τα οποία σχηματίζεται ένας πυρολικός δακτύλιος. Τέσσερις πυρολικές ενώσεις οι οποίες ενώνονται μέσω δεσμών άνθρακα σχηματίζουν έναν δακτύλιο πρωτοπορφυρίνης, ο οποίος έπειτα συνδέεται με ένα σίδηρο με συνέπεια το σχηματισμό της αίμης. Η αίμη αποτελείται από πολυπεπίδια τα οποία διακρίνονται σε δύο ομάδες. Η α- ομάδα περιλαμβάνεται από τις α, θ και ε σφαιρίνες και η μη α-ομάδα από τις β, γ, δ και ε σφαιρίνες. Η αιμοσφαιρίνη αποτελείται από δυο όμοιες πολυπεπτιδικές αλυσίδες που περιέχονται στην α-ομάδα και δύο στην μη α-ομάδα, όπου κάθε μια από τις ομάδες είναι συνδεδεμένη με ένα μόριο αίμης. Η αιμοσφαιρίνη Α περιέχεται στο 97% της αιμοσφαιρίνης στον ενήλικα και αποτελείται από 2α και 2β πολυπεπτιδικές αλυσίδες, που φυσιολογικά παρατηρούνται ίσα ποσά α και β αλυσίδων. Με την ένωση μιας α-αλυσίδας με μιας β-αλυσίδας σχηματίζεται ένα διμερές, έπειτα με την ένωση δύο τέτοιων διμερών με δεσμό πιο ασθενή από του διμερούς έχουμε τον σχηματισμό της αιμοσφαιρίνης. Το 3% που απομένει της αιμοσφαιρίνης του ενήλικα είναι μέρος της αιμοσφαιρίνης Α2 που δημιουργείται από 2α και 2δ αλυσίδες και της εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης F που οφείλεται από το σχηματισμό 2α και 2γ αλυσίδων. Στην εμβρυϊκή ζωή η αιμοσφαιρίνη F αποτελεί την κυριότερη μορφή αιμοσφαιρίνης, καθώς δεν υπάρχει η αιμοσφαιρίνη Α. Στο χρωμόσωμα 16 υπάρχουν τέσσερα γονίδια τα οποία είναι υπεύθυνα για τον έλεγχο της σύνθεσης των αλυσίδων α ενώ στο χρωμόσωμα 11 υπάρχουν δύο γονίδια που ελέγχουν τη σύνθεση των β- αλυσίδων.

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια και η αιμοσφαιρίνη αποτελούν σημαντικό ρόλο στην μεταφορά του οξυγόνου από τους πνεύμονες προς τους ιστούς και στην μεταφορά του διοξειδίου του άνθρακα από τους ιστούς στους πνεύμονες όπου αποβάλλεται. Το 97% του οξυγόνου διαβιβάζεται στους ιστούς το οποίο είναι ενωμένο με την αιμοσφαιρίνη και το υπόλοιπο 3% διαβιβάζεται αναμειγμένο στο υγρό του πλάσματος και των κυττάρων. Το οξυγόνο είναι συνδεδεμένο με τον σίδηρο της αιμοσφαιρίνης χαλαρά και αμφίδρομα. Στα τριχοειδή των πνευμόνων που η πίεση του οξυγόνου (PO₂) είναι υψηλή, το οξυγόνο ενώνεται με την αιμοσφαιρίνη, αντιθέτως στα τριχοειδή των ιστών που η πίεση του οξυγόνου είναι μειωμένη, το οξυγόνο αποδίδεται στους ιστούς.

4. Αιμοσφαιρινοπάθειες

Οι αιμοσφαιρινοπάθειες αποτελούν κληρονομικές και γενετικές διαταραχές με κύριο χαρακτηριστικό τις δραματικές μεταβολές στη δομή, το σχήμα καθώς και τη λειτουργία της αιμοσφαιρίνης, με αποτέλεσμα την διατάραξη της ικανότητας μεταφοράς του οξυγόνου στους ιστούς, με συνέπεια να φράζει το αγγειακό σύστημα. Οι αιμοσφαιρινοπάθειες χωρίζονται σε ποιοτικές και ποσοτικές. Οι ποιοτικές σχετίζονται με τις δομικές εκδοχές της αιμοσφαιρίνης και οι ποσοτικές που έχουν σχέση με μεταλλάξεις στα σφαιρινικά γονίδια. Οι δυο σημαντικότερες κλινικές διαταραχές παγκοσμίως αποτελούν η β-θαλασσαιμία και η δρεπανοκυτταρική νόσος.

Οι δύο πιο σημαντικές τους κλινικές διαταραχές παγκοσμίως είναι η β-θαλασσαιμία και η δρεπανοκυτταρική αναιμία. Οι β-θαλασσαιμίες οφείλονται σε ελαττωμένη σύνθεση της β-αλυσίδας, λόγω μμεταλλάξεων του β γονιδίου της αιμοσφαιρίνης. Η σοβαρότητα της νόσου εξαρτάται από τη φύση της μετάλλαξης. Οι μεταλλάξεις έχουν ως συνέπεια τη μειωμένη παραγωγή β-αλυσίδων, με αποτέλεσμα την παραγωγή περίσσειας των α-αλυσίδων. Η δρεπανοκυτταρική αναιμία οφείλεται σε μετάλλαξη στην οποία η αδενίνη αντικαθίσταται από θυμίνη. Το 24% του πληθυσμού παγκοσμίως είναι φορείς όλων των γνωστών γονιδιωματικών παραλλαγών που προκαλούν αιμοσφαιρινοπάθειες. Η μέση συχνότητα των φορέων με θαλασσαιμία στην Ελλάδα είναι περίπου 7%. Ιδιαίτερα στο Ν. Καρδίτσας παρατηρούμε στα εξής ποσοστά ετεροζυγωτών (φορέων): Στη β- M.A 15 έως 16%, στην α- M.A 4 έως 5%, στη Δρεπανοκυτταρική 4 έως 5% και επίσης 2 έως 3% σε λιγότερο συχνές μεταλλάξεις όπως η δβ- M.A, η Lepor (Πύλος), η γδβ- M.A, η D- M.A και άλλες. Η σωστή και έγκαιρη διάγνωση επιτρέπει την έναρξη της θεραπείας που κατά ένα μεγάλο μέρος στηρίζεται στις μεταγγίσεις αίματος. Ωστόσο οι χρόνιες μεταγγίσεις ταυτίζονται με δευτερογενείς επιπλοκές, οι οποίες αυξάνουν το ποσοστό θνησιμότητας σε αυτούς τους ασθενείς. Οι κληρονομικές διαταραχές της

αιμοσφαιρίνης πέρα από την ταλαιπωρία που προκαλεί στους ίδιους τους ασθενείς απορροφά και ένα τεράστιο μέρος των πόρων του εθνικού μας συστήματος υγείας. Υπολογίζεται ότι το 8% από το σύνολο των μεταγγίσεων της χώρας μας αξιοποιείται σε ασθενείς με αιμοσφαιρινοπάθειες. Οι χώρες με υψηλό ποσοστό εμφάνισης διαταραχών της αιμοσφαιρίνης παροτρύνονται από την παγκόσμια οργάνωση υγείας να ασχοληθούν με την πρόληψη και την θεραπεία αυτών των 2 παθήσεων. Παρ' όλα αυτά δεν έχουν δημιουργηθεί αποτελεσματικά προγράμματα πρόληψης

5. Διάγνωση αιμοσφαιρινοπαθειών

Για την διάγνωση της αιμοσφαιρινοπάθειας απαιτείται συνδυασμός του ιστορικού του ασθενούς, τα κλινικά ευρήματα καθώς και τεχνικές από το εργαστήριο. Οι πιο σύνηθες τεχνικές που χρησιμοποιούνται είναι οι εξής:

1. Γενική αίματος - δικτυοερυθροκύτταρα
2. Επίχρισμα περιφερικού αίματος
3. Ερυθροκυτταρικά έγκλειστα
4. Σίδηρος και φερριτίνη ορού
5. Ηλεκτροφόρηση αιμοσφαιρίνης
6. Ποσοτικός προσδιορισμός HbA₂, HbF, HbS, κ.λπ.
7. Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC)
8. Δοκιμασία δρεπάνωσης
9. Ωσμωτική αντίσταση ερυθροκυττάρων
10. Μοριακή διάγνωση DNA όπου απαιτείται.

Εκτός από τις παραπάνω τεχνικές διάγνωσης υπάρχουν και άλλες πιο ειδικές και γίνονται μόνο σε εξειδικευμένα εργαστήρια. Στην Μονάδα Πρόληψης της Μεσογειακής Αναιμίας και Δρεπανοκυτταρικής Νόσου του Ν. Καρδίτσας, χρησιμοποιήθηκαν κυρίως οι μέθοδοι της αξιολόγησης γενικής αίματος, της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) , της παρατήρησης ερυθροκυτταρικών εγκλείστων, του επιχρίσματος περιφερικού αίματος, της ηλεκτροφόρησης της αιμοσφαιρίνης και σε περιπτώσεις που ήταν απαραίτητο, στέλνονταν δείγματα για μοριακό έλεγχο στο Κέντρο Μεσογειακής Αναιμίας στην Αθήνα. Επίσης όπως αναφέρθηκε ανωτέρω στο Ν. Καρδίτσας υπάρχουν μεγάλα ποσοστά ετεροζυγωτών (φορέων) όλων σχεδόν των τύπων Αιμοσφαιρινοπαθειών.

Για να εξασφαλίσουμε την αξιοπιστία του αποτελέσματος είναι απαραίτητη η σωστή διαχείριση του δείγματός μας. Η λήψη αίματος γίνεται σε αντιπηκτικό. Στα νεογέννητα η

αιμοληψία γίνεται μέσω της παρακέντησης του δέρματος και με την λήψη ηπαρινισμένου τριχοειδούς σωληνάριου ή ακόμα και από τον ομφάλιο λώρο με μεγάλη προσοχή βέβαια.

Τα δείγματα είναι αναγκαίο η επεξεργασία τους να γίνεται εντός μιας εβδομάδας και πρέπει να τα αποθηκεύονται σε θερμοκρασία ψυγείου (4oC). Καταληκτικά, είναι σημαντικό να αναγράφονται όλα τα απαραίτητα στοιχεία του ασθενούς με ακρίβεια τόσο στο σωληνάριο που θα τοποθετηθεί το δείγμα, όσο και το παραπεμπτικό που το συνοδεύει.

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν στο εργαστήριο της Μονάδας Πρόληψης της Μεσογειακής Αναιμίας είναι οι ακόλουθοι:

1) Αξιολόγηση γενικής αίματος

Η γενική αίματος είναι η αρχή του εργαστηριακού ελέγχου σε όλες τις υποψίες για τυχόν αιμοσφαιρινοπάθειες. Οι παράγοντες που μας απασχολούν είναι:

ΓΕΝΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΑΙΜΑΤΟΣ

Ερυθρά αιμοσφαίρια (RBC)	4.15 M/μl	Φ.Τ.	4.20 - 5.40
Αιμοσφαιρίνη (HGB)	12.7 g/dL	Φ.Τ.	12.0 - 15.0
Αιματοκρίτης (HCT)	38.3 %	Φ.Τ.	37.0 - 45.0
Μέσος όγκος ερυθρών (MCV)	92.0 fl	Φ.Τ.	76 - 96
Μέση περιεκτικότητας αιμοσφαιρίνης (MCH)	30.6 pg/ερ	Φ.Τ.	27.0 - 32.0
Μέση πυκνότητας αιμοσφαιρίνης (MCHC)	33.2 g/dl	Φ.Τ.	32.0 - 36.0
Εύρος κατανομής ερυθρών (RDW)	11.0 %	Φ.Τ.	11.6 - 14.6
ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΕΡΥΘΡΩΝ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΩΝ			
Υποχρωμία	Στοχοκυττάρωση	Ανισοχρωμία	
Ανισοκυττάρωση	Πολυχρωματοφιλία	Εμπύρηντα ερυθρά	
Ποικιλοκυττάρωση	Βασεόφιλος στίξη	Μικροκυττάρωση	
Μακροκυττάρωση	Σφαιροκυττάρωση	Σχιστοκυττάρωση	
Λευκά αιμοσφαίρια (WBC)	8.2 K/μl	Φ.Τ.	4.0 - 10.0
Πολυμορφοπύρηντα ουδετερόφιλα	51.0 %	Φ.Τ.	50.0-80.0
Λεμφοκύτταρα	36.0 %	Φ.Τ.	20.0-45.0
Μεγάλα μονοπύρηντα	8.0 %	Φ.Τ.	2.0-10.0
Πολυμορφοπύρηντα ηωσινόφιλα	5.0 %	Φ.Τ.	0.0-5.0
Πολυμορφοπύρηντα βασεόφιλα	%	Φ.Τ.	0.0-2.0
Ραβδόπύρηντα	%	Φ.Τ.	
Αιμοπετάλια (PLT)	258 K/μl	Φ.Τ.	140 - 450
Αιμοπεταλιοκρίτης (PCT)	0.2 %	Φ.Τ.	0.170 - 0.350
Μέσος όγκος αιμοπεταλίων (MPV)	8.5 fl	Φ.Τ.	7.6 - 10.8
Εύρος κατανομής αιμοπεταλίων (PDW)	11.8 %	Φ.Τ.	15.5 - 17.5

Εικόνα 3: αξιολόγηση γενικής αίματος, εστιάζουμε μόνο στα ερυθρά αιμοσφαίρια γιατί αυτά μας απασχολούν και στις τιμές που μας δίνει

- Ο αριθμός των ερυθροκυττάρων (RBC)
- Ο αιματοκρίτης (Ht)
- Η αιμοσφαιρίνη (Hb)
- Μέσος όγκος ερυθροκυττάρων (MCV)
- Μέση ποσότητα αιμοσφαιρίνης ανά ερυθροκύτταρο (MCH)
- Το εύρος κατανομής του όγκου των ερυθροκυττάρων (RDWCV)

- Ο αριθμός των δικτυοερυθροκυττάρων (RTC ή ΔΕΚ)

Αιμοσφαιρίνη

Η αιμοσφαιρίνη περιγράφει την συνολική συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης στο αίμα και την μετράμε σε g/dl. Η αιμοσφαιρίνη μετράται σε σύγχρονους αιματολογικούς αναλυτές και σε αυτούς γίνεται η μετατροπή της αιμοσφαιρίνης σε κυανιομεθαιμοσφαιρίνη που είναι και η μέθοδος αναφοράς.

Αιματοκρίτης

Ο αιματοκρίτης αναγράφεται επί τοις % και υπολογίζεται έμμεσα από τον αριθμό και τον μέσο όγκο των ερυθροκυττάρων.

Μέσος όγκος ερυθροκυττάρων (MCV)

Ο MCV είναι ο δείκτης εκτίμησης του όγκου των ερυθροκυττάρων και υπολογίζεται ως λόγος του HCT προς τον αριθμό των ερυθροκυττάρων. Να σημειωθεί πως στους αναλυτές ο MCV και ο αιματοκρίτης εξάγονται διαφορετικά. Συνδέουν τον γεωμετρικό τους όγκο με με κάθε σήμα που μετράνε σε κάθε ερυθρό αιμοσφαίριο. Έπειτα γίνεται στατιστική ανάλυση των παλμών που συγκεντρώνονται από μεγάλο αριθμό ερυθρών κυττάρων.

Μέση συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης στο ερυθρό αιμοσφαίριο (MCHC)

Η MCHC είναι ο δείκτης του μέτρου της υποχρωμίας στα ερυθρά κύτταρα και υπολογίζεται ως ο λόγος της αιμοσφαιρίνης προς το φυγοκεντρικό αιματοκρίτη.

Μέση ποσότητα αιμοσφαιρίνης ανά ερυθρό κύτταρο (MCH)

Η MCH είναι ο πιο αξιόπιστος δείκτης για το μέτρο της υποχρωμίας στα ερυθρά αιμοσφαίρια και υπολογίζεται ως ο λόγος της αιμοσφαιρίνης προς τον αριθμό των ερυθροκυττάρων.

Το εύρος κατανομής των ερυθροκυττάρων (RDW)

Το RDW εκφράζει εάν τα ερυθρά κύτταρα εμφανίζουν ομοιογένεια ή ετερογένεια σχετικά με τον όγκο τους. Αν αυξηθεί το εύρος κατανομής των ερυθροκυττάρων τότε δηλώνει πως υπάρχει διπλός ερυθροκυτταρικός πληθυσμός, πιο συγκεκριμένα υπάρχει ανισοκυττάρωση.

Μέτρηση των δικτυοερυθροκυττάρων (ΔΕΚ)

Η μέτρηση των δικτυοερυθροκυττάρων γίνεται στους σύγχρονους αναλυτές με τη χρήση φθοριοχρώματος το οποίο συνδέεται με το ριβοσωμικό RNA και μετράται η ένταση του φθορισμού ή με τη χρήση κυανού του μεθυλενίου το οποίο προκαλεί καθίζηση του δικτύου και

μπορεί να ανιχνεύσει τη μεταβολή αντίστασης, αγωγιμότητας και σκεδασμού ή με τη χρήση κυτταροχημικής χρώσης του RNA με οξαζίνη 750 η οποία ανιχνεύεται με σκεδασμό.

2) Επίχρισμα περιφερικού αίματος



Η παρατήρηση του επιχρίσματος συντελεί στην διαγνωστική προσέγγιση της αιμοσφαιρινοπάθειας. Με την βοήθεια του επιχρίσματος περιγράφεται αν υπάρχει ή όχι υποχρωμία, πολυχρωμία, μικροκυττάρωση, μικροποικιλοκυττάρωση, στοχοκύτταρα, αλλαντόμορφα ερυθροκύτταρα, δρεπανοκύτταρα, βασεόφιλη στίξη, καθώς μπορούμε να εντοπίσουμε και αν υπάρχουν εμπύρηννα ερυθρά κύτταρα.

Στην περίπτωση που υπάρχουν διπλοί ερυθροκυτταρικοί πληθυσμοί τότε αναφερόμαστε σε σιδηροπενική αναιμία καθώς αποτελεί δείκτης της, αντίθετα αν υπάρχουν ομοιογενείς πληθυσμοί τότε αναφερόμαστε σε δείκτη για ετερόζυγη β-θαλασσαιμία. Στην περίπτωση στοχοκυττάρων τότε αναφερόμαστε σε θαλασσαιμίες και όχι σε σιδηροπενία.

Ερυθροκυτταρικά έγκλειστα

Η αναζήτηση και η μελέτη ερυθροκυτταρικών εγκλείστων γίνεται σε τρεις περιπτώσεις:

- Στην περίπτωση που υπάρχει υποψία για την αιμοσφαιρινοπάθεια Η ή στην ηλεκτροφόρηση βρέθηκε ταχύ κλάσμα στην θέση της αιμοσφαιρινοπάθειας Η.
- Στην περίπτωση ετεροζυγωτών α- Θαλασσαιμίας.
- Στην περίπτωση υποψίας ύπαρξης πιθανής ασταθούς αιμοσφαιρίνης.

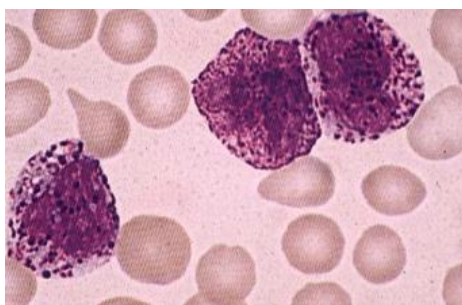
Για την δεύτερη περίπτωση είναι απαραίτητη με τη διαγνωστική συμβολή των εγκλείστων και ο μοριακός έλεγχος (DNA). Τα έγκλειστα της αιμοσφαιρινοπάθειας Η διαφέρουν στην περίπτωση που τα άτομα έχουν κάνει σπληνεκτομή. Στα άτομα που έχουν υποστεί σπληνεκτομή τα έγκλειστα παρουσιάζουν μορφή ίδια με τη μορφή των εγκλείστων heinz, ενώ

στα άτομα που δεν έχουν υποστεί σπληνεκτομή τα έγκλειστα είναι μικρά, στρογγυλά, έχουν χρώμα μπλε και σαν γενική εικόνα θυμίζει μπάλα του γκόλφ.

Τα ερυθροκυτταρικά έγκλειστα συνήθως εντοπίζονται χρησιμοποιώντας έμβιες χρώσεις εκτός από τις περιπτώσεις βασεόφιλης στίξης, σωματίων Howell-Jolly και σωματίων Pappenheimer που γίνεται χρήση χρώσης May-Grunwald-Giemsa (εικόνα 5).

Βασεόφιλη στίξη

Η βασεόφιλη στίξη (εικόνα 4) είναι η παθολογική καθίζηση ριβοσωμάτων. Παρουσιάζεται κυρίως στις θαλασσαιμίες, στη μεγαλοβλαστική αναιμία, σε δικτυοερυθροκυτταρώσεις, σε δηλητηριάσεις από μόλυβδο, στα μυελοϋπερπλαστικά και λεμφοϋπερπλαστικά σύνδρομα, στις λοιμώξεις και γενικά στις χρόνιες αιμολυτικές αναιμίες.



Εικόνα 4: Βασεόφιλος στίξη

Σωματία Howell-Jolly

Είναι σφαιρικά σωματία και αντιστοιχούν ένα έως τρία ανά ερυθρό αιμοσφαίριο. Είναι αποτελούμενα από πυρηνική χρωματίνη και τα παρατηρούμε έντομα μετά από σπληνεκτομή συνήθως και σε περιπτώσεις με έντονη ερυθροποίηση. Κάποιες από αυτές τις περιπτώσεις είναι οι θαλασσαιμίες, η μεγαλοβλαστική αναιμία και οι χρόνιες αιμολυτικές αναιμίες.

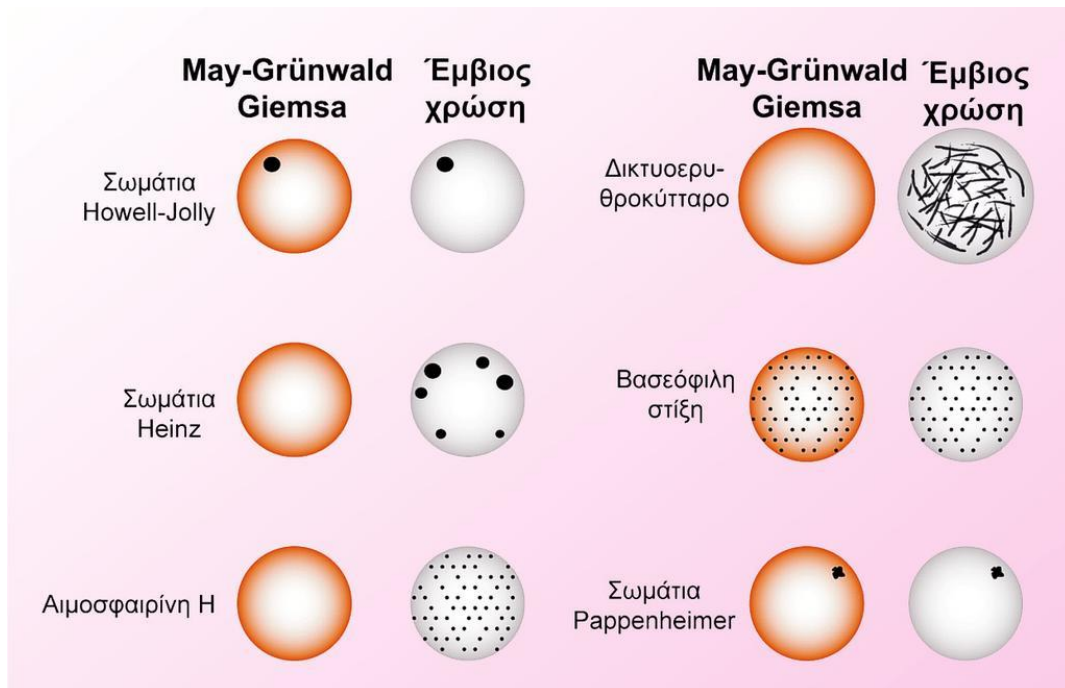
Σωματία Heinz

Είναι το τελικό αποτέλεσμα της αποικοδόμησης της αιμοσφαιρίνης και προκύπτει από οξειδωτικές βλάβες στην αιμοσφαιρίνη. Είναι επίσης σφαιρικά και υπάρχουν από ένα ή πιο πολλά ανά ερυθρό αιμοσφαίριο, συνήθως από τρία έως πέντε και τα βρίσκουμε στην κυτταρική μεμβράνη. Τα συγκεκριμένα έγκλειστα είναι ορατά μόνο με τη χρήση έμβιων χρωστικών.

Σωματία Pappenheimer

Είναι κοκκία αιμοσιδηρίνης τα οποία εντοπίστηκαν αρχικά στα ερυθρά αιμοσφαίρια του περιφερικού αίματος. Αποτελούνται από τρισθενή σίδηρο, λιπίδια, πρωτεΐνη και υδατάνθρακες. Τα ερυθρά κύτταρα που έχουν αυτά τα κοκκία τα ονομάζουμε σιδηροκύτταρα.

Υπο φυσιολογικές συνθήκες τα σωμάτια Pappenheimer δεν τα εντοπίζουμε στο περιφερικό αίμα αλλά παρατηρούνται στην περίπτωση αφού έχει υποστεί το άτομο σπληνεκτομή.



Εικόνα 5: Σύγκριση ερυθροκυτταρικών εγκλείστων σε έμβια χρώση και σε χρώση May-Grünwald-Giemsa

3) Ηλεκτροφόρηση αιμοσφαιρίνης



Για την άμεση ανίχνευση και χαρακτηρισμό των διαφόρων αιμοσφαιρινοπαθειών, ηλεκτροφόρηση της αιμοσφαιρίνης είναι μια από τις πιο συνηθισμένες τεχνικές. Κάθε αιμοσφαιρίνη έχει ένα συγκεκριμένο ηλεκτρικό φορτίο, έτσι στην περίπτωση αλλαγής ενός μόνο αμινοξέος στην πολυπεπτιδική αλυσίδα μπορεί να αλλάξει το ηλεκτρικό φορτίο. Το ρεύμα, μπορεί να εφαρμοστεί σε φίλτρο χαρτιού ή σε γέλη κιτρικής αγαρόζης ή σε γέλη αμύλου ή σε οξική κυτταρίνη στα οποία κάθε αιμοσφαιρίνη μετακινείται με ορισμένη ταχύτητα. Όσο

μεγαλύτερο είναι το ηλεκτρικό φορτίο της αιμοσφαιρίνης τόσο πιο αργά κινείται η αιμοσφαιρίνη και αντιστρόφως. Για να εντοπίσουμε τα κλάσματα στη συνέχεια ακολουθεί βάψιμο με ειδική χρωστική. Η συσκευή της ηλεκτροφόρησης αποτελείται από 2 μέρη, την ηλεκτροφορητική λεκάνη και τη συσκευή παροχής ρεύματος με την οποία μπορούμε να ρυθμίσουμε το παρεχόμενο ηλεκτρικό ρεύμα. Η ηλεκτροφορητική λεκάνη είναι χωρισμένη σε 2 θαλάμους, οι οποίοι είναι γεμάτοι μέχρι ένα σημείο με απαραίτητο διάλυμα. Η συσκευή παροχής είναι συνδεδεμένη με ηλεκτρόδια σε κάθε ηλεκτροφορητικό θάλαμο. Την ταινία ηλεκτροφόρησης την τοποθετούμε με τέτοιο τρόπο ώστε τα 2 άκρα της να βυθίζονται μέσα στο διάλυμα των 2 ηλεκτροφορητικών θαλάμων.

Η συλλογή του αίματος γίνεται με τη φλεβική παρακέντηση σε σωληνάριο γενικής αίματος. Το δείγμα του αίματος διατηρείται εντός ψυγείου στους 4 βαθμούς κελσίου και πρέπει να χρησιμοποιηθεί εντός μιας εβδομάδας. Στην περίπτωση που διατηρηθεί για περισσότερο χρόνο οδηγεί στη μετουσίωση της αιμοσφαιρίνης και είναι λιγότερο διακριτή στις ταινίες. Η χρήσιμη διαδικασία ηλεκτροφόρησης γίνεται σε οξική κυτταρίνη και σε αλκαλικό pH. Η διαδικασία αυτή επιτρέπει τον διαχωρισμό των πιο πολλών αιμοσφαιρινών.

Το αιμόλυμα είναι επιρρεπές στην οξείδωση. Μπορεί, διατηρηθεί εντός ψυγείου (4⁰C) και να χρησιμοποιηθεί μέσα σε μία εβδομάδα, Σε περίπτωση που επιζητείται μακροχρόνια διατήρηση του αιμολύματος ή σε περιστατικά με υποψία HbH χρησιμοποιείται αποκλειστικά διάλυμα τετραχλωράνθρακα ή χλωροφορμίου, διαφορετικά θα ανιχνευθεί πολύ λιγότερη HbH και η διάγνωση θα διαφύγει. Στην περίπτωση αυτή το αιμόλυμα διατηρείται σταθερό 1 μήνα στους 4⁰C και 3 μήνες στους -20⁰C. Η παρασκευή του αιμολύματος γίνεται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή του εμπορικού kit που χρησιμοποιείται. Τα υλικά και τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται, εκτός από τη συσκευή ηλεκτροφόρησης, είναι ταινίες από γέλη και ειδικά διαλύματα, όπως buffer (pH 6.0-6.2), alkaline buffer (pH 8.2-8.6), οξικό οξύ χρωστική amidoblack buffer ή μπλε χρωστική ή άλλη χρωστική.

Σε αλκαλικό PH όλες οι αιμοσφαιρίνες έχουν αρνητικό φορτίο, ενώ σε όξινο PH έχουν θετικό φορτίο. Με την τεχνική αυτή διαχωρίζονται οι αιμοσφαιρίνες, όχι μόνο λόγω ηλεκτρικού φορτίου, αλλά και λόγω της αντίδρασής τους με τα στοιχεία που απαρτίζουν το άμυλο, την αγαρόζη ή την κυτταρίνη ανάλογα με το είδος της ταινίας που χρησιμοποιείται.

Η χρήσιμη και άμεση διαδικασία ηλεκτροφόρησης γίνεται σε οξική κυτταρίνη και σε αλκαλικό PH (8.2-8.6). Η διαδικασία αυτή επιτρέπει το διαχωρισμό των περισσότερων αιμοσφαιρινών. Εφόσον χρησιμοποιείται χρωστική που βάφει γενικά τις πρωτεΐνες και όχι συγκεκριμένα την αίμη, τότε μαζί με τις άλλες ταινίες εμφανίζεται η ανθρακική ανυδράση (carbonic anhydrase)

με τη μορφή ταινίας λίγο πίσω από το σημείο εφαρμογής του αιμολύματος στο βύθισμα της ταινίας.

Η ανθρακική ανυδράση είναι ένζυμο των ερυθροκυττάρων που καταλύει τη μετατροπή του διοξειδίου του άνθρακα και του νερού σε ανθρακικό οξύ (H_2CO_3), δεύτερη σε ποσότητα πρωτεΐνη μέσα στο ερυθροκύτταρο μετά την αιμοσφαιρίνη. Εναλλακτικά στη θέση της οξικής κυτταρίνης μπορεί να χρησιμοποιηθεί η γέλη αγαρόζης, που είναι λιγότερο εύχρηστη και περισσότερο δαπανηρή. Σε φυσιολογική ταινία φαίνεται μόνο ένα κλάσμα της HbA και δύσκολα ξεχωρίζει η HbA2 γιατί υπάρχει σε πολύ χαμηλή πυκνότητα. Η αλκαλική ηλεκτροφόρηση διακρίνει αποτελεσματικά τις φυσιολογικές αιμοσφαιρίνες A, A2 και F, και τις παθολογικές αιμοσφαιρίνες S και C.

Η ηλεκτροφόρηση σε όξινο PH (6.0-6.2) γίνεται σε κιτρικό άγαρ ή γέλη αγαρόζης. Σε φυσιολογική ταινία φαίνεται μόνο ένα κλάσμα που περιλαμβάνει μαζί την HbA και την HbA2. Η ηλεκτροφόρηση σε όξινο PH διαχωρίζει την HbC από την HbE, την HbC-Harlem και την HbO-Arab. Διακρίνει επίσης τις αιμοσφαιρίνες O και G, από τις S και E..

Ηλεκτροφόρηση σε όξινο PH επιβάλλεται σε περιστατικά με υποψία αιμοσφαιρίνης με υψηλή ικανότητα δέσμευσης οξυγόνου, ακόμη και όταν η ηλεκτροφόρηση σε αλκαλικό PH είναι φυσιολογική, δεδομένου ότι οι αιμοσφαιρίνες αυτές έχουν παθολογική κινητικότητα μόνο σε όξινο PH.

4) Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC)



Η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC-high performance liquid chromatography) χρησιμοποιείται σε εργαστήρια με μεγάλο φόρτο εργασίας. Κατά τη διαδικασία της HPLC ένα μείγμα αιμοσφαιρινών (φυσιολογικών και παθολογικών), οι οποίες έχουν καθαρά αρνητικό φορτίο, διαχωρίζεται στις επί μέρους αιμοσφαιρίνες μετά από προσρόφησή τους σε θετικά φορτισμένη σταθερή φάση μίας χρωματογραφικής στήλης. Μία τυπική στήλη αποτελείται από σφαιρίδια γέλης πυριτίου μεγέθους περίπου 5 μm, η επιφάνεια των οποίων έχει τροποποιηθεί με καρβοξυλικές ομάδες, έτσι ώστε να έχει ασθενές θετικό φορτίο. Μετά τη δέσμευσή τους οι αιμοσφαιρίνες εκλούνται με τη βοήθεια ενός ρυθμιστικού διαλύματος buffer που ρέει συνεχώς κατά μήκος της στήλης (κινητή φάση) και το οποίο ανταγωνίζεται τα θετικά ιόντα της στήλης με αυτόματη και συνεχή αλλαγή της ιοντικής του ισχύος. Έτσι, οι προσροφημένες αιμοσφαιρίνες εκλούνται από τη στήλη μέσα στην κινητή φάση, με μία ταχύτητα που εξαρτάται από τη συγγένεια τους με τη σταθερή φάση. Μετά το διαχωρισμό τους οι αιμοσφαιρίνες ανιχνεύονται οπτικά μέσα στο υγρό έκλουσης με ανιχνευτή υπεριώδους ακτινοβολίας, ανάλογα με το χρόνο έκλουσης της κάθε μίας και στη συνέχεια εκτιμώνται ποσοτικά με την υπολογιστική μέτρηση της αντίστοιχης κορυφής.

Στην αυτόματη μέθοδο η διαδικασία είναι αποτελεσματική με τη χρήση ειδικών στηλών, αντλιών υψηλής απόδοσης και οπτικών ανιχνευτών. Ο βαθμός έκλουσης υπολογίζεται σε λεπτά και είναι γνωστός ως retention time. Η όλη διαδικασία υποστηρίζεται από κατάλληλο υπολογιστικό και λειτουργικό σύστημα. Η HPLC χρησιμοποιείται για την ποσοτική μέτρηση των αιμοσφαιρινών A, A2, F, S, C, O-Arab, D-Punjab και G-Philadelphia.

Σε σύγκριση με την κλασική ηλεκτροφόρηση αιμοσφαιρίνης, η HPLC έχει τα παρακάτω πλεονεκτήματα:

- Όλη η τεχνική είναι λιγότερο επίπονη και χρονικά συντομότερη, δεν απαιτεί ιδιαίτερα εξειδικευμένο προσωπικό και επομένως επιτυγχάνεται η διεκπεραίωση μεγάλου αριθμού περιστατικών σε σύντομο χρονικό διάστημα

- Μικρή ποσότητα δείγματος (5 μl) είναι επαρκής για την ανάλυση, γεγονός ιδιαίτερα χρήσιμο σε μικρούς ασθενείς
- Επιτυγχάνεται η ανίχνευση περισσότερων παθολογικών αιμοσφαιρινών
- Ο ποσοτικός προσδιορισμός τόσο των φυσιολογικών όσο και των παθολογικών αιμοσφαιρινών γίνεται από το ίδιο δείγμα
- Επιτρέπει την ανίχνευση παραλλαγών της HbA2 (α και β), διευκολύνοντας έτσι τη σωστή διάγνωση της ετερόζυγης β θαλασσαιμίας στην περίπτωση που υπάρχει παραλλαγή της δ αλυσίδας
- Δεδομένου ότι η HbA2 μετράται ποσοτικά, η διάγνωση της ετερόζυγης β-Θαλασσαιμίας επιτυγχάνεται σε ένα στάδιο, αποφεύγοντας έτσι την ηλεκτροφόρηση και τη χρωματογραφία σε στήλες ρητίνης

Αναφορικά με τα δείγματα στα οποία απαιτείται μοριακός έλεγχος (DNA- PCR), αυτά παραπέμπονται στο Κέντρο Εμπειρογνωμοσύνης Αιμοσφαιρινοπαθειών, από όλες τις περιφερειακές Μονάδες. Αυτό αφορά το 5 έως 7% των δειγμάτων που ελέγχουμε και συγκεκριμένα:

- Αφορά ζευγάρια τα οποία είναι φορείς βαριών μεταλλάξεων π.χ β- M.A. ή αιμοσφαιρίνης S και απαιτείται περαιτέρω προγεννητικός έλεγχος και ανάλογα με το αποτέλεσμα ελέγχου του εμβρύου, συνιστάται και η διακοπή κύησης (25% N. Medel).
- Σε περιπτώσεις ταυτοποίησης ήπιων μεταλλαγών.

5) Μοριακή διάγνωση αιμοσφαιρινοπαθειών (DNA)

Οι αιμοσφαιρινοπάθειες αποτελούν μονογονιδιακά νοσήματα, με μεγάλη ετερογένεια σε μοριακή βλάβη. Πρόκειται πάντα για μεταλλάξεις, μέσα ή γύρω από τα γονίδια, οι οποίες μπορεί να είναι σημειακές μεταλλάξεις, μικρές ή μεγαλύτερες ελλείψεις, διπλασιασμοί, προσθήκες, πολυμορφισμοί κ.λπ. Η έμμεση εντόπιση των μεταλλάξεων έδωσε πολύ γρήγορα τη θέση της στη μέθοδο PCR (polymerase chain reaction), η οποία δίνει τη δυνατότητα άμεσης αναγνώρισης της μετάλλαξης. Τα βασικότερα πλεονεκτήματα της μεθόδου PCR είναι τα παρακάτω:

- Δεν υπάρχει ανάγκη ανάλυσης δειγμάτων των γονέων ή ενδεχομένως άλλων μελών της οικογένειας
- Το αποτέλεσμα κοινοποιείται γρήγορα

- Η εξέταση γίνεται τις πρώτες εβδομάδες της κύησης, συνήθως με λήψη τροφοβλάστη την 11η εβδομάδα ή με αμνιοπαρακέντηση έως την 16η εβδομάδα, και έτσι μειώνεται αισθητά, στην πρώτη περίπτωση, η ψυχολογική, αλλά και η σωματική επιβάρυνση της μητέρας από την προχωρημένη διακοπή της κύησης.

5.1 Τεχνικές διάγνωσης στη Μονάδα Πρόληψης Μεσογειακής Αναιμίας και Δρεπανοκυτταρικής Νόσου στο Ν. Καρδίτσας

Ιστορικό ασθενούς-Γενική αίματος

Όταν ένα ζευγάρι έρχεται στην Μονάδα για την εξέταση και τη διάγνωση για τυχόν ύπαρξη Θαλασσαιμίας ή Δρεπανοκυτταρικής Νόσου το πρώτο βήμα είναι η λήψη των στοιχείων του καθένα ξεχωριστά. Πιο αναλυτικά αυτά που ερωτώνται είναι τα εξής:

- Ονοματεπώνυμο δικό τους και του συντρόφου αντίστοιχα
- Ηλικία
- Αν η γυναίκα εγκυμονεί
- Διεύθυνση και τηλέφωνο
- Τόπος καταγωγής
- Επάγγελμα (για στατιστικούς λόγους)
- Αν υπάρχουν αδέρφια και γονείς, οι οποίοι πάσχουν ή είναι φορείς
- Αν τα αδέρφια τους είναι παντρεμένα και έχουν παιδιά και πάσχουν ή είναι φορείς επίσης

Χρειάζεται να γίνει εξονυχιστική διερεύνηση του ιστορικού του εξεταζόμενου για να καλυφθεί κάθε ενδεχόμενο για την εμφάνιση Θαλασσαιμίας ή Δρεπανοκυτταρικής Νόσου, πριν προκύψει εγκυμοσύνη.

Έπειτα γίνεται αιμοληψία του εξεταζόμενου συνήθως στην μονάδα Πρόληψης Μεσογειακής Αναιμίας και Δρεπανοκυτταρικής Νόσου και όχι σε κάποια άλλη μονάδα. Η αιμοληψία γίνεται με σύριγγα 5 ml και μετά το αίμα το τοποθετούμε σε σωληνάρια γενικής αίματος των 2,5 ml τα οποία περιέχουν αντιπηκτικό για να μην πήξει το αίμα. Στη συνέχεια στρώνουμε δυο αντικειμενοφόρες πλάκες με τις δυο τελευταίες σταγόνες που έχουν μείνει στη σύριγγα. Οι πλάκες αυτές επεξεργάζονται για χρώση May-Grunwald-Giemsa.

Χρώση May-Grunwald-Giemsa

Για την χρώση των πλακών ακολουθούμε τα εξής βήματα:

1. Μονιμοποίηση των πλακιδίων με μεθανόλη (Methyl alcohol) επί 6 λεπτά.

2. Επίστρωση με May-Grunwald επί 10 λεπτά και έπειτα απόρριψη χρωστικής (όχι έκπλυση)
3. Επίστρωση με Giemsa επί 45 λεπτά. "Η Giemsa διηθείτε πριν τη χρήση της".
4. Έκπλυση με νερό — στέγνωμα στην ατμόσφαιρα του εργαστηρίου.

Για την Παρασκευή χρωστικής May-Grunwald

100 ml May-Grunwald + 100 ml Buffer αραιό (ποσότητα για 30 πλακάκια)

Για την Παρασκευή χρωστικής Giemsa

2,8 ml Giemsa + 100 ml Buffer αραιό (ποσότητα για 15-20 πλακάκια)

Παρασκευή αραιού Buffer

Αραίωση 10% (για 500 ml χρησιμοποιούνται 450 αποσταγμένο ml H₂O και 50 ml πυκνό Buffer)

Παρασκευή πυκνού Buffer

500 ml H₂O

1,625 gr Na₂HPO₄ 2H₂O (Διένυδρο μονόξινο φωσφορικό νάτριο)

3,315 gr KH₂PO₄ (δισόξινο φωσφορικό κάλιο)

Παρατηρήσεις

- Η επίστρωση αίματος στην αντικειμενοφόρο πρέπει να γίνεται από την σύριγγα της αιμοληψίας και μετά από την απόρριψη της πρώτης σταγόνας.
- οι χρωστικές που χρησιμοποιούνται πρέπει να έχουν παρασκευαστεί με πρόσφατη αραίωση.

Μέθοδος Παρασκευής Εγκλείστων

Παρασκευή χρωστικών

Βάζουμε από το βράδυ 150 ml φυσιολογικό ορό στο υδατόλουτρο (37⁰C) να ζεσταθεί. Παίρνουμε 100 ml από αυτό και διαλύουμε 1 gr χρωστικής Melhyl Violet, στην συνέχεια αναδεύουμε στο Shaker για 8 ώρες (από το πρωί μέχρι το μεσημέρι). Στη συνέχεια τη βάζουμε στο υδατόλουτρο (37⁰C) για 24 ώρες αφού την σκεπάσουμε από πάνω. Την άλλη μέρα την ξαναχτυπούμε στο Shaker για άλλες 8 ώρες και τη διηθούμε 2-3 φορές. Βάζουμε

μια σταγόνα σε ένα πλακάκι, επιστρώνουμε και βλέπουμε αν έχει κόκκους. Αν έχει την αναδεύουμε ξανά στο Shaker και τη διηθούμε μέχρι να είναι έτοιμη για χρήση.

Παρασκευή NaNO₂

Διαλύουμε 1,280 mgr NaNO₂ σε 100 ml αποσταγμένο νερό

Παρασκευή εγκλείστων χωρίς επώαση

Αριθμούμε αίματα και σωληνάρια (τα νούμερα του αίματος αντιστοιχούν με αυτά στα σωληνάρια). Βάζουμε στα σωληνάρια μια σταγόνα από το αίμα και μια σταγόνα χρωστικής. Τα ανακινούμε καλά και τα αφήνουμε για 3() λεπτά. Μετά σε πλακάκια που έχουμε βάλει το νούμερο που αντιστοιχεί στο αίμα και στο αντίστοιχο σωληνάριο βάζουμε και ένα X. που σημαίνει χωρίς επώαση και επιστρώνουμε από μια σταγόνα σε δύο πλακάκια.

Παρασκευή έγκλειστων με επώαση

Παίρνουμε 0,5 ml αίμα και τοποθετούμε στο αντίστοιχο σωληνάριο. Προσθέτουμε και 0,1 ml NaNO₂. Τα ανακινούμε και τα βάζουμε στο υδατόλουτρο (37C) για 30 λεπτά, αφού πρώτα τα καλύψουμε με παραφιλμ. Μετά χωρίς να ανακινήσουμε παίρνουμε το ίζημα και βάζουμε μια σταγόνα στο αντίστοιχο καινούργιο σωληνάριο και προσθέτουμε μια σταγόνα χρωστικής. Τα ανακινούμε και τα αφήνουμε να ηρεμίσουν για 30 λεπτά. Στρώνουμε σε 3 πλακάκια από μια σταγόνα. Πιο πριν έχουμε βάλει το αντίστοιχο νούμερο και το γράμμα M που σημαίνει με επώαση.

Παρατηρήσεις

- Σε όλες τις περιπτώσεις εγκλείστων χρησιμοποιούμε το ίδιο αίμα και με επώαση και χωρίς επώαση.
- Στη β-Μεσογειακή αναιμία έχουμε έλλειψη β-αλυσίδων, έτσι παραμένουν αδέσμευτες α-αλυσίδες οι οποίες είναι ορατές ως έγκλειστα με την μορφή μικρών κοκκίων ή μικρών άμορφων μαζών που έχουν χρώμα ιώδεις. (χφ)Δύς επώαση)
- Στην α-Μεσογειακή αναιμία έχουμε έλλειψη α-αλυσίδων, έτσι παραμένουν αδέσμευτες οι β-αλυσίδες οι οποίες είναι ορατές ως έγκλειστα με την μορφή κοκκίων ή βόλων με Ιώδη χροιά. (με επώαση)

Για την ηλεκτροφόρηση

Για τις ταινίες κυτταρίνης (κάθε νούμερο είναι και ένα διαφορετικό δοχείο)

1. Όπως ανοίγουμε τις ταινίες κυτταρίνης τις τοποθετούμε σε διάλυμα με 30 ml CH₃OH και 70 ml H₂O για διατήρηση.
2. Βγάζοντας τις ταινίες από το διάλυμα τις ρίχνουμε, για ελάχιστο χρόνο 30 λεπτά, στο Buffer εργασίας πριν τις χρησιμοποιήσουμε.

Το Buffer εργασίας αποτελείται από :

- 3 gr Tris (Tris C₄H₁₁NO₃) Tris (hydroxymethyl) – aminomethane
- 0,39 gr EDTA(αντιπηκτικό)
- 2,5 gr H₃BO₃
- Σε 1 λίτρο H₂O

Στην συνέχεια τοποθετούνται πάνω στην ταινία τα δείγματα του αίματος που πρόκειται να ηλεκτροφορηθούν και αφού βγει η ταινία από την ηλεκτροφόρηση τοποθετείτε στα ακόλουθα δοχεία.

3. light-green (500 mg) για 3 λεπτά σε
 - 50 ml CH₃OH
 - 10 ml CH₃COOH
 - 40 ml H₂O
4. Για το ξέπλυμα των ταινιών από την χρωστική του δοχείου 3. Περιέχει 50 ml CH₃COOH και 450 ml H₂O.
5. Ίδιο με το δοχείο 4, και χρησιμοποιείται και αυτό για το ξέπλυμα της ταινίας.

Αιμόλυμα για την ηλεκτροφόρηση

- Σε μικρά σωληνάρια βάζουμε 4 ml Celloge I (NaNO₂ + NaCl)
- Προσθέτουμε στη συνέχεια 0,2 ml αίμα με πιπέτα
- Φυγοκεντρούμε στις 2000 στροφές επί 5 λεπτά
- Γίνεται απόρριψη του υπερκείμενου
- Πλύσιμο ερυθρών με διάλυμα Celloge II
- Προσθέτουμε H₂O ίσο προς το 1/10 της Hb του κάθε δείγματος αίματος που βρέθηκε από την γενική εξέταση αίματος.

- Ανακίνηση στο Shaker για 20 λεπτά
- Ηλεκτροφόρηση (οι ταινίες κυτταρίνης τοποθετούνται από το λείο μέρος τους κάτω και η ηλεκτροφόρηση γίνεται στα 240 Volts).

Χρωματογραφία

Η χρωματογραφία γινόταν αυτόματα με τη μέθοδο HPLC στο μηχάνημα ADAMS AIC HA-8160 το οποίο μας έδινε τις τιμές των αλυσίδων των αιμοσφαιρινών του κάθε δείγματος.

6. Θαλασσαιμία - Μεσογειακή Αναιμία

6.1 Ορισμός

Η μεσογειακή αναιμία αποτελεί την πιο συνήθη ανθρώπινη κληρονομούμενη μονογονιδιακή διαταραχή, η οποία χαρακτηρίζεται από μια ομάδα παθήσεων της σύνθεσης της αιμοσφαιρίνης, όπου μειώνονται τα επίπεδα σύνθεσης της αλυσίδας α ή της β αλυσίδας λόγω κάποιας μετάλλαξης. Λόγω της μείωσης αυτής προκαλείται αλλοίωση στην αναλογία α:β. Στη θαλασσαιμία δημιουργούνται ανώμαλα ερυθρά κύτταρα με μικρή περίοδο ζωής στο στάδιο της ερυθροποίησης. Μάλιστα σε κάποιες περιπτώσεις αυτή η περίοδος μπορεί να είναι και πιο μικρή από 20 ημέρες. Η μεσογειακή αναιμία διακρίνεται σε α- Μεσογειακή και β- Μεσογειακή ανάλογα με το γονίδιο αιμοσφαιρίνης το οποίο έχει υποστεί κάποια τροποποίηση, υπάρχουν επίσης και άλλες μορφές οι οποίες είναι πιο σπάνιες, όπως η γ-θαλασσαιμία, η δ- Θαλασσαιμία και η δβ- Θαλασσαιμία. Η β- Μεσογειακή αναιμία είναι πιο συχνή από την α- Μεσογειακή και παρατηρείται πιο βαριά κλινική εικόνα. Η β- Μεσογειακή διακρίνεται σε ετερόζυγη ή ομόζυγη μείζων β- Μεσογειακή αναιμία.

6.2 Ιστορική αναδρομή

Η πρώτη διάγνωση αιμοσφαιρινοπάθειας πραγματοποιήθηκε το 1910 από τον Herrick, πιο ειδικά η πρώτη διάγνωση που έγινε, ήταν της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας σε ένα παιδί από την Αφρική. Το 1923 παρατηρήθηκε πώς οι αιμοσφαιρινοπάθειες αποτελούν κληρονομικές νόσους, ωστόσο το 1925 οι Cooley και Lee σύνδεσαν την ύπαρξη βαριάς μορφής αναιμίας με τις μεταλλάξεις που παρουσιάστηκαν στα κόκκαλα και τη σπληνομεγαλία. Ουσιαστικά το 1925 αναφέρθηκαν στην νόσο πρώτη φορά κλινικά και αργότερα το 1932, έδωσε την ονομασία θαλασσαιμία στη νόσο ο Whipple.

Το αίτιο που μπορεί να προκύψει η αναιμία εντοπίστηκε από τους Pauling και Itano το 1949, που κατάφεραν να συσχετίσουν τη δρεπανοκυτταρική αναιμία με την εμφάνιση μιας ανώμαλης ηλεκτροφορητικά αιμοσφαιρίνης.

Στην Ελλάδα αναφέρθηκε για πρώτη φορά από τους Μανίκα και Σπηλιόπουλο το 1933. Η Μεσογειακή αναιμία ξεκίνησε να μελετάται περισσότερο από το 1949 και μετά, αφού έγινε η ανάλυση της σύνθεσης του μορίου της αιμοσφαιρίνης και αποδείχθηκε πως οι παθολογικές αιμοσφαιρίνες αποτελούν αιτία για συγκεκριμένες αναιμίες. Τα πρώτα χρόνια που ο Cooley ασχολήθηκε με την κλινική εικόνα πασχόντων Μεσογειακής Αναιμίας, οι πάσχοντες τότε πέθαιναν, πριν ολοκληρώσουν τα 20 έτη ζωής γιατί δεν είχε αναγνωριστεί η παθοφυσιολογία της νόσου, καθώς και οι πιθανοί τρόποι θεραπείας. Στην Ελλάδα οι ασθενείς αγγίζουν τους 3.000 και άνω, ενώ το 8% (πανελλαδικά και στην περίπτωση τον Ν. Καρδίτσας πολύ μεγαλύτερο ποσοστό όπως αναφέρθηκε ανωτέρω) του πληθυσμού περίπου πάσχουν από στίγμα Μεσογειακής Αναιμίας.

6.3 Α- Μεσογειακή Αναιμία

Οι α- Θαλασσαιμίες περιλαμβάνουν κληρονομικά νοσήματα τα οποία έχουν ως χαρακτηριστικό την πλήρη έλλειψη ή την μειωμένη παραγωγή της αιμοσφαιρινικής αλυσίδας α. Η νόσος κληρονομείται με τον υπολειπόμενο αυτοσωμικό χαρακτήρα με απλότυπο αα/αα. Η αλυσίδα α είναι το πιο αναγκαίο συστατικό όλων των αιμοσφαιρινών από τον δεύτερο μήνα εγκυμοσύνης μέχρι και την ενήλικη ζωή, συνεπώς αφού είναι απαραίτητη η ανεπάρκεια της, εμφανίζεται τόσο στο έμβρυο όσο και στον ενήλικα. Η α- Μεσογειακή Αναιμία μπορεί να μην έχει συμπτώματα από την μια, αλλά από την άλλη μπορεί να παρουσιάζει πάρα πολύ βαριά συνδρομή η οποία όμως δεν είναι συμβατή με τη ζωή, με αποτέλεσμα την πρόκληση ενδομήτριου θανάτου. Στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 16 υπάρχουν δύο α γονίδια (α1 και α2) όπου ελέγχουν την σύνθεση της α αλυσίδας της αιμοσφαιρίνης. Στα φυσιολογικά άτομα υπάρχουν τέσσερα α γονίδια. Η μοριακή διαταραχή στα α γονίδια είναι υπεύθυνη για την α-θαλασσαιμία. Σύνηθες φαινόμενο είναι έλλειψη τμημάτων DNA, όπου κάποιες φορές έχουν ως αποτέλεσμα την μείωση (α+) και άλλες την εμπόδιση (α0) της παραγωγής α αλυσίδων από το παθολογικό αλληλίο. Οι α0 Θαλασσαιμίες προκύπτουν από την ανεπάρκεια δυο γονιδίων στο ίδιο χρωμόσωμα, ενώ οι α+ Θαλασσαιμίες προκύπτουν από την απουσία κάποιου επιμέρους ή όλου του γονιδίου. Σπανιότερα, οι θαλασσαιμίες προκαλούνται από μεταλλάξεις οι οποίες εμφανίζουν αδράνεια του α γονιδίου, αυτές ονομάζονται σημειακές μεταλλάξεις και συμβολίζονται ως α^T. Οι πιο πολλές περιπτώσεις α-θαλασσαιμικών φαινοτύπων συνδέονται με τρία ελλείματα, το -α3,7 α+, το -α 4,2 α+ και το --SEA α0. Πέντε είναι οι βασικές κατηγορίες φαινοτύπου της α-μεσογειακής αναιμίας:

ΑΠΛΟΤΥΠΟΣ	ΣΥΝΗΘΗΣ ΟΝΟΜΑΣΙΑ	ΑΛΛΗ ΟΝΟΜΑΣΙΑ
-----------	------------------	---------------

-α/αα	α+/α	α θαλασσαιμία-2 (ετερόζυγη α+ θαλασσαιμία)	Σιωπηλός φορέας
-α/-α	α+/α+	α θαλασσαιμία-1 (ομόζυγη α+ ή trans μορφή)	Φορέας α θαλασσαιμίας (ελάσσων α θαλασσαιμία)
--/αα	α0/α	α θαλασσαιμία-1 (ετερόζυγη α0 ή cis μορφή)	Φορέας α θαλασσαιμίας (ελάσσων α θαλασσαιμία)
--/-α	α0/α+	HbH (διπλή ετεροζυγωτία α0 και α+ θαλασσαιμίας)	Ενδιάμεση α θαλασσαιμία
--/--	α0/α0	Hb Bart's ή εμβρυικός ύδρωπας (ομόζυγη α0 θαλασσαιμία)	Μείζων α θαλασσαιμία

Τα άτομα τα οποία έχουν έλλειψη μόνο σε ένα γονίδιο α ονομάζονται σιωπηλοί φορείς, δεν παρουσιάζουν συμπτώματα και η διάγνωση τους γίνεται μόνο με την ανάλυση του DNA. Επειδή διατηρούν την ικανότητα να παράγουν την αλυσίδα α ανήκουν στην α+ θαλασσαιμία. Τα άτομα που έχουν έλλειψη σε δυο γονίδια τις περισσότερες φορές δεν έχουν συμπτώματα και η διάγνωσή τους γίνεται επίσης με την ανάλυση του DNA. Στην περίπτωση που έχουν έλλειψη σε τρία γονίδια α οδηγεί στην αιμοσφαιρινοπάθεια Η, η οποία εκδηλώνεται με ήπια αιμολυτική αναιμία. Σε αυτήν την περίπτωση για μετάγγιση αίματος έχουν ανάγκη 1 στους 3 που πάσχουν, ενώ 3 στους 4 πάσχοντες χρειάζονται αποσιδήρωση.

Στην περίπτωση που υπάρχει έλλειψη και στα τέσσερα γονίδια, αναφερόμαστε στην αιμοσφαιρινοπάθεια Bart's. Στην συγκεκριμένη περίπτωση οδηγούσαμε σε εμβρυϊκό ή νεογνικό θάνατο.

Η διαταραχή αυτή αναφέρεται στην α αλυσίδα επομένως παρατηρείται περίσσεια και καθίζηση με την μορφή εγκλείστων των β, γ και δ αλυσίδων. Η βαρύτητα των συμπτωμάτων των α θαλασσαιμιών κυμαίνεται από πλήρη έλλειψη κλινικών και εργαστηριακών ευρημάτων, έως τη βαρύτερη και ασύμβατη με τη ζωή μορφή του εμβρυϊκού ύδρωπα. Η α θαλασσαιμία ίσως είναι η συχνότερη γενετική νόσος παγκοσμίως, οι πιο πολλές περιπτώσεις όμως δεν είναι κλινικά σημαντικές. Σε αφροαμερικάνους, έλληνες και ιταλούς η πιο συχνοί φαινότυποι είναι -α/αα, -α/-α,.

Η διάγνωση των α θαλασσαιμιών στηρίζεται στην ανάλυση του DNA πριν την εγκυμοσύνη ή νωρίς τους πρώτους μήνες. Όταν και οι 2 γονείς είναι φορείς της α θαλασσαιμίας, τότε επιβάλλεται η ανάλυση DNA του εμβρύου.

α - θαλασσαιμία-2 (σιωπηλός φορέας)

Οφείλεται στην έλλειψη ή την μετάλλαξη ενός α γονιδίου ($-a/aa$), αναιμία υπάρχει πολύ σπάνια, ενώ οι δείκτες MCV και MCH μπορεί να είναι χαμηλοί. Οι θαλασσαιμικές μορφολογικές αλλοιώσεις δεν είναι συχνές, ενώ οι HbF και HbA₂ είναι φυσιολογικές. Ερυθροκυτταρικά έγκλειστα δεν παρατηρούνται. Η διάγνωσή της επιτυγχάνεται μόνο με την ανάλυση DNA.

α - θαλασσαιμία-1 (ετερόζυγη και ομόζυγη)

Οφείλεται συνήθως στην απώλεια ή στις μεταλλάξεις δύο α γονιδίων ($--/aa$ ή ετερόζυγη α -θαλασσαιμία-1 και $-a/-a$ ή ομόζυγη α θαλασσαιμία-1). Η νόσος δεν έχει συμπτώματα, αν και μερικές φορές παρατηρείται ήπια αναιμία. Εργαστηριακά παρατηρούμε αυξημένο τον αριθμό των ερυθροκυττάρων, ελαττωμένο MCV και MCH, δηλαδή παρατηρούνται θαλασσαιμικά ευρήματα και κυρίως μικροκυττάρωση και υποχρωμία. Στην ηλεκτροφόρηση οι HbA₂ και HbF είναι φυσιολογικές. Η ανεύρεση ερυθροκυτταρικών εγκλείστων είναι συνήθης, αλλά δεν είναι κάποιο κριτήριο στη διάγνωση της νόσου. Επιπλέον, στην α θαλασσαιμία-1 υπάρχει πιθανότητα να συνυπάρχουν β θαλασσαιμικά ευρήματα, ενώ τα ευρήματα από την ηλεκτροφόρηση να είναι φυσιολογικά.

Συγκριτικά με το γονότυπο $-a/-a$, ο γονότυπος $--/aa$ συνοδεύεται από σχετικά υψηλότερο αριθμό ερυθροκυττάρων και χαμηλότερο MCV, όπως επίσης και μεγαλύτερη συχνότητα ανεύρεσης ερυθροκυτταρικών εγκλείστων (>80% των ασθενών). Η παρατήρηση αυτή έχει πρακτική αξία στη διαφορική διάγνωση του $--/aa$ γονότυπου από τους άλλους γονότυπους ($-a/aa$ και $-a/-a$), κυρίως όταν δεν είναι εφικτή η διάγνωση της νόσου με ανάλυση DNA.

Στην περίπτωση κύησης όπου ο σύζυγος μπορεί να είναι ετεροζυγώτης α -θαλασσαιμίας-1 ($--/aa$), είναι αναγκαίο να γίνει άμεσα ανάλυση DNA, καθώς υπάρχει πιθανότητα γέννησης παιδιού με αιμοσφαιρινοπάθεια H ($--/-a$) ή με εμβρυϊκό ύδρωπα ($--/--$).

6.4 Αιμοσφαιρινοπάθεια H

Η αιμοσφαιρινοπάθεια Η οφείλεται συνήθως στην απώλεια 3 γονιδίων (--/-α) και λιγότερο συχνά στην ετεροζυγωτία α0 και α+, δηλαδή μικτή ετεροζυγωτία. Λόγω περίσσειας της β αλυσίδας η HbH συνήθως έχει τη μορφή τετραμερούς της β αλυσίδας (β4) με υψηλή δεσμευτική ικανότητα οξυγόνου. Η HbH στερείται του φαινομένου Bohr και γι' αυτό είναι άχρηστη από άποψη μεταφοράς οξυγόνου.

Εκδηλώνεται κλινικά σαν ενδιάμεση, Μεσογειακή Αναιμία, με ήπια, μέτρια ή έντονη αναιμία, σπληνομεγαλία και μερικές φορές ίκτερο. Σε ορισμένους ασθενείς η κλινική εικόνα είναι πολύ ήπια και η διάγνωση της νόσου είναι τυχαία. Αντίθετα, σε άλλους ασθενείς η κλινική εικόνα είναι παρόμοια με αυτή της ομόζυγης β θαλασσαιμίας, με οστικές παραμορφώσεις στο πρόσωπο, υπερσιδήρωση, σακχαρώδη διαβήτη και καρδιακή ανεπάρκεια. Επιδείνωση της αναιμίας παρατηρείται μετά από λοίμωξη, κύηση ή έκθεση σε οξειδωτικές ουσίες, ενώ σπανιότερα οφείλεται σε ανεπάρκεια φυλλικού -οξέος ή σε απλαστική κρίση μετά από λοίμωξη με parvovirus B19.

Η εργαστηριακή εικόνα της νόσου χαρακτηρίζεται από μέση ή βαριά υπόχρωμη μικροκυτταρική αναιμία, με αιμοσφαιρίνη που κυμαίνεται από 4-10 g/dl. Ο αριθμός των ερυθροκυττάρων είναι αυξημένος ενώ οι ερυθροκυτταρικοί δείκτες ελαττωμένοι και τα ΔΕΚ αυξημένα. Στο επίχρισμα αίματος παρατηρούνται θαλασσαιμικές μορφολογικές αλλοιώσεις. Συγκεκριμένα παρατηρείται έντονη ανισοποικιλοκυττάρωση, υποχρωμία, μικροκυττάρωση, στοχοκύτταρα, σχιστοκύτταρα, δακρυοκύτταρα και ενδεχομένως βασεόφιλος στίξη.

Επίχρισμα αίματος ατόμου με HbH βαμμένα με έμβια χρώση εμφανίζουν χαρακτηριστικά έγκλειστα που δίνουν στο ερυθροκύτταρο την εμφάνιση μπάλας του γκολφ. Τα έγκλειστα αυτά εμφανίζονται σε μεγάλο αριθμό ερυθροκυττάρων σε ποσοστό 40-80%. Σε περίπτωση σπληνεκτομής εμφανίζονται και πολλά έγκλειστα Heinz. Στην ηλεκτροφόρηση και στην HPLC η HbH βρίσκεται σε ποσοστό 2-40% και παρατηρείται ελάττωση της HbA2. Η HbF μπορεί να είναι ελαφρώς αυξημένη (13%). Το υπόλοιπο είναι HbA, ενώ σε μερικούς ασθενείς παρατηρείται και Hb Barl's σε ποσοστό 5%.

6.5 Β- Μεσογειακή Αναιμία

Η β- Μεσογειακή Αναιμία είναι μια από τις πιο συχνές μορφές μεσογειακής αναιμίας αλλά με βαρύτερα κλινικά χαρακτηριστικά σε σχέση με την α- Μεσογειακή. Είναι μια νόσος η οποία μπορεί να προκληθεί από σημειακές μεταλλάξεις που τις διακρίνουμε μέσα στο δομικό γονιδιακό σύμπλεγμα και όχι από γονιδιακές όπως η α-θαλασσαιμία και χαρακτηρίζεται ως κληρονομική γενετική ασθένεια. Η β- Μεσογειακή Αναιμία ή όπως είναι γνωστή νόσος του Cooley ή β- Θαλασσαιμία είναι μία αυτόσωμη υπολειπόμενη κληρονομική νόσος. Στους ανθρώπους που μεταβιβάζεται ένα ελαττωματικό γονίδιο και από την μητέρα και από τον πατέρα τους ονομάζουμε ομοζυγώτες, επομένως στη β- Μεσογειακή αναφερόμαστε στους πάσχοντες ως ομοζυγώτες β- Μεσογειακής Αναιμίας. Η αναιμία είναι αποτέλεσμα του συνδυασμού των βαριών μεταλλαγών ως προς την παραγωγή και τη σύνθεση των αιμοσφαιρινών. Στην περίπτωση της β- Μεσογειακής δεν δημιουργούνται β αλυσίδες ή η παραγωγή τους γίνεται σε μικρότερο ποσοστό, με αποτέλεσμα να εμποδίζεται η σύνθεση της αιμοσφαιρίνης των ενηλίκων και να καταστρέφεται η ιδιότητα των ερυθροκυττάρων η οποία είναι η μεταφορά του οξυγόνου στους ιστούς του οργανισμού.

Τα τελευταία έτη έχει καθιερωθεί ότι υπάρχει τρόπος αντιμετώπισης τη β- Θαλασσαιμίας. Πιο συγκεκριμένα έχει αποδειχθεί πως με συχνές μεταγγίσεις αίματος, το οποίο έχει κριθεί ότι είναι ασφαλές και ιδανικά επεξεργασμένο και συνδυασμένο με συχνή και αποτελεσματική αποσιδήρωση, μπορεί να παρατείνει σημαντικά το χρόνο επιβίωσης αλλά και να βελτιώσει τη ποιότητα ζωής του πάσχοντος.

6.6 Ετερόζυγη β- Θαλασσαιμία

Η ετερόζυγη β- Θαλασσαιμία είναι γνωστή και ως στίγμα της Μεσογειακής Αναιμίας ή ως ελάσσων β- Θαλασσαιμία, δεδομένου ότι η κλινική εικόνα και η σοβαρότητα της νόσου βρίσκεται στον αντίποδα της μείζονος β- Θαλασσαιμίας. Στην Ελλάδα σε ποσοστό περίπου 7.5% είναι φορείς της νόσου. Στην Κύπρο και τη Σαρδηνία το ποσοστό των φορέων είναι 15-17%, ενώ στη μαύρη φυλή το ποσοστό είναι 0.5-1%.

Σχετικά με την κλινική τους εικόνα τα άτομα δεν παρουσιάζουν συμπτώματα, ενώ αναιμία παρατηρείται μόνο σε περιπτώσεις αυξημένων αιμοποιητικών αναγκών, όπως συμβαίνει στην κύηση ή μετά από υποτροπιάζουσες λοιμώξεις. Η σπληνομεγαλία είναι από τα σπάνια ευρήματα. Η κλινική εικόνα συνήθως εξαρτάται από τον τύπο της μετάλλαξης. Ασθενείς με γονίδιο ελαφριάς ετερόζυγης β+ θαλασσαιμίας δεν έχουν κανένα σύμπτωμα και πιθανόν να παρουσιάζουν ελαφριά μικροκυττάρωση. Ασθενείς με γονίδιο ετερόζυγης β- Θαλασσαιμίας μπορεί να έχουν ήπια αναιμία, δικτυοερυθροκυττάρωση και σπληνομεγαλία.

Στο επίχρισμα του περιφερικού αίματος παρατηρούμε διάφορου βαθμού υποχρωμία, ποικιλοκυττάρωση, μικροκυττάρωση, στοχοκυττάρωση, βασεόφιλη στίξη και πολυχρωμασία. Η ανισοκυττάρωση χαρακτηρίζει περισσότερο την ετερόζυγη β-Θαλασσαιμία και λιγότερο τη σιδηροπενική αναιμία.

Τα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης συνήθως είναι φυσιολογικά και κυρίως μεγαλύτερα από 10 g/dl και τα ερυθροκύτταρα συνήθως είναι λίγο αυξημένα, οι ερυθροβλάστες δεν ανευρίσκονται, ενώ μερικές φορές παρατηρείται λευκοκυττάρωση. Οι ερυθροκυτταρικοί δείκτες MCV και MCH είναι ελαττωμένοι, ενώ ο MCHC εξαρτάται από τον αιματολογικό αναλυτή που χρησιμοποιείται και γι' αυτό δε θα πρέπει να αξιολογείται στην εργαστηριακή εκτίμηση. Η γενική αίματος στην ετερόζυγη β-Θαλασσαιμία έχει ως χαρακτηριστικό έναν ελαφρώς αυξημένο αριθμό ερυθροκυττάρων, φυσιολογική ή οριακά φυσιολογική αιμοσφαιρίνη, ελαττωμένους ερυθροκυτταρικούς δείκτες MCV και MCH, και συνήθως φυσιολογικό RDWCV. Οι ερυθροκυτταρικοί δείκτες χρησιμοποιούνται συχνά με τη μορφή screening προκειμένου να περιορίσουν τον αριθμό των ατόμων που πραγματικά χρειάζονται μελέτη. Ο MCH είναι ο πιο κατάλληλος δείκτης που μπορεί να χρησιμοποιηθεί. Ο MCV διαφοροποιείται από αναλυτή σε αναλυτή, ενώ έχει παρατηρηθεί ότι αυξάνεται κατά τη συντήρηση του δείγματος. Ο MCV συνήθως εμφανίζει τιμές 55-80 fl. Το RDWCV συνήθως είναι φυσιολογικό, σε αντίθεση με τη σιδηροπενική αναιμία, στην οποία εμφανίζεται υψηλό. Το RDWCV εκφράζει το βαθμό ανισοκυττάρωσης. Στις περιπτώσεις ασθενών με ετερόζυγη β-Θαλασσαιμία και συνύπαρξη ηπατικής κίρρωσης ή μεγαλοβλαστικής αναιμίας, ο MCV και MCH συχνά ομαλοποιούνται.

Συγκληρονόμηση α και β θαλασσαιμικού γονιδίου προκαλεί συχνά ομαλοποίηση των ερυθροκυτταρικών δεικτών. Τέλος, στο μυελό των οστών παρουσιάζεται ήπια ερυθροβλαστική αντίδραση.

Η HbA2 είναι αυξημένη συνήθως έως και 5%. Οι συνηθέστερες αιτίες ετερόζυγης β-Θαλασσαιμίας με φυσιολογικά ή οριακά φυσιολογικά επίπεδα HbA2 είναι η ύπαρξη σιδηροπενικής αναιμίας, η συγκληρονόμηση α θαλασσαιμικού γονιδίου ή δ γονιδίου.

Η HbF συνήθως έχει φυσιολογικά επίπεδα. Μεγάλο ποσοστό ετεροζυγωτών β- Θαλασσαιμίας παρουσιάζει ανιχνεύσιμα επίπεδα HbF (ποσοστό περίπου 75%), ενώ σημαντικό ποσοστό εμφανίζει αυξημένα επίπεδα HbF (ποσοστό περίπου 25%). Πιο συγκεκριμένα σε ένα από τα τέσσερα περιστατικά παρατηρείται μικρή αύξηση της HbF. Στη β0 η HbF είναι πιο αυξημένη και ορισμένες φορές φτάνει το 7%. Η κατανομή των μεταλλάξεων που συνδέονται με αυξημένα επίπεδα HbF δε σχετίζεται με τη συχνότητα των μεταλλάξεων στον ελληνικό χώρο. Τέλος η ωσμωτική αντίσταση ερυθροκυττάρων παρατηρείται αυξημένη.

Ποικιλίες του β γονιδίου

Σε αντίθεση με τα αλληλόμορφα που απαντούν στη μεγάλη πλειοψηφία των ασθενών με ετερόζυγη β- Θαλασσαιμία, υπάρχουν και άλλα αλληλόμορφα, τα οποία ταξινομούνται ανάλογα με, την κλινική εικόνα και τα επίπεδα της HbA₂. Τα πιο συνηθισμένα από τα αλληλόμορφα αυτά περιγράφονται από τον παρακάτω φαινότυπο:

- Συνήθης ετερόζυγη β- Θαλασσαιμία
- καθ' υπεροχή κληρονομούμενη θαλασσαιμία
- Θαλασσαιμία με φυσιολογικά επίπεδα HbA₂
- Σιωπηλή β θαλασσαιμία
- β- Θαλασσαιμία με ασυνήθιστα υψηλή HbA₂

Δεδομένου ότι τα γονίδια των αλυσίδων της αιμοσφαιρίνης βρίσκονται σε αυτοσωματικά χρωμοσώματα πιο συγκεκριμένα η ομάδα των α γονιδίων στο χρωμόσωμα 16 και η ομάδα των β γονιδίων στο χρωμόσωμα 11, οι αιμοσφαιρινοπάθειες κληρονομούνται με το αυτοσωματικό χαρακτήρα και κατά κανόνα με τον αυτοσωματικό υπολειπόμενο χαρακτήρα. Αντιθέτως με τα συνήθη αλληλόμορφα της β- Θαλασσαιμίας που κληρονομούνται με τον υπολειπόμενο χαρακτήρα, μερικά β αλληλόμορφα κληρονομούνται καθυπεροχή, δηλαδή εκδηλώνουν τη νόσο και σε ετερόζυγη μορφή. Αυτό σημαίνει ότι η κληρονόμηση ενός τέτοιου αλληλόμορφου οδηγεί σε κλινικά αναγνωρίσιμο νόσημα. Οι ετεροζυγώτες εκδηλώνουν φαινότυπο ενδιάμεσης β- Θαλασσαιμίας με ήπια αναιμία, σπληνομεγαλία και θαλασσαιμικά μορφολογικά ευρήματα στο επίχρισμα του περιφερικού αίματος. Εκτός από την αυξημένη HbA₂, βλέπουμε μεγάλα ερυθροκυτταρικά έγκλειστα, παρόμοια με αυτά της ομόζυγης β- Θαλασσαιμίας. Αυτά τα έγκλειστα είναι αποτελούμενα τόσο από α όσο και από β αλυσίδες, σε αντίθεση με τα έγκλειστα της ομόζυγης β- Θαλασσαιμίας, που αποτελούνται από καθιζήσεις μόνο α αλυσίδων. Τα περισσότερα από τα γονίδια αυτά έχουν περιγραφεί de novo σε ξεχωριστές οικογένειες και σε εθνότητες στις οποίες η συχνότητα της θαλασσαιμίας δεν είναι σύνηθες.

Η Θαλασσαιμία με φυσιολογικά επίπεδα HbA2 αναφέρεται σε περιστατικά με τυπική θαλασσαιμική εικόνα στο επίχρισμα του αίματος, αλλά φυσιολογικά επίπεδα HbA2. Τα περισσότερα περιστατικά οφείλονται σε συγκληρονόμηση της δ- Θαλασσαιμίας (δο ή δ+) σε cis ή trans μορφή με το β θαλασσαιμικό γονίδιο. Μία από τις πιο συχνές μορφές της συγκεκριμένης Θαλασσαιμίας οφείλεται στην ύπαρξη της αιμοσφαιρίνης Knossos που είναι πιο συχνή στην περιοχή της Μεσογείου και της εγγύς Ανατολής. Άλλη μια συνηθισμένη μορφή αιμοσφαιρίνης στον ελληνικό πληθυσμό, είναι η αιμοσφαιρίνη Corfu. Η Θαλασσαιμία δβ τύπου Corfu δεν αποτελεί παρά μία συνύπαρξη δο και β+ θαλασσαιμίας, με ευρήματα παρόμοια με αυτά της ετερόζυγης δβ θαλασσαιμίας. Οι ετεροζυγώτες χαρακτηρίζονται από ποικίλη αύξηση της HbF και από χαμηλά ή φυσιολογικά επίπεδα της HbA2. Οι ομοζυγώτες έχουν σχεδόν 100% HbF, καθόλου HbA2 και ίχνη HbA, ενώ κλινικά εμφανίζουν εικόνα ενδιάμεσης β- Θαλασσαιμίας.

Ένα μικρό ποσοστό ετεροζυγωτών της β- Θαλασσαιμίας φέρει το καλούμενο "σιωπηλό γονίδιο", είναι ένα παθολογικό γονίδιο το οποίο συνήθως δεν εκφράζεται ούτε κλινικά ούτε εργαστηριακά. Η μορφή αυτής της Θαλασσαιμίας ονομάζεται σιωπηλή β- Θαλασσαιμίας. Τα άτομα αυτά διαφεύγουν τη διάγνωση και ανακαλύπτονται τυχαία κατά τη διάρκεια μελέτης σύνθεσης αλυσίδων ή μοριακής ανάλυσης του DNA στην οικογένεια. Το σιωπηλό γονίδιο βρίσκεται σε ομοζυγωτικά άτομα με φαινότυπο ετερόζυγης β- Θαλασσαιμίας ή σε άτομα με συνδυασμένη ετεροζυγωτία.

Σε σπάνιες περιπτώσεις σιωπηλού γονιδίου η HbA2 είναι φυσιολογική, αλλά παρουσιάζονται θαλασσαιμικά ευρήματα. Τα άτομα αυτά λέμε ότι φέρουν το "σχεδόν σιωπηλό γονίδιο" και ο φαινότυπος τους είναι παρόμοιος με της α-θαλασσαιμίας.

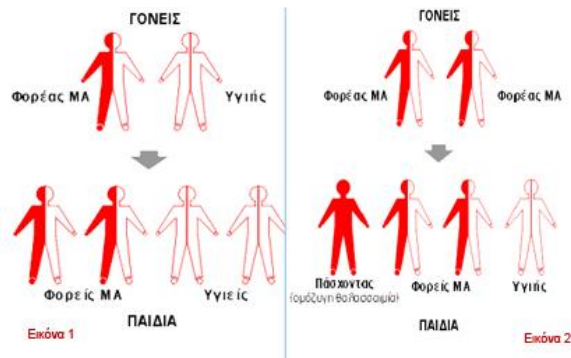
6.7 Ομόζυγη β-Μεσογειακή Αναιμία- μείζων β- Θαλασσαιμία

Η β-ομόζυγη Μεσογειακή Αναιμία είναι μια νόσος του αίματος η οποία έχει χαρακτηριστικό την δυσμορφία του κρανίου και των μακρών οστών. Για την πρόληψη της ανάπτυξης αυτών των δυσμορφιών χρειάζεται εντατικό πρόγραμμα μεταγγίσεων αίματος ή μεταμόσχευση του μυελού των οστών. Οι δυσπλασίες που υπάρχουν στο πρόσωπο χρειάζονται χειρουργική και ορθοδοντική διόρθωση, με βάση συγκεκριμένων τεχνικών που συμβαδίζουν με την απαραίτητη θεραπευτική αγωγή της αναιμίας. Τα σύγχρονα πρωτόκολλα τακτικών μεταγγίσεων και θεραπειών αποσιδήρωσης έχουν σαφώς βελτιώσει τα ποσοστά επιβίωσης στους ασθενείς με θαλασσαιμία, κάτι που συνέβαλλε στο μεγαλύτερο ποσοστό αριθμού ενηλίκων ασθενών. Παρόλα αυτά οι επιπλοκές που συνδέονται με την νόσο και την θεραπεία αυτής στους ασθενείς, σταδιακά αναπτύσσονται και γίνονται αιτία εμφάνισης σοβαρού βαθμού θνητότητας και

μικρότερου προσδόκιμου επιβίωσης. Η μεταμόσχευση κυττάρων είναι η μοναδική θεραπεία στην παρούσα στιγμή διαθέσιμη για τους ασθενείς με Θαλασσαιμία. Παρά το γεγονός της προοπτικής για την μεταμόσχευση ενηλίκων πασχόντων εμφανίζει βελτίωση στα ποσοστά επιβίωσης, η θνησιμότητα που έχει σχέση με τη μεταμόσχευση αυξάνεται συνεχώς. Ασθενείς με Θαλασσαιμία, οι οποίοι μεταγγίζονται με 10-15ml/kg κάθε 3-4 εβδομάδες για να διατηρήσουν επίπεδα αιμοσφαιρίνης >9-10g/dl έχουν σαν αποτέλεσμα μια άθροιση σιδήρου 0,5mg/kg/ημερησίως. Λόγω της παράτασης της επιβίωσης των πασχόντων με θαλασσαιμία τα τελευταία έτη, παρουσιάστηκαν οι κλινικές επιπτώσεις της υπερσιδήρωσης και η αναζήτηση τρόπων αποτελεσματικής αποσιδήρωσης με πιο καλή συμμόρφωση. Η βελτίωση της συμμόρφωσης θα είχε ως αποτέλεσμα μεγαλύτερη επιβίωση και πιο καλή ποιότητα ζωής. Η θεραπευτική αγωγή της μείζονος θαλασσαιμίας περιέχει τις μεταγγίσεις, την αποσιδήρωση, την σπληνεκτομή καθώς και την πρόληψη και την αντιμετώπιση των επιπλοκών της νόσου (καρδιολογικές, ενδοκρινολογικές, λοιμώξεις). Παρόλο που υπάρχουν νέες θεραπευτικές προτάσεις για την αντιμετώπιση των επιπλοκών που βελτιώνουν την ποιότητα της ζωής, υπάρχουν τα ψυχοκοινωνικά προβλήματα τα οποία συνεχίζουν να έχουν αρκετή σημασία και οι ασθενείς τα αντιμετωπίζουν καθημερινά. Στις αναπτυσσόμενες χώρες η κύρια αιτία θανάτου από τη μεσογειακή αναιμία είναι η μη συμμόρφωση στη θεραπεία εξαιτίας ψυχοκοινωνικών παραγόντων.

7. Πως κληρονομείται η Μεσογειακή Αναιμία

Η β- Μεσογειακή Αναιμία μεταβιβάζεται με τον υπολειπόμενο αυτοσωμικό τύπο κληρονομικότητας. Στην περίπτωση που ο ένας γονέας είναι φορέας της β- Μεσογειακή Αναιμία και ο άλλος είναι υγιής, υπάρχει 50% πιθανότητα να αποκτήσουν παιδιά με ετερόζυγη β- Μεσογειακή Αναιμία και 50% πιθανότητα να είναι υγιή. Στην περίπτωση που και οι δυο γονείς είναι ετεροζυγώτες η πιθανότητα να αποκτήσουν απογόνους με ομόζυγη β- Μεσογειακή Αναιμία είναι 25%, με ετερόζυγη β- Μεσογειακή Αναιμία είναι 50% και να είναι υγιείς 25% (εικόνα 6). Όπως βλέπουμε και στην εικόνα η πιθανότητα αυτή επικρατεί για κάθε εγκυμοσύνη ανεξάρτητα αν το ζευγάρι έχει άλλο παιδί με μεσογειακή αναιμία.



Εικόνα 6: βλέπουμε σχηματικά την κληρονομή της Μεσογειακής Αναιμίας, στην 1^η περίπτωση από ένα ετεροζυγότη γονέα και έναν υγιή και στην 2^η περίπτωση από δυο γονείς ετεροζυγώτες.

Στην περίπτωση που και ο ένας γονέας πάσχει από ομόζυγη β- Μεσογειακή Αναιμία και ο άλλος είναι υγιής τότε όλα τους τα παιδιά θα πάσχουν από ετερόζυγη β- Μεσογειακή Αναιμία. Αντίθετα στην περίπτωση που ο ένας είναι ομόζυγώτης και ο άλλος ετεροζυγώτης έχουν 50% πιθανότητα να αποκτήσουν ετερόζυγα παιδιά και 50% ομόζυγα. Με τον ίδιο τρόπο ακριβώς κληρονομείται και στην α-μεσογειακή αναιμία.

8. Πρόληψη

Η πρόληψη είναι ο καλύτερος τρόπος θεραπευτικής αντιμετώπισης της νόσου. Στόχος της πρόληψης είναι η ελάττωση του αριθμού στις γεννήσεις ατόμων που πάσχουν από μεσογειακή αναιμία. Χρειάζεται διεπιστημονική προσέγγιση από τους αρμόδιους για την προσέγγιση του προβλήματος συλλογικά. Τα προγράμματα τα οποία είναι χρήσιμα για την πρόληψη της μεσογειακής αναιμίας είναι τα ακόλουθα:

- Εντοπισμός φορέων
- Μοριακές διαγνωστικές τεχνικές
- Γενετική συμβουλευτική
- Προγεννητικός έλεγχος
- Προεμφυτικές και πριν την σύλληψη διαγνωστικές μέθοδοι
- Μη επεμβατική προγεννητική διάγνωση

Εντοπισμός φορέων

Το ζευγάρι πρέπει να κινητοποιηθεί για την ενημέρωση από κάποιον γενετικό σύμβουλο ή τον γυναικολόγο της γυναίκας ή κάποιον αρμόδιο για τις εξετάσεις τις οποίες πρέπει να κάνουν για να ελέγξουν εάν είναι φορείς της β- Μεσογειακής Αναιμίας. Οι εργαστηριακές εξετάσεις, η ηλεκτροφόρηση της αιμοσφαιρίνης, καθώς και ο έλεγχος του DNA μπορούν να διογκώσουν την ύπαρξη του παθολογικού γονιδίου της νόσου. Ο έλεγχος για την πρόληψη στη χώρα μας

είναι δωρεάν και γίνεται σε 23 μονάδες πρόληψης της μεσογειακής αναιμίας με κέντρο το Λαϊκό νοσοκομείο της Αθήνας όπου δίνουν αναφορά όλες οι μονάδες. Πέρα από τους γονείς, υπάρχουν και άλλα είδη υπηρεσίας, όπως γενετική συμβουλευτική και προσδιορισμό των κήσεων που είναι προσβεβλημένων. Με τη χρήση των προγραμμάτων έχει επιτευχθεί η ελάττωση του αριθμού των πασχόντων που γεννιούνται με αιμοσφαιρινοπάθειες. Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δώσουν όσοι είναι φορείς της νόσου, ζουν σε περιοχές με υψηλό ποσοστό εμφάνισης της νόσου και όσοι έχουν συγγενείς οι οποίοι πάσχουν.

Μοριακές διαγνωστικές τεχνικές

Οι Next Generation Sequencing (NGS) και Target Locus Amplification (TLA), είναι μέθοδοι που συντελούν στην ενίσχυση του μοριακού ελέγχου. Συνεπώς, υπάρχει πιθανότητα να μη χρειάζεται στο μέλλον η επεμβατική προγεννητική διάγνωση.

Γενετική συμβουλευτική

Η γενετική συμβουλευτική μπορεί να γίνει από έναν σύμβουλο με ειδικότητα γενετιστή, βιολόγο, και ειδικό ιατρό (Αιματολόγο) σχετικά με τις αιμοσφαιρινοπάθειες και την παροχή συμβουλευτικής. Το συγκεκριμένο πρόγραμμα έχει πληροφορίες για την κληρονομικότητα, τον κίνδυνο και το ποσοστό εμφάνισης παιδιών που έχουν την νόσο, τις επιπλοκές που μπορεί να έχει η νόσος, το ιστορικό της νόσου, καθώς και τους τρόπους αντιμετώπισής της. Το ζευγάρι μετά την ενημέρωση των όσων προαναφέραμε πρέπει να δώσει την συγκατάθεσή του και έπειτα να εξετασθεί.

Προγεννητική διάγνωση

Η προγεννητική διάγνωση αποτελεί μια ιατρική προσέγγιση για την πρόληψη γενετικών νοσημάτων. Είναι η κύρια προσέγγιση για τον έλεγχο των αιμοσφαιρινοπαθειών και άρχισε στα μέσα της δεκαετίας του '70. Συμβάλλει στην εύρεση των φορέων του παθολογικού γονιδίου και στην προγεννητική διάγνωση στον εμβρυικό ιστό, πιο ειδικά στις χοριακές λάχνες ή στο αμνιακό υγρό. Η λήψη των χοριακών λαχνών γίνεται από την 10η έως την 12η εβδομάδα κύησης, αντίθετα του αμνιακού υγρού γίνεται κατά την περίοδο της 15ης εβδομάδας κύησης με την μέθοδο της αμνιοπαρακέντησης, η οποία πραγματοποιείται από ειδικό γυναικολόγο. Οι απαντήσεις που παίρνουμε είναι αξιόπιστες, εξαιτίας της εφαρμογής υψηλών εργαστηριακών προδιαγραφών και έγκυρες, γιατί χρησιμοποιείται για επιβεβαίωση δοκιμασία ανάλυσης του εμβρυικού DNA σε σχέση με των γονέων, η οποία έχει θετικά και αρνητικά πρότυπα των μεταλλάξεων που εξετάζουμε. Αφού η προσέγγιση φτάσει στο τέλος, πρέπει να δοθεί στο ζευγάρι γενετική συμβουλή από έναν γενετιστή.

Υπάρχουν δύο μειονεκτήματα που σχετίζονται με την παρεμβατική λήψη του εμβρυϊκού ιστού, έχει ένα ποσοστό 2% πιθανότητες αποβολής και οι ηθικοκοινωνικές προεκτάσεις, στην περίπτωση διακοπής της κύησης εάν πάσχει το έμβρυο. Έτσι λοιπόν, είναι προτιμότερο να γίνεται μη παρεμβατική προγεννητική διάγνωση μέσω της ανάλυσης εμβρυϊκών κυττάρων ή ελεύθερου εμβρυϊκού DNA, το οποίο υπάρχει στο περιφερικό αίμα της εγκυμονούσας. Επιπλέον, με την γρήγορη εξέλιξη της τεχνολογίας πρόκειται να γίνει βελτίωση της προγεννητικής διάγνωσης με στόχο την παροχή πληροφοριών, που θα παραδίδονται με αυτήν, όπως η κατάσταση υγείας του εμβρύου.

Προεμφυτευτικές και πριν τη σύλληψη διαγνωστικοί μέθοδοι

Η Προεμφυτευτική Γενετική Διάγνωση (ΠΓΔ) είναι μια εναλλακτική μορφή της Προγεννητικής Διάγνωσης που η ανάπτυξη της οφείλεται στην εξέλιξη της βιοτεχνολογίας, της τεχνολογίας, της γυναικολογίας και της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Η συγκεκριμένη προσέγγιση αποτρέπει την πιθανότητα διακοπής της κύησης μετά από Προγεννητική Διάγνωση με τον έλεγχο, τη γενετική διάγνωση, καθώς και την επιλεκτική μεταφορά μόνο των φυσιολογικών εμβρύων που συλλαμβάνονται με εξωσωματική γονιμοποίηση. Η Προεμφυτευτική Γενετική Διάγνωση γίνεται σε συγκεκριμένα ειδικά κέντρα ανά τον κόσμο. Επιπλέον, αποτελεί εξαιρετικά καλή προσέγγιση για τα ζευγάρια τα οποία έχουν δυσκολίες κατά την αναπαραγωγική διαδικασία, όπως η υπογονιμότητα.

Για όσους πάσχουν από β- Μεσογειακή Αναιμία εφαρμόστηκε πρώτη φορά το 1998. Αξίζει να σημειωθεί για την εφαρμογή της Προεμφυτευτικής Γενετικής Διάγνωσης ο εντοπισμός φυσιολογικών εμβρύων, ιστισυμβατών με προϋπάρχον πάσχον παιδί στην οικογένεια, έτσι ώστε ο πάσχων να μπορεί να μεταβεί σε μεταμόσχευση μυελού με τη χρήση των βλαστοκυττάρων του ομφάλιου λώρου.

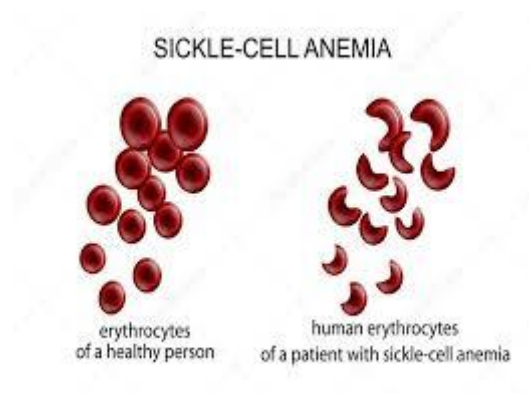
Μη επεμβατική προγεννητική διάγνωση

Μεγάλο ενδιαφέρον παρατηρείται από την ερευνητική κοινότητα για την απομόνωση και χρήση των εμβρυϊκών κυττάρων και των ελεύθερων εμβρυϊκών εξωκυττάρων νουκλειικών οξέων τα οποία βρίσκονται στη μητρική κυκλοφορία, σε μη επεμβατική προγεννητική διάγνωση μονογονιδιακών και χρωμοσωμικών νοσημάτων. Τα εμβρυϊκά κύτταρα είναι τροφοβλαστικά, εμβρυϊκά λεμφοκύτταρα και εμβρυϊκά εμπύρινα ερυθρά. Το κύριο μειονέκτημα για τα τροφοβλαστικά κύτταρα είναι ο πιθανός κίνδυνος του μωσαϊκισμού, για τα εμβρυϊκά λεμφοκύτταρα τα οποία δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε επόμενη εγκυμοσύνη εξαιτίας του γεγονότος ότι δεν απομακρύνθηκαν από την μητρική κυκλοφορία για πολλά χρόνια έπειτα από τον τοκετό, και για τα εμβρυϊκά εμπύρινα ερυθρά ότι είναι πάρα πολύ

σπάνια. Άλλο ένα μειονέκτημα των εμβρυικών κυττάρων είναι η κακή ποιότητα του γενετικού υλικού καθώς ενεργοποιείται η διαδικασία απόπτωσης τους μετά από την είσοδο τους στο μητρικό αίμα. Έτσι, εξαιτίας της μη αποδοτικής απομόνωσης τους με χαμηλό κόστος κάνει αυτή την προσέγγιση μη αποδεκτή για κλινική εφαρμογή.

Ωστόσο η χρήση των ελεύθερων εμβρυικών εξωκυτταρικών νουκλεικών οξέων στη μητρική κυκλοφορία είναι πιο αποτελεσματικό για τη διάγνωση και την μέτρηση των DNA αλληλουχιών του εμβρύου. Τα ελεύθερα εμβρυικά εξωκυτταρικά νουκλεικά οξέα προέρχονται κυρίως από τα τροφοβλαστικά κύτταρα και περνάνε στη μητρική κυκλοφορία με τη βοήθεια του πλακούντα. Τα ελεύθερα εμβρυικά εξωκυτταρικά νουκλεικά οξέα είναι το 3- 20% του συνολικού ελεύθερου DNA στη μητρική κυκλοφορία, κατά την περίοδο της κύησης.

9. Δρεπανοκυτταρική αναιμία



Η Δρεπανοκυτταρική Αναιμία αποτελεί μία ποιοτική μετάλλαξη. Είναι και αυτή μία κληρονομική ασθένεια του αίματος, που κληρονομείται με τον υπολειπόμενο αυτοσωμικό χαρακτήρα και έχει ως βασικό χαρακτηριστικό την παρουσία της αιμοσφαιρίνης S στα ερυθροκύτταρα. Η αιμοσφαιρίνη S είναι μία από τις μη φυσιολογικές αιμοσφαιρίνες, η οποία προκύπτει από την αντικατάσταση του γλουταμινικού οξέος με την βαλίνη στην 6^η θέση της αλυσίδας β. Όταν η πίεση του οξυγόνου είναι μειωμένη προκύπτουν μη φυσιολογικές αντιδράσεις στα μόρια της αιμοσφαιρίνης S, καταλήγοντας έτσι στο πολυμερισμό της και την μετάλλαξη των ερυθροκυτταρων των οποίων η μορφή είναι γίνεται δρεπανοειδής.

9.1 Ιστορική αναδρομή

Η Δρεπανοκυτταρική Νόσος αναφέρθηκε πρώτη φορά από τον J.B. Herrick το 1910, μέσω της δημοσίευσης του μιας περίπτωσης ενός νέγρου φοιτητή από τη δυτική Ινδία ο οποίος έπασχε από αναιμία, ίκτερο, καρδιομεγαλία, κοιλιακούς πόνους και ιδιάζοντα επιμήκη και δρεπανόμορφα ερυθροκύτταρα στο περιφερικό αίμα. Έπειτα το 1917, ο Emmel παρουσίασε τη σύνθεση των δρεπανοκυττάρων σε εναιώρημα περιφερικού αίματος το οποίο το σφράγιζε με καλυπτρίδια και το άφηνε σε θερμοκρασία δωματίου. Το 1927 οι Hahn και Gillespie ήταν οι πρώτοι που παρατήρησαν την εξάρτηση δρεπανώσεως από την αφαίρεση του οξυγόνου. Ο χημικός Linus Pauling το 1945 ξεκίνησε να μελετά το φαινόμενο της δρεπανώσεως και μετά από τέσσερα έτη κατέληξε στο συμπέρασμα πως η ηλεκτροφορητική κινητικότητα και η βασική δομή της αιμοσφαιρίνης ενός πάσχοντος ήταν παθολογική.

Το 1949 οι Beet και Neel μέσω των μελετών που πραγματοποίησαν σχετικά με την γενετική βάση της Δρεπανοκυτταρική Αναιμίας, απέδειξαν πως μια δόση του παθολογικού γόνου μπορεί να προκαλέσει την ετερόζυγο μορφή της νόσου (στίγμα δρεπανώσεως) αντιθέτως δυο δόσεις την ομόζυγο μορφή (Δρεπανοκυτταρική Αναιμία). Το 1957 ο Ingram κατάφερε να αποδείξει ότι η αιμοσφαιρινοπάθεια S προέκυψε από την αντικατάσταση του γλουταμινικού οξέος από

την βαλίνη στην 6^η θέση της β αλυσίδας του μορίου της αιμοσφαιρίνης και κατέληξε επίσης στην ολοκληρωτική κατανόηση της βιοχημικής διαταραχής της νόσου.

9.2 Αιτιολογία

Η αιμοσφαιρινοπάθεια S στα ερυθρά κύτταρα πολυμερίζεται με την απομάκρυνση του οξυγόνου. Με την συγκέντρωση των πολυμερών της HbS στα ερυθρά κύτταρα παραμορφώνεται το κύτταρο και προκαλείται βλάβη στη μεμβράνη. Από το κύτταρο εξάγονται νερό και κάλιο και αυτό μετά συμπυκνώνεται και είναι δύσκαμπτο. Με την μεταφορά του μέσω της μικρής κυκλοφορίας του αίματος, η διάμετρος των τριχοειδών είναι 2-3μm, συνεπώς το ερυθρό κύτταρο αργεί να διαβεί, γιατί πρέπει να γίνουν κάποιες συγκεκριμένες αλλαγές στη μορφή του. Έτσι λοιπόν με την αργοπορία των κυττάρων μειώνεται η ταχύτητα της κυκλοφορίας του αίματος και ελαττώνεται η τάση του οξυγόνου, με αποτέλεσμα την πρόκληση περαιτέρω πολυμερισμού της αιμοσφαιρίνης και ισχαιμικών επεισοδίων ή εμφραγμάτων στους ιστούς. Τα προαναφερόμενα φαινόμενα μπορούν να συμβούν από υποπληθυσμούς συμπυκνωμένων ερυθροκυττάρων, τα ερυθρά αιμοσφαίρια στη δρεπανοκυτταρική αναιμία παρουσιάζουν μεγαλύτερη ετερογένεια και στην πυκνότητα τους αλλά και στις παραμορφώσεις, τις μεμβρανικές βλάβες, το περιεχόμενό τους σε αιμοσφαιρίνη αλλά και τη περίοδο ζωής τους.

Με την προσκόλληση κάποιων κυττάρων στο ενδοθήλιο υπάρχει πιθανότητα πρόκλησης απόφραξης των μικρών αγγείων πριν γίνει η σύνδεση τους με τα πιο μεγάλα αγγεία. Ο πολυμερισμός της HbS αφού γίνει η απομάκρυνση του οξυγόνου δεν μπορεί να αντιστραφεί. Ωστόσο, στην περίπτωση της δρεπάνωσης- αποδρεπάνωσης αν γίνει επανάληψη πολλές φορές, δημιουργούνται μόνιμες βλάβες στη μεμβράνη, οι οποίες αλλάζουν τη μορφή του κυττάρου, χωρίς να μας απασχολεί η ποσότητα των ενδοκυτταρικών πολυμερών. Τα δρεπανοκύτταρα τα οποία δεν αναστρέφονται εμφανίζονται στα επιχρίσματα του περιφερικού αίματος και ο αριθμός των κυττάρων αυτών συνδέεται με το βαθμό της αιμόλυσης και επίσης ο αριθμός διαφέρει από ασθενή σε ασθενή. Ωστόσο είναι σχεδόν σταθερός για τον ίδιο άνθρωπο, αλλά υπάρχει και μια πιθανότητα ελάττωσης του με την έναρξη της επώδυνης κρίσης.

9.3 Κλινική εικόνα

Ετερόζυγη μορφή

Σχεδόν το 8% των ανθρώπων μαύρης φυλής που ζουν στην Αμερική είναι φορείς της Δρεπανοκυτταρικής Αναιμίας και είναι ασυμπτωματικοί. Σχετικά με τους φορείς, δεν εμφανίζουν αιμολυτικές ή αγγειοαποφρακτικές κρίσεις, που αποτελούν χαρακτηριστικά

πασχόντων από Δρεπανοκυτταρική Αναιμία. Το μοναδικό σύμπτωμα που παρατηρείται είναι αιματοουρία, που είναι ήπια και αυτοπεριορισμένη και δεν χρειάζεται κάποιου είδους θεραπείας. Άλλο ένα είναι η υποσθενουρία, που δεν είναι ούτε αυτή κλινικά σημαντική. Οι δυο αυτές νεφρικές επιπλοκές που προαναφέραμε είναι αποτέλεσμα της δρεπάνωσης η οποία μπορεί να οφείλεται στο υπερτονικό, υποξεϊκό, όξινο περιβάλλον το οποίο χαρακτηρίζει τον μυαλό των οστών. Συνεπώς, δεν χρειάζεται η ελάττωση των δραστηριοτήτων και των ασχολιών των ετεροζυγωτών ατόμων μέσα στη καθημερινότητά τους.

Ομόζυγη μορφή

Η ομόζυγη μορφή της Δρεπανοκυτταρικής Αναιμίας συναντάται σε αναλογία 1:600 νεογέννητα της μαύρης φυλής στην Αμερική. Είναι γνωστό πως τα παιδιά με Δρεπανοκυτταρική Αναιμία έχουν πιο μεγάλο ποσοστό θνησιμότητας, αυτός είναι και ο λόγος που δεν το συναντάμε συχνά στους ενήλικες. Το γονίδιο β^s συνήθως το παρατηρείται σε μεικτούς ετεροζυγώτες με γονίδια τα β- Θαλασσαιμίας ή με μεταβολές της β-σφαιρίνης. Επιπλέον, ένας άνθρωπος μπορεί να πάσχει από α- Θαλασσαιμία, καθώς και Δρεπανοκυτταρική Νόσο. Τα δρεπανοκυτταρικά σύνδρομα διακρίνονται με βάση τις παθοφυσιολογικές και κλινικές ιδιότητες σε εκείνα που είναι υπεύθυνα για την αιμόλυση των δρεπανοκυττάρων και σε εκείνα που είναι υπεύθυνα για τα αγγειοαποφρακτικά επεισόδια. Όσον αφορά την πρώτη κατηγορία είναι ίδια τα χαρακτηριστικά σε όλες τις χρόνιες αιμολυτικές αναιμίες και η αντιμετώπιση τους γίνεται εύκολα και συνήθως είναι καλοήγη. Στην δεύτερη κατηγορία αναφερόμαστε κυρίως στα δρεπανοκυτταρικά σύνδρομα, στα οποία όμως η αντιμετώπιση είναι δύσκολη και είναι και οι κύριοι λόγοι για την νοσηρότητα και τη θνητότητα.

Σχετικά με την αιμόλυση των δρεπανοκυτταρικών συνδρόμων συμβαίνει κυρίως εξωαγγειακά και ακόμη και στην ομοζυγοτία δεν είναι σοβαρή. Άνθρωποι που πάσχουν σοβαρά από αναιμία είναι συχνό φαινόμενο να εμφανίζουν και νεφρική ανεπάρκεια ή να παρουσιάζουν οξεία ανάπτυξη αναιμίας για τον λόγο ότι πάσχουν από ανεπάρκεια στο μυελό. Στην Δρεπανοκυτταρική Αναιμία ο όγκος του πλάσματος μπορεί να παρουσιάσει αύξηση κατά 20-40%, προκαλώντας πρόβλημα στην πρόβλεψη της μάζας των ερυθροκυττάρων από το επίπεδο της αιμοσφαιρίνης. Η υπερχολερυθριναιμία η οποία επιμένει είναι επίπτωση της χρόνιας αιμόλυσης και συνδέεται με την αυξημένη συχνότητα που αναπτύσσεται η χολολιθίαση. Η χολολιθίαση υπάρχει πιθανότητα να εμφανιστεί ακόμα και σε πολύ μικρή ηλικία και συναντάται σχεδόν στο μισό των ενηλίκων.

Τα αγγειοαποφρακτικά συμβάντα των δρεπανοκυτταρικών συνδρόμων χαρακτηρίζονται από οξεία εμφάνιση και από βαριά κλινική εικόνα. Επίσης στην περίπτωση της χρόνιας εμφάνισης μπορεί να προκαλέσει ορισμένες αναπηρίες. Στον κάθε πάσχοντα η επανεμφάνιση κάποιων συμπτωμάτων, καθώς και η χρονική περίοδος των επώδυνων κρίσεων είναι διαφορετική. Μάλιστα σε κάποιους ασθενείς παρατηρούνται επεισόδια κάθε μήνα με διάρκεια 3 έως 10 ημέρες και χρειάζονται επειγόντως νοσηλεία σε νοσοκομείο για να τα αντιμετωπίσουν και υπάρχουν και πάσχοντες οι οποίοι δεν έχουν ποτέ τέτοια επεισόδια. Το πόσο συχνά μπορούν να συμβούν οι κρίσεις αυτές εξαρτάται αναλογικά από την συνολική συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης και αντιστρόφως ανάλογα από το επίπεδο της αιμοσφαιρίνης F. Επιπλέον, με την παρουσία πολλών αμέτρητων κρίσεων αναφερόμαστε σε ένα κακό προγνωστικό σημείο.

Η καρδιά συχνά μπορεί να διογκωθεί και να βρεθούν συστολικά φυσήματα. Πιο σπάνια μπορεί να βρεθεί συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια αλλά μπορεί να εμφανιστεί μείωση της ενδοτικότητας του μυοκαρδίου.

Σε ανήλικους οι οποίοι πάσχουν από Δρεπανοκυτταρική Αναιμία υπάρχει πιθανότητα εμφάνισης περιοστίτιδας στα μετακάρπια και τα μετατάρσια, είναι γνωστό ως σύνδρομο χεριού-ποδιού και έχει κοινά χαρακτηριστικά με την οξεία ρευματοειδή αρθρίτιδα.

Οι λοιμώξεις ωστόσο αποτελούν μια από τις κύριες αιτίες θανάτου στα παιδιά, όπου εμφανίζεται τα πρώτα έτη της ζωής τους και ο παράγοντας που ευθύνεται συχνότερα είναι ο στρεπτόκοκκος της πνευμονίας. Το 25% των πασχόντων από το συγκεκριμένο βακτηρίδιο παρουσιάζουν σηψαιμία. Επίσης, ακόμη ένα που χαρακτηρίζει τη δρεπανοκυτταρική νόσο είναι η οστεομυελίτιδα, η οποία μπορεί να προκληθεί από την σαλμονέλα.

Την περίοδο της νόσου παρατηρείται μείωση της λειτουργίας του σπληνός και καταλήγει να σταματάει, επειδή συμβαίνουν επαναλαμβανόμενα εμφράγματα. Τα αρχικά έτη της ζωής ο σπλήνας λειτουργεί λιγότερο παρόλο που είναι σε κατάσταση διόγκωσης. Ο ρυθμός με τον οποίο ελαττώνεται το μέγεθος του σπληνός συνδέεται με τη φυσιολογική ελάττωση του επιπέδου της HbF κατά την περίοδο μετά της γέννησης και αναγνωρίζεται μέσω των ερυθροκυτταρικών έγκλειστων, λόγω χάρη των σωματίων Howell-Jolly. Σχετικά με τους υποσπληνικούς ασθενείς παρουσιάζουν προδιάθεση για βακτηριακές λοιμώξεις, όπως ο πνευμονιόκοκκος και ο αιμόφιλος της ινφλουέντσας. Από τις πιο συχνά ευρήματα είναι η σηψαιμία, η πνευμονία, η μηνιγγίτιδα και η ωτίτιδα. Υπεύθυνο για την σηψαιμία στους ενήλικες είναι η *Escherichia coli* και επιτίθεται στο ουροποιητικό σύστημα.

Για τους ενήλικες τα αίτια θανάτου διαφέρουν πιο πολύ. Ένα από τις αιτίες είναι η πιθανότητα ανεπάρκειας σε κάποιο όργανο, συνήθως συμβαίνει ξαφνικά και χωρίς να υπάρχει κάποια

εξήγηση. Στις ανεπτυγμένες χώρες αρκετοί πάσχοντες με δρεπανοκυτταρική νόσο ζουν και ως τα 40 τους χρόνια, ενώ στις αναπτυσσόμενες λίγες είναι οι φορές που οι πάσχοντες ζουν έπειτα της παιδικής τους ηλικίας.

Καταληκτικά, η κλινική ετερογένεια χαρακτηρίζει την Δρεπανοκυτταρική Αναιμία. Πιο συγκεκριμένα ορισμένοι πάσχοντες εμφανίζουν ελαφριά μορφή της νόσου, αντιθέτως κάποιοι πιο πολλές ή όλες τις επιπλοκές της νόσου.

9.4 Ευρήματα εργαστηρίου

Το κυριότερο εύρημα είναι η Ορθοχρωμική Αναιμία και σπανιότερα παρουσιάζεται μακροκυτταρική αναιμία. Ο μέσος όγκος των ερυθροκυττάρων είναι μειωμένος και η πυκνότητα της αιμοσφαιρίνης αναλογικά με κάθε ερυθροκύτταρο είναι φυσιολογική.

Στο περιφερικό αίμα εμφανίζονται ανισοκυττάρωση και ποικιλοκυττάρωση, καθώς και μακροκύτταρα και ερυθροκύτταρα με πυρήνα. Επίσης, συνηθισμένο είναι η βασεόφιλος στίξη, τα σωμάτια Howell-Jolly και ο υψηλός αριθμός των δικτυοκυττάρων. Τα δρεπανοκύτταρα εμφανίζονται ως επιμήκεις κατασκευές, με διαφορετικά μήκη και με οξείες γωνίες και ο αριθμός τους είναι διαφορετικός σε κάθε πάσχοντα ξεχωριστά.

Η λευκοκυττάρωση εμφανίζεται συχνότερα στη νόσο και κυρίως στις κρίσεις όπου είναι και πιο υψηλή. Τα μονοκύτταρα και τα αιμοπετάλια επιπλέον παρατηρούνται και αυτά πιο υψηλά από το φυσιολογικό. Σχετικά με την ορμητική αντίσταση των ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι υψηλότερη και η καθίζηση τους είναι μειωμένη γιατί τα δρεπανοκύτταρα έχουν ανώμαλη μορφή. Ο μυελός των οστών είναι υπερπλαστικός και σε ποσοστό 50-60% είναι από ενδιάμεσους και ώριμους ορθοβλάστες.

9.5 Διάγνωση

Η διάγνωση της Δρεπανοκυτταρικής Νόσου βασίζεται στην κλινική εικόνα, στο ατομικό οικογενειακό ιστορικό και επιβεβαιώνεται με την κλινική εξέταση και τον εργαστηριακό έλεγχο. Υψίστης σημασίας για την εργαστηριακή διάγνωση είναι η γνώση της συχνότητας διαταραχής της ΔΝ στον πληθυσμό, η ετερογένεια των γενετικών ατελειών σχέσης γονοτύπου/φαινοτύπου. Η εργαστηριακή διερεύνηση της Δρεπανοκυτταρικής Νόσου είναι αυτή της διερεύνησης μιας αιμοσφαιρινοπάθειας και η μεθοδολογία αυτή περιέχει:

- τον αιματολογικό έλεγχο
- τη βιοχημική μελέτη της αιμοσφαιρίνης
- τον ποσοτικό προσδιορισμό της HbA2 και της εμβρυικής αιμοσφαιρίνης (HbF) με τη μέθοδο HPLC.

- Ηλεκτροφόρηση αιμοσφαιρινών
- τη δοκιμασία δρεπάνωσης
- τον έλεγχο ερυθροκυτταρικών εγκλείστων και
- την ωσμωτική αντίσταση των ερυθροκυττάρων

Η γενική εξέταση αίματος (Hb, HCT, RBC, MCH, MCV, MCHC, RDWCV) με ηλεκτρονικά συστήματα μέτρησης σε αξιόπιστο αιματολογικό αναλυτή, και η μορφολογία των ερυθροκυττάρων δίνουν πολύ σημαντικές πληροφορίες όπως έχουμε ήδη αναφέρει και στην περίπτωση των θαλασσαιμιών. Στην ετερόζυγο Δρεπανοκυτταρική Αναιμία περιμένουμε να δούμε φυσιολογικές τις αιματολογικές παραμέτρους όπως η αιμοσφαιρίνη και οι ερυθροκυτταρικοί δείκτες (MCV, MCH, MCHC). Στην ομόζυγο Δρεπανοκυτταρική Αναιμία ωστόσο εμφανίζεται βαριά αναιμία με αιμοσφαιρίνη 6-8g/dl, Ορθόχρωμη Ορθοκυτταρική ή μακροκυτταρική με σημαντική αύξηση των δικτυοερυθροκυττάρων, ανισοκυττάρωση ποικιλοκυττάρωση, πολυχρωματοφιλία, στοχοκυττάρωση και με χαρακτηριστική την ανεύρεση των δρεπανοκυττάρων και σωματίων Howell-jolly. Στην διπλή ετεροζυγωτία (Μικροδρεπανοκυτταρική Αναιμία) παρατηρείται αναιμία (Hb 7-12g/dl), με επηρεασμένους ερυθροκυτταρικούς δείκτες και χαρακτηριστική παθολογική μορφολογία ερυθροκυττάρων στο περιφερικό αίμα με θαλασσαιμικές αλλοιώσεις, παρουσία δρεπανοκυττάρων και σωματίων Howell-jolly και ερυθροβλαστών. Η ανίχνευση κλάσματος Hb θα πρέπει να ολοκληρώνεται και με την ηλεκτροφόρηση αιμοσφαιρίνης. Οι μοριακές τεχνικές χρησιμοποιούνται κυρίως στον προγεννητικό έλεγχο, για την διερεύνηση των δρεπανοκυτταρικών συνδρόμων. Η προγεννητική διάγνωση είναι εφικτή από την 8η εβδομάδα με λήψη δείγματος από τις χοριακές λάχνες.

9.6 Επιπλοκές και πρόγνωση

Η Δρεπανοκυτταρική Αναιμία είναι σοβαρή και θανατηφόρα μακροχρόνια νόσος. Ο θάνατος προκύπτει από τις λοιμώξεις, την καρδιακή ανεπάρκεια ή σαν συνέπεια λόγω θρομβώσεων ή αιμορραγίας ζωτικών οργάνων. Η νεφρική ανεπάρκεια αποτελεί σύνθητες αίτιο. Θανατηφόρες επιπλοκές παρατηρούνται και κατά την περίοδο της κύησης και του τοκετού και ανέρχονται ως το 25% των περιπτώσεων.

10. Συμπεράσματα

Σύμφωνα με όσα αναφέραμε στην συγκεκριμένη εργασία, τα άτομα με Μεσογειακή Αναιμία έχουν μεγαλύτερο προσδόκιμο ζωής, λόγω της εφαρμογής σύγχρονων θεραπειών. Σημαντικές επιστημονικές εξελίξεις σχετικά με τη θεραπεία της νόσου έχουν βελτιώσει τη ζωή του πάσχοντα ενώ θα πρέπει να σημειωθεί πως υπάρχει σαφής μείωση στην επιδημιολογία της νόσου εξαιτίας του προγεννητικού ελέγχου. Αποτελεί καθοριστικής σημασίας η συμμόρφωση του πάσχοντα στο πρόγραμμα θεραπείας, με στόχο να μειωθούν οι οργανικές επιπλοκές, καθώς και η ψυχολογική υποστήριξη από το οικογενειακό και το κοινωνικό περιβάλλον τα οποία δείχνουν να ενισχύουν την ποιότητα ζωής των ασθενών με Μεσογειακή Αναιμία. Ιδιαίτερη έμφαση πρέπει να δοθεί στον τρόπο αντιμετώπισης της νόσου από τον πάσχοντα. Πολλοί πάσχοντες έχουν αποδεχθεί τη νόσο και τη θεωρούν πλέον ως αναπόσπαστο κομμάτι της ζωής τους, το οποίο απαιτεί μια συνεχή προσπάθεια και προσαρμογή στις καθημερινές ανάγκες που προξενεί η νόσος. Τις περισσότερες φορές οι πάσχοντες αντιμετωπίζουν την κατάσταση με αισιοδοξία, αλλά παρ' όλα αυτά δε σταματούν να εμφανίζονται προβλήματα τα οποία επιφέρουν οργανικές επιπλοκές και έτσι επιβαρύνονται ψυχολογικά. Έτσι λοιπόν, είναι απαραίτητη η σωστή ενημέρωση των πασχόντων σχετικά με τη νόσο έτσι ώστε να επιτευχθεί η μείωση του φόβου και της ανασφάλειας των ασθενών, η ενίσχυση της ψυχικής υγείας αυτών και κατ' επέκταση η βελτίωση της ποιότητας ζωής τους. Συμπερασματικά, τόσο η δρεπανοκυτταρική αναιμία όσο η β-θαλασσαιμία (Μεσογειακή Αναιμία) αποτελούν κληρονομικά νοσήματα που αφορούν τη δημόσια υγεία. Είναι απαραίτητη η μείωση ή εξάλειψη των παραγόντων που επιδρούν αρνητικά στην ποιότητα ζωής αυτών των ανθρώπων αλλά και η ενημέρωση του κοινού τόσο για την κληρονομικότητα όσο και για τους σύγχρονους τρόπους διάγνωσης, πρόληψης και αντιμετώπισης της κάθε νόσου.

11.Επίλογος

Οι προηγούμενες γενιές είχαν μειωμένη ενημέρωση της φύσης της νόσου και των μέσων για τον έλεγχο των γεννήσεων παιδιών με τη νόσο. Πλέον στις μέρες μας η Μεσογειακή Αναιμία καθώς και η Δρεπανοκυτταρική Νόσος μπορεί να εξαλειφθεί γιατί η καλύτερη θεραπευτική αντιμετώπισή τους είναι η Πρόληψη. Είναι απαραίτητη η συστηματική ενημέρωση και διαφώτιση του κοινού κι αυτή θα πρέπει να ξεκινάει από τις νεαρές ηλικίες. Η πληθυσμιακή προαιρετική προληπτική εξέταση για αναγνώριση των ετερόζυγων ατόμων, ξεκινώντας από τους νομούς της χώρας μας με αυξημένη συχνότητα εμφάνισης, πρέπει να αποτελεί μια εξέταση ρουτίνας. Το «πιστοποιητικό μελλονύμφων|» αποτελεί μια ασφαλιστική δικλείδα που δίνει στο ζευγάρι την δυνατότητα να γνωρίζει τις πιθανότητες να αποκτήσει παιδί με Μεσογειακή Αναιμία ή Δρεπανοκυτταρική Νόσο. Το μέτρο αυτό δεν έχει εφαρμοσθεί στην Ελλάδα αλλά έχει ήδη εφαρμόσει επιτυχώς η Εκκλησία της Κύπρου: στην Κύπρο υπάρχει 0% ποσοστό γεννήσεων τα τελευταία 10 χρόνια. Επιπλέον, οι ασθενείς με ομόζυγη β-Μεσογειακή αναιμία έχουν ανάγκη για ολοκληρωμένη πληροφόρηση για την ασθένειά τους και για τα πλεονεκτήματα της σωστής συμμόρφωσης στη θεραπεία αποσιδήρωσης. Παράλληλα, η κατάλληλη ψυχολογική υποστήριξη είναι σημαντική γιατί μπορεί να ελαττώσει το συναισθηματικό stress, ενδυναμώνοντας την ικανότητα συνεργασίας και οδηγώντας στην ομαλή ένταξη της θεραπευτικής αγωγής στην καθημερινή πράξη. Στην Ελλάδα, αν και μέχρι σήμερα έχουν γίνει σημαντικά βήματα στην διαχείριση των αιμοσφαιρινοπαθειών, απαιτούνται επιπλέον δράσεις που θα οδηγήσουν αρχικά στην πλήρη ενημέρωση του κοινού και κυρίως στον εκσυγχρονισμό της υποδομής των Μονάδων Μεταγγίσεων και την στελέχωσή τους με εξειδικευμένο προσωπικό. Με βάση τα όσα έχουμε αναφέρει οι ασθενείς με Θαλασσαιμίες και Δρεπανοκυτταρική Νόσο έχουν πλέον τη δυνατότητα να ζουν μια φυσιολογική ζωή, να αναπτύσσονται κοινωνικά, να δραστηριοποιούνται ενεργά και παραγωγικά στην κοινωνία και πρωτίστως να φτιάχνουν τις δικές τους οικογένειες.

11. Βιβλιογραφία

1. Τσικριτσάκης Ν. και Διαρμίσση Σ., 2021, *ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΖΩΗΣ ΑΤΟΜΩΝ ΜΕ ΟΜΟΖΥΓΗ ΜΕΙΖΩΝ ΒΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ ΣΤΗΝ ΕΥΡΩΠΗ*, Ελληνικό Μεσογειακό Πανεπιστήμιο, Ηράκλειο
2. Καϊση Ο. και Κατσαντώνης Γ., 2019, *ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ: ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΓΙΖΟΜΕΝΟΥ ΠΑΙΔΙΟΥ ΣΤΟ ΣΧΟΛΕΙΟ, ΤΗΝ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ, ΤΗΝ ΚΟΙΝΟΤΗΤΑ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΝΟΣΗΛΕΥΤΗ*, ΤΕΙ Δυτικής Ελλάς, Πάτρα
3. Κυριτσάκα Α. , 2014, *ΜΕΛΕΤΗ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΟΠΑΘΕΙΩΝ ΣΤΟΝ ΕΛΛΑΔΙΚΟ ΧΩΡΟ. ΑΝΤΙΣΤΟΙΧΙΑ ΚΑΤΑΝΟΜΗΣ ΤΟΥ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟΥ ΜΕ ΕΝΗΜΕΡΩΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΛΗΨΗ*, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα
4. Παρασκευούδη Α. , 2013, *ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΖΩΗΣ ΚΑΙ ΨΥΧΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΟΜΟΖΥΓΗ Β-ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ ΣΤΗ ΘΕΣΣΑΛΙΑ*, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα
5. Χατζή Σ., 2007, *ΓΕΝΕΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΟΥ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ, ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ, ΘΕΡΑΠΕΙΑ*, Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό ίδρυμα Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη
6. Kattamis, Antonis, et al. “*CHANGING PATTERNS IN THE EPIDEMIOLOGY OF B-THALASSEMIA.*” *European Journal of Haematology*, vol. 105, no. 6, Dec. 2020, pp. 692–703. PubMed Central
7. Zúñiga C. , Pamela, et al. “*SICKLE CELL DISEASE: A DIAGNOSIS TO KEEP IN MIND.*” *Revista Chilena de Pediatría*, vol. 89, no. 4, Aug. 2018, pp. 525–29. SciELO
8. Farashi, Samaneh, and Cornelis L. Harteveld. “*MOLECULAR BASIS OF A-THALASSEMIA.*” *BLOOD CELLS, MOLECULES, AND DISEASES*, vol. 70, May 2018, pp. 43–53. ScienceDirect