

INSTITUTO NACIONAL DE ENSINO SUPERIOR E PESQUISA

CENTRO DE CAPACITAÇÃO EDUCACIONAL

ADRIANNE FERREIRA DE LIMA

**ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE E O DIAGNÓSTICO
LABORATORIAL: UMA REVISÃO DA LITERATURA**

RECIFE

2015

ADRIANNE FERREIRA DE LIMA

**Anemia Hemolítica Autoimune e o Diagnóstico Laboratorial: uma revisão da
literatura**

Monografia apresentada ao Instituto Nacional de Ensino Superior e Pesquisa e Centro de Capacitação Educacional, como exigência do Curso de Pós-Graduação Lato Sensu em Hematologia e Hemoterapia Laboratorial.

Orientadora: Prof^a Dr^a Karla Melo Ferreira da Silva

RECIFE

2015

ADRIANNE FERREIRA DE LIMA

**Anemia Hemolítica Autoimune e o Diagnóstico Laboratorial: uma
revisão da literatura**

Monografia para obtenção do grau de Especialista em Hematologia e
Hemoterapia Laboratorial.

Recife, 01 de Agosto de 2015.

EXAMINADOR:

Nome:

Titulação:

PARECER FINAL:

RESUMO

A Anemia Hemolítica Autoimune (AHA) corresponde a um tipo de anemia hemolítica, cujo encurtamento da sobrevivência dos eritrócitos, é causado por auto anticorpos circulantes dirigidos contra antígenos de glóbulos vermelhos, ocasionando sua destruição via sistema complemento ou sistema reticuloendotelial. A anemia desenvolve quando a produção das hemácias pela medula não pode ser compensada pelo aumento de destruição devido à hemólise. A AHA pode ser classificada com base na sua etiologia e de acordo com a temperatura de reatividade dos anticorpos aos eritrócitos. Com base na temperatura de reatividade dos anticorpos aos eritrócitos, os auto anticorpos são geralmente do tipo quente, frio ou misto. Os anticorpos quentes reagem mais fortemente à temperatura corporal (37°), são na maioria dos casos IgG policlonais, eles são incapazes de aglutinar as hemácias e há hemólise extravascular, pelo sistema reticulo endotelial. Na AHA a frio, os auto anticorpos são da classe IgM, que reagem a temperaturas entre 4 e 18°, fixam o complemento e ocorre hemólise intravascular. O diagnóstico é baseado na detecção do teste de Coombs Direto positivo na presença de hemólise, entretanto, este apresenta sensibilidade limitada. Há outras técnicas mais sensíveis que podem ser utilizadas para diagnóstico, como a citometria de fluxo.

Palavras-chave: Anemia hemolítica. Auto anticorpos. Hemólise.

ABSTRACT

The Autoimmune Hemolytic Anemia (AIHA) corresponds to a type of hemolytic anemia, whose shortened survival of erythrocytes, it is caused by circulating autoantibodies directed against red blood cell antigens, resulting in destruction via complement system or reticuloendothelial system. Anemia develops when the production of red blood cells by the bone marrow can't be offset by the destruction due to hemolysis. Autoimmune hemolytic anemia can be classified based on its etiology and in accordance with the temperature reactivity of the antibodies to erythrocytes. Based on the temperature reactivity of antibodies to erythrocytes, the autoantibodies are usually hot type, cold or mixed. The hot antibodies react more strongly to body temperature (37°C), are in most cases IgG polyclonal, they are unable to agglutinate RBCs and there extravascular hemolysis by endothelial reticulum system. In cold AIHA, the autoantibodies are IgM, which react at temperatures between 4° and 18°C fix the complement and occurs intravascular hemolysis. The diagnosis is based on detection of positive direct Coombs test in the presence of hemolysis, however, this has limited sensitivity. There are other more sensitive techniques which can be used for diagnosis, such as flow cytometry.

Keywords: Hemolytic anemia. Autoantibodies. Hemolysis.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OMS: Organização Mundial de Saúde

SRE: Sistema Reticulo Endotelial

AHAI: Anemia hemolítica autoimune

LES: Lúpus Eritematoso Sistêmico

TAD: Teste direto da antiglobulina humana

TCD: Teste de Coombs Direto

MAC: Complexo de Ataque a Membrana

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
1.1	Justificativa	10
1.2	Objetivos	11
1.2.1	Objetivo Geral.....	11
1.2.2	Objetivos Específicos.....	11
2	METODOLOGIA	12
3	REFERENCIAL TEÓRICO	13
3.1	Anemias	13
3.1.2	Conceito e Classificação.....	13
3.2	Anemia Hemolítica	14
3.2.1	Anemia Hemolítica Autoimune.....	15
3.2.2	Anemia Hemolítica Autoimune por Anticorpos Quentes.....	16
3.2.3	Características Clínicas.....	17
3.2.4	Anemia Hemolítica Autoimune por Anticorpos Frios.....	18
3.2.5	Características Clínicas.....	18
3.3	Diagnóstico Laboratorial	19
3.3.1	Estudo do Sangue Periférico da AHAI por anticorpos quentes.....	20
3.3.2	Estudo do Sangue Periférico da AHAI por anticorpos frios.....	22
3.3.3	Estudo Bioquímico.....	23
3.3.4	Estudo Imunohematológico.....	24
3.3.5	Citometria de Fluxo.....	25
4	CONCLUSÃO	27
	REFERÊNCIAS	28
	ANEXO	31
	DECLARAÇÃO DE DIREITOS AUTORAIS	

1 INTRODUÇÃO

As Anemias Hemolíticas constituem um grupo de doenças com maior frequência congênitas, ou adquiridas, e clinicamente variadas. A base fundamental dessas anemias consiste numa redução do tempo de sobrevivência das hemácias (VIEIRA; LIMA; PETILIK, 1999). A Anemia Hemolítica Autoimune (AHAI) corresponde a um tipo de anemia hemolítica, cujo encurtamento da sobrevivência dos eritrócitos, é causado por auto anticorpos circulantes dirigidos contra antígenos de glóbulos vermelhos, ocasionando sua destruição via sistema complemento ou sistema reticuloendotelial. A anemia desenvolve quando a produção das hemácias pela medula não pode ser compensada pelo aumento de destruição devido à hemólise. Clinicamente, além da palidez cutânea-mucosa, podem ocorrer: fraqueza, icterícia, taquicardia, hepato-esplenomegalia e retardo de crescimento (COTIAS, 2010; BRASIL, 2013 ; VIEIRA; LIMA; PETILIK, 1999). A AHAI é um dos eventos autoimunes mais comuns no homem, entretanto a ocorrência em crianças e adolescentes é rara. A incidência exata é desconhecida, mas estima-se que seja de 0,2 por 1.000.000 indivíduos menores de 20 anos. O pico de incidência ocorre entre os pré-escolares. É mais comum no sexo masculino, porém é mais frequente no sexo feminino entre os adolescentes (Oliveira et al, 2006).

A AHAI pode ser classificada com base na sua etiologia e de acordo com a temperatura de reatividade dos anticorpos aos eritrócitos.

Quanto à etiologia, são classificadas em dois grupos: primária e secundária. Na primária a destruição dos glóbulos vermelhos é o único achado clínico e não se identifica doença sistêmica de base para explicar a presença de auto anticorpos. (OLIVEIRA et al, 2006; OLIVEIRA et al, 2011). A secundária ocorre no contexto de uma doença sistêmica, sendo a anemia hemolítica uma manifestação dessa doença. Pode ser secundária à infecções virais e bacterianas, imunização, em pacientes com doença auto-imune, como a colite ulcerativa; imunodeficiência, uso de drogas, tumores e doenças hematológicas como o linfoma de Hodgkin e não Hodgkin, doença de Castleman, leucemia linfocítica crônica, síndromes mielodisplásicas e hemoglobinúria paroxística noturna. (OLIVEIRA et al, 2006; OLIVEIRA et al, 2011; VALLE et al., 2006; OLIVEIRA et al, 2007; BORDIN, 2005).

Com base na temperatura de reatividade dos anticorpos aos eritrócitos, os auto anticorpos são geralmente do tipo quente, frio ou misto. Os anticorpos quentes reagem mais fortemente à temperatura corporal (37°), são na maioria dos casos IgG policlonais, eles são incapazes de aglutinar as hemácias e há hemólise extravascular, pelo sistema reticulo endotelial (SOUZA, 2003; BRASIL, 2013).

Na AHAI a frio, os auto anticorpos são da classe IgM, que reagem a temperaturas entre 4 e 18°, fixam o complemento e ocorre hemólise intravascular. Doenças linfoproliferativas e infecciosas como micoplasma são causas desse tipo de anemia hemolítica.

Na forma mista, os dois tipos de anticorpos coexistem (SOUZA, 2003; BRASIL, 2013).

O diagnóstico é baseado na detecção do teste de Coombs Direto positivo na presença de hemólise, entretanto, este apresenta sensibilidade limitada, desde que é positivo apenas quando o número de moléculas IgG por glóbulo vermelho é superior a 200. Assim, pode ser negativo em 2 a 4% dos casos, e falso positivo em 8%. Outras técnicas mais sensíveis que podem ser utilizadas são: teste relacionado ao consumo de anticorpo que fixa o complemento, teste de formação de rosetas, teste por radioimunoensaio, teste imunoenzimático e citometria de fluxo (OLIVEIRA et al, 2006; BRAGA et al, 1998).

A AHAI deve ser considerada como parte de uma doença multisistêmica complexa secundária à disfunção do sistema imune, que acarreta na diminuição do tempo de sobrevivência das hemácias. Estudos tem demonstrado um aumento na incidência dessa doença principalmente nos adultos, que tendem a desenvolver, em 25% a 30% dos casos, cronicidade (OLIVEIRA et al, 2006; LANDEIRO et al, 2005).

1.1 JUSTIFICATIVA

Tendo em vista a complexidade da Anemia hemolítica autoimune e as várias formas de apresentação da doença, esse estudo faz uma análise das principais formas de diagnóstico laboratorial para auxiliar o clínico e melhorar a condição do paciente.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Realizar uma revisão de literatura a respeito da anemia hemolítica autoimune, suas características clínicas e principais formas de diagnóstico laboratorial.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Verificar os diferentes tipos de Anemia Hemolítica
- Esplanar os tipos de anemia hemolítica autoimune
- Fornecer características clínicas da doença
- Entender as principais formas de diagnóstico laboratorial

2 METODOLOGIA

O presente artigo foi realizado através de uma pesquisa bibliográfica em literatura específica da área, abrangendo anemia hemolítica autoimune com ênfase no diagnóstico laboratorial, a partir de uma seleção de artigos, obtidos junto aos principais bancos de dados e bibliotecas virtuais de saúde e medicina, como o Scielo e PubMed. As palavras-chave utilizadas foram anemia hemolítica, auto anticorpo e hemólise, sem restrição de idioma. A busca foi baseada em artigos publicados entre os anos 2005 a 2015, porém pela importância de algumas obras, foram incluídos artigos publicados em data anterior.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 ANEMIAS

3.1.2 Conceito e Classificação

A anemia é uma das entidades nosológicas de descrição mais antiga na medicina e, provavelmente, uma das mais difundidas na humanidade. Tendo isso em vista, tornaram-se incansáveis e repetitivas as citações da estimativa da Organização Mundial de Saúde (OMS), de que mais de dois bilhões de pessoas no mundo são anêmicas, correspondendo a um terço da população mundial (FILHO SOUZA; BRESANI, 2008).

Ela corresponde à diminuição da massa de hemoglobina dos eritrócitos, caracterizada pela biossíntese anormal de hemoglobina, com consequente diminuição da capacidade de transporte de oxigênio pelo sangue (dos pulmões para os tecidos) (Carvalho et al., 2006). Apesar de ocorrer variação nos valores de referência entre os laboratórios, segundo a World health organization (2008), considera-se como anemia os níveis de hemoglobina abaixo de:

- 130 g/l em homens adultos
- 120 g/l em mulheres adultas
- 110 g/l em mulheres grávidas
- 120 g/l em crianças de 12 a 14 anos
- 115g/l em crianças de 5 a 11 anos
- 110 g/l crianças de 6 a 59 meses. (World health organization, 2008).

Como pode decorrer de múltiplas causas, a anemia é uma síndrome. Na anemia aguda, onde há perda súbita de sangue, os sinais são apenas de hipovolemia. Na anemia crônica, em que a volemia é normal por expansão do volume plasmático, há o cortejo sintomático próprio da síndrome. Pobre em hemoglobina e em eritrócitos, o sangue anêmico mostra-se descorado, com baixa viscosidade e incapaz de carrear oxigênio com a devida eficácia. Dessas alterações e das reações homeostáticas compensadoras decorrem os sinais e os sintomas de

anemia, como cefaleia, fadigabilidade, dispnéia a esforços físicos continuados, palidez, entre outros dependendo no nível da anemia (Failace et al, 2009).

3.2 Anemia Hemolítica

A destruição dos eritrócitos em geral ocorre depois de uma sobrevivência média de 120 dias, quando as células são removidas extravascularmente pelos macrófagos do sistema Retículo Endotelial (RE), em especial na medula óssea, mas também no fígado e no baço. A hemólise intravascular, onde ocorre ruptura dos eritrócitos dentro dos vasos sanguíneos, desempenha pequeno ou nenhum papel na destruição normal dos eritrócitos (HOFFBRAND, 2004). Quando há diminuição da sobrevivência eritroide, diz-se haver hemólise. A redução desta sobrevivência média é consequência direta do aumento da quantidade de hemácias destruídas diariamente. A hemólise será compensada enquanto a hiper-regeneração medular reacional, que consegue multiplicar a eritropoese até 6 a 8 vezes, mantiver as cifras hematimétricas dentro do normal. Se a sobrevivência diminuir aquém da capacidade máxima de reposição, haverá anemia hemolítica. Com esses mecanismos de compensação, hiperplasia eritropoética e expansão da medula óssea, a anemia hemolítica pode não ser observada até que a sobrevivência eritrocitária seja inferior a 30 dias. Nas anemias hemolíticas, além dos sinais e sintomas gerais das anemias, costuma haver icterícia e esplenomegalia (Failace e col, 2009; ZAGO, 2004).

As anemias hemolíticas podem ser classificadas em hereditárias e adquiridas:

- HEREDITÁRIAS
 - Membrana
 - Esferocitose Hereditária
 - Eliptocitose Hereditária
 - Metabolismo
 - Deficiência de G6PD
 - Deficiência de Piruvatoquinase
 - Hemoglobina
 - Anormalidades genéticas (HbS, HbC, Hb instável)
- ADQUIRIDAS

- Imunológicas
 - Auto-imune (por anticorpos quentes ou frios)
 - Aloimune
 - Reações hemolíticas transfusionais
 - Doença hemolítica do recém-nascido
 - Aloenxertos, especialmente transplante de medula óssea
 - Associada com drogas
- Síndrome da fragmentação eritrocitária
- Hemoglobinúria da marcha
- Infecções
 - Malária
 - Clostridia
- Agentes químicos e físicos
 - Especialmente drogas
 - Substâncias domésticas/industriais
 - Queimaduras
- Secundária
 - Hepatopatias
 - Nefropatias
- Hemoglobinúria Paroxística Noturna (HOFFBRAND, 2004)

3.2.1 Anemia Hemolítica Autoimune

Existem diversas discrasias hematológicas relacionadas à atividade do sistema imunológico, como nas anemias hemolíticas autoimunes, onde há destruição das células sanguíneas circulantes via sistema imune.

A anemia hemolítica autoimune (AHA) consiste num grupo de doenças cuja característica comum é a presença de auto anticorpos, direcionados para as glicoproteínas de membrana adsorvidas na superfície dos eritrócitos diminuindo o tempo de sobrevivência dessas células, por meio de sua remoção da circulação pelos macrófagos do sistema retículo-endotelial (OLIVEIRA et al, 2006; GENTY et al, 2002).

Sua etiopatologia ainda não foi completamente esclarecida. Algumas hipóteses são: a depressão do sistema imune através de ação viral, alteração do equilíbrio entre as células T facilitadoras e supressoras, alteração dos antígenos de superfície dos eritrócitos por vírus ou drogas e, possível reação cruzada dos anticorpos induzidos por agentes infecciosos contra antígenos de superfície dos eritrócitos. Expressa-se por meio de quadro clínico variável, no qual sobressai a anemia hemolítica (GENTY et al, 2002; OLIVEIRA et al, 2006).

Há dois mecanismos principais de destruição de eritrócitos na anemia hemolítica. Pode haver excesso de remoção de eritrócitos por células do SRE (hemólise extravascular) ou destruição direta na circulação, um processo conhecido com hemólise intravascular. O mecanismo predominante depende da patologia envolvida. Na hemólise intravascular, é liberada hemoglobina livre, que rapidamente satura as haptoglobinas plasmáticas, e o excesso é filtrado pelos glomérulos. Se o ritmo de hemólise saturar a capacidade de reabsorção tubular renal, a hemoglobina livre é excretada na urina e, como o ferro é liberado, os túbulos renais ficam carregados de hemossiderina. Metemalbumina e hemopexina também são formadas no processo de hemólise intravascular.

A AHAI é classificada de acordo com a temperatura de reatividade dos anticorpos aos eritrócitos, podendo ser AHAI por anticorpos quentes e/ou frio (HOFFBRAND, 2004; BRASIL, 2013).

3.2.2 Anemia Hemolítica Autoimune por Anticorpos Quentes

A AHAI a quente corresponde a 60% - 70% das AHAI e é causada por auto anticorpos eritrocitários da classe IgG que mostram ligações ótimas a 37°C, sendo incapazes de aglutinar as hemácias, a hemólise então ocorre pela destruição pelo SRE. Os auto anticorpos são cruciais para a patogênese da AHAI e o isotipo é importante para a significância clínica. Cerca de 98% dos casos são da subclasse IgG1, de natureza policlonal e reagem contra antígenos do sistema Rh.

Os eritrócitos são revestidos por IgG, unicamente ou com complemento e, por isso, são ingeridos pelos macrófagos do SRE, os quais tem receptores para o fragmento Fc da Imunoglobulina. Geralmente, o sistema complemento não é

completamente ativado, deixando produtos de degradação (complemento C3c, C3d) como traços nos glóbulos vermelhos. No entanto, a ativação do complemento pode prosseguir até a formação e introdução do complexo de ataque à membrana (MAC) C6-9, levando à lise dos glóbulos vermelhos. Parte da membrana revestida por anticorpo é perdida, de modo que a célula torna-se progressivamente mais esférica para manter o mesmo volume e por fim, é prematuramente destruída, em especial no baço. IgG1 e IgG3 são ativadoras do complemento eficientes, enquanto IgG2 e IgA tem apenas uma capacidade fraca para ativar o complemento. IgG4 não ativa o complemento. Quando os eritrócitos são revestidos por IgG e complemento (C3d, o fragmento degradado do C3) a destruição é disseminada por todo o SRE (hemólise extravascular) (CANÇADO et al, 2004; HOFFBRAND, 2004; ZEERLEDER, 2011; BRASIL, 2013).

3.2.3 Características Clínicas

A doença pode ocorrer em qualquer idade em ambos os sexos, sendo mais comum em mulheres adultas. Em crianças é geralmente autolimitada, em adultos é usualmente crônica, podendo apresentar exacerbação e remissão ao longo do tempo. Apresenta-se como anemia hemolítica de gravidade variável, pois depende da quantidade e efetividade dos anticorpos que causam a anemia. Na forma mais branda não há sintomas clínicos. Na maioria dos pacientes, a anemia é moderada a grave (hemoglobina entre 6-10 g/dL), estando os sintomas relacionados com que ela se instala e a capacidade funcional do indivíduo. A esplenomegalia é frequente. Pode ocorrer isoladamente ou em associação com outras doenças, em 25% dos casos é secundária a outras doenças. Neoplasias linfoides e doenças do colágeno como lúpus eritematoso sistêmico (LES), artrite reumatoide e imunodeficiência são as mais frequentemente associadas. Quando secundária ao LES, os eritrócitos tipicamente são revestidos por imunoglobulina e complemento. Quando associada à purpura trombocitopênica idiopática (condição clínica similar que acomete as plaquetas), é conhecida como síndrome de Evans. Medicamentos como cefalosporinas, levodopa, metildopa, penicilinas, quinidina e anti-inflamatórios não esteroidais também são descritos como causadores da AHA1 a quente (OLIVEIRA et al, 2006; PACKMAN, 2008).

3.2.4 Anemia Hemolítica Autoimune por Anticorpos Frios

AHAI a frio corresponde a 20% - 30% das AHAI e é causada por auto anticorpos eritrocitários da classe IgM (crioaglutininas). Esses anticorpos normalmente reagem melhor em temperaturas mais baixas (0 a 4°C), ligam-se às hemácias nas regiões corpóreas periféricas, em que a temperatura do sangue é mais fria, podendo levar à aglutinação de eritrócitos na circulação sanguínea. São clinicamente relevantes, uma vez que podem induzir essa fixação do complemento in vivo.

Anticorpos IgM são bastante eficientes na fixação do complemento, por isso pode ocorrer hemólise tanto extra com intravascular. Na hemólise intravascular na presença de IgM, a ativação do complemento pode prosseguir até a inserção do MAC, levando à destruição intravascular das células vermelhas. Nos eritrócitos, o complemento é detectado sozinho, pois os anticorpos são eluídos das células nas áreas mais quentes da circulação. Em quase todas as síndromes de AHAI a frio o anticorpo é dirigido contra o antígeno "I" da superfície dos eritrócitos, na mononucleose infecciosa, é anti-i (HOFFBRAND, 2004; ZEERLEDER, 2011; BRASIL, 2013).

3.2.5 Características Clínicas

O quadro clínico está relacionado com a anemia e a aglutinação das hemácias quando há exposição ao frio. O paciente costuma ter anemia hemolítica crônica agravada pelo frio e quase sempre associada à hemólise intravascular, mas a maioria apresenta anemia leve representada clinicamente por palidez e fadiga. Icterícia leve e esplenomegalia podem estar presentes. O paciente pode ter acrocianose (pele arroxeada nas extremidades), na ponta do nariz, nas orelhas, nos dedos, causada por aglutinação dos eritrócitos nos pequenos vasos.

As crioaglutininas são usualmente produzidas em resposta a infecções ou por doenças linfoproliferativas. É comum em pessoas com doença do colágeno, neoplasias e infecções crônicas, aparecem transitoriamente no decurso da pneumonia por Mycoplasma, crioaglutinação em paciente jovem com febre e tosse,

deve sugerir esse diagnóstico. Podem surgir crioaglutininas também na mononucleose infecciosa, mas em nenhuma das duas infecções a amplitude térmica das crioaglutininas é suficiente para causar hemólise significativa in vivo.

Apesar da forte associação com causas secundárias, a forma mais comum, no entanto, é a idiopática ou primária, que ocorre principalmente em indivíduos na sexta e sétima década de vida. Há uma doença de crioaglutininas, rara, em que um título acima de 1/256 e uma atividade até acima de 30°C provocam distúrbios na circulação periférica, com púrpura, síndrome de Raynaud e anemia hemolítica. Esta forma atualmente vem sendo considerada uma desordem linfoproliferativa não maligna de células B, associada à monoclonalidade de IgM na quase totalidade dos casos. A Hemoglobinúria paroxística a frio é um subtipo raro de AHAI descrita inicialmente como manifestação da sífilis terciária. Em virtude do significativo declínio de sífilis terciária, os raros casos relatados nos últimos anos estão relacionados a infecções virais, especialmente em crianças.

Os anticorpos geralmente aparecem cerca de uma semana após o início das infecções e persistem por 1 a 3 meses. As crises são precipitadas quando há exposição ao frio e estão associadas à hemoglobinúria, calafrios, febre, dor abdominal e nos membros inferiores. A doença usualmente tem curso limitado. Os sintomas aparecem comumente duas a três semanas após o início da infecção e se resolvem espontaneamente duas a três semanas mais tarde (BERENTSEN; TJONNFJORD, 2012; FAILACE et al, 2009).

A identificação da doença no seu estágio inicial e o encaminhamento ágil e adequado para o atendimento especializado são essenciais para um melhor resultado terapêutico e prognóstico dos casos.

3.3 Diagnóstico Laboratorial

Além de uma avaliação cuidadosa da história clínica, exames laboratoriais desempenham um papel central no diagnóstico da AHAI (ZEELEDER, 2011). Duas informações são de extrema importância para o clínico tomar uma decisão de

tratamento adequado: 1 – Que tipo de anticorpo está envolvido. 2 – Se a AHAI é primária ou secundária (LECHNER; JAGER, 2010).

Isso é possível através do diagnóstico laboratorial observando os seguintes aspectos: estudo do sangue periférico, o estudo imuno-hematológico e o estudo bioquímico.

3.3.1 Estudo do Sangue Periférico da AHAI por anticorpos quentes

Em geral, os pacientes com AHAI apresentem a série branca e plaquetária normais. Plaquetopenia associa-se à Síndrome de Evans, esta é uma doença incomum de adultos e crianças, com prevalência não definida, em que há uma combinação de AHAI e púrpura trombocitopênica idiopática, associada ou não a neutropenia (BRASIL, 2013).

Na AHAI por anticorpos quentes os achados hematológicos são típicos de anemia por hemólise extravascular, com esferocitose e policromatocitose proeminentes no sangue periférico (Figura 1) (HOFFBRAND, 2004). O grande número de macrócitos policromáticos, pela elevada atividade eritropoética, aumenta o VCM. Observa-se também RDW elevado (FAILACE et al, 2009). Uma das características importantes da hemólise é a reticulocitose, resposta normal da medula óssea para a perda periférica de células vermelhas no sangue. Na ausência de doença concomitante da medula óssea, uma reticulocitose acelerada deve ser observada no prazo de três a cinco dias depois de uma diminuição da hemoglobina (Figura 2). A revisão do esfregaço de sangue periférico é um passo crítico na avaliação de qualquer anemia. Junto com a avaliação de morfologias patognomônicas de glóbulos vermelhos, como esferócitos ou esquizócitos, o exame de leucócitos e plaquetas quando coexistem doenças hematológicas ou desordens malignas, é essencial (BAEK et al, 2011).

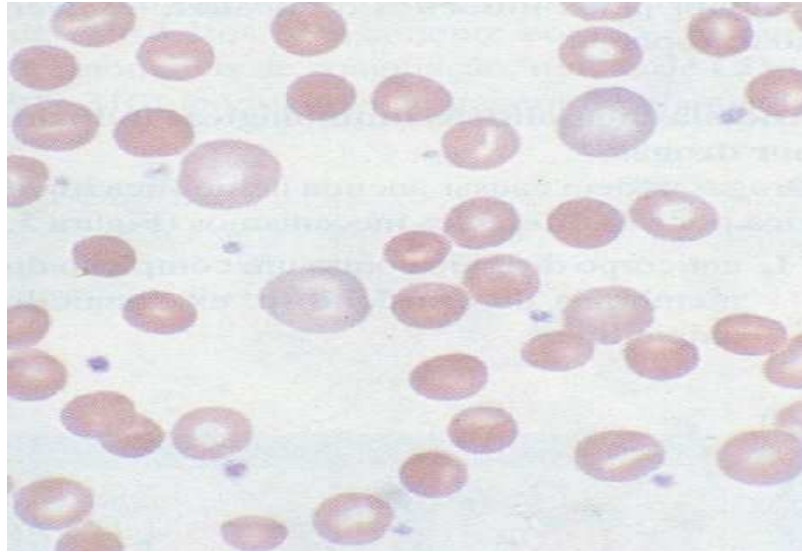


Figura 1: Microesferócitos e Macrócitos policromáticos (Hoffbrand, 2004)

ERITRÓCITOS	2,02	M/μL
HEMOGLOBINA	7,5	g/dL
HEMATÓCRITO	21	%
VCM	103,9	fL (macrocitose)
HCM	37,1	pg
CHCM	35,7	%
RDW	19,2	(anisocitose)
Macrócitos policromáticos 4+		
Esferócitos 2+		
RETICULÓCITOS	24,2	%
	488840	/μL
IRF	0,515	
PLAQUETAS	225000	/μL

Figura 2: Eritrograma em anemia hemolítica auto-imune (Failace, 2009)

Em alguns pacientes com AHAI crônica de longa duração, a atividade esplênica desencadeia a formação de dacriócitos, e o hemograma pode lembrar mielofibrose, ou anemia perniciosa se a macrocitose for significativa (FAILACE et al, 2009).

3.3.2 Estudo do Sangue Periférico da AHAI por anticorpos frios

Na AHAI por anticorpos frios os achados laboratoriais são semelhantes ao da AHAI por anticorpos quentes. Na distensão sanguínea, entretanto, a esferocitose é menos chamativa e nota-se a grosseira crioaglutinação dos eritrócitos, distinta do *roleaux* (Figura 3) (HOFFBRAND, 2004).

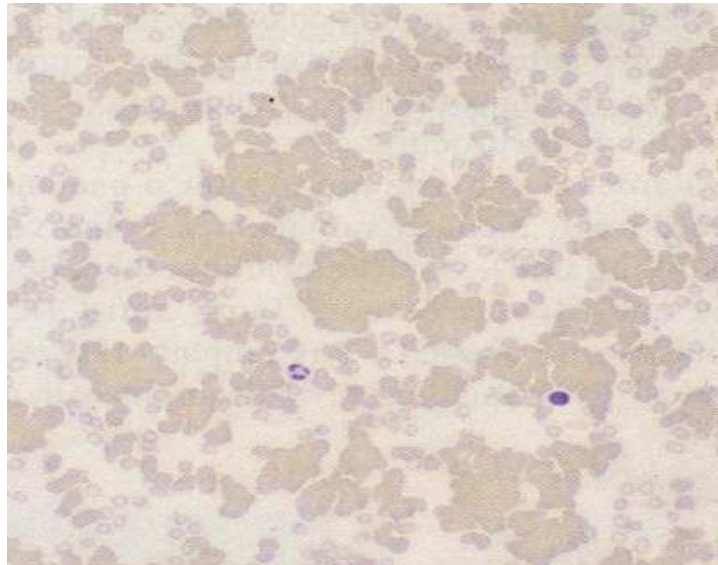


Figura 3: Grosseira auto aglutinação nas distensões feitas à temperatura ambiente na AHAI com anticorpos frios (Hoffbrand, 2004).

As crioaglutininas interferem no VCM, gerando resultados incoerentes, com aumento impossível do CHCM (Figura 4). O aquecimento do sangue a 37°C, com passagem imediata no contador, costuma gerar resultados corretos (FAILACE et al, 2009). Nesses casos, não deve colocar a amostra em geladeira, pois potencializa o processo de crioaglutinação e dificulta ou impede a desaglutinação. Casos graves requerem nova coleta e passagem imediata do sangue no equipamento, antes da queda da temperatura somática. Raros casos (extremos) requerem manutenção da amostra em banho e contagem de eritrócitos em hemocitômetro (OLIVEIRA, 2014).

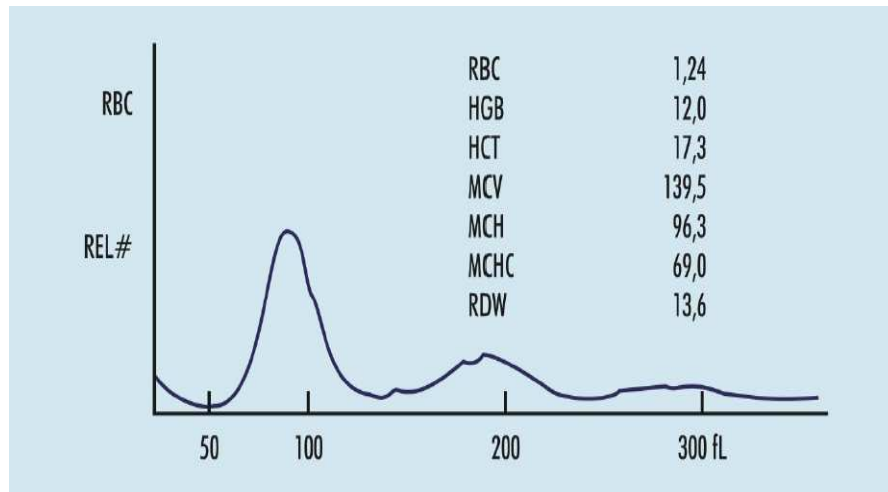


Figura 4: Hemograma em paciente com alto título de crioaglutininas (Failace, 2009).

É importante anotar a presença de crioaglutininas no resultado do hemograma porque como exposto anteriormente nas manifestações clínicas da doença, elas podem aparecer em pessoas com neoplasias, doença do colágeno, infecções crônicas, no decurso da pneumonia por *Mycoplasma*, entre as outras, fornecendo assim, dados para o correto diagnóstico médico.

3.3.3 Estudo Bioquímico

A bioquímica do paciente com AHAI vai ter os achados típicos de pacientes com hemólise extravascular e intravascular. No caso da AHAI por anticorpos quentes, onde predomina a hemólise extravascular, observa-se aumento da bilirrubina indireta, Desidrogenase Láctica (LDH) elevado e redução dos níveis séricos de haptoglobina. Na hemólise intravascular, que ocorre nos pacientes com AHAI com anticorpos frios, é possível observar os mesmos achados bioquímicos além de hemoglobinúria (BRASIL, 2013).

LDH e hemoglobina são liberadas na circulação quando as hemácias são destruídas. Essa hemoglobina é convertida em bilirrubina não conjugada no baço ou pode ser ligada no plasma por uma haptoglobina. O complexo haptoglobina-hemoglobina é eliminado rapidamente pelo fígado, levando assim a níveis baixos ou indetectáveis de haptoglobina (BAECK et al, 2011).

3.3.4 Estudo Imunohematológico

O teste direto da antiglobulina humana (TAD), mais conhecido no Brasil como teste de Coombs direto (TCD), tem por finalidade a detecção de anticorpos ou componentes do complemento fixados às hemácias “in vivo” ou “in vitro”. Tecnicamente baseia-se no fato de que os anticorpos que recobrem as hemácias podem ser identificados pela adição de anticorpos antiglobulina humana. A presença de aglutinação indica que o teste é positivo, as hemácias podem estar sensibilizadas por anticorpos ou por componentes do complemento (Figura 5). A positividade depende da distância entre as moléculas do anticorpo na membrana, de modo que pode ser transitoriamente negativo e positivar em exames posteriores, ou vice-versa (HEMOCENTRO DE CAMPINAS, 2010).

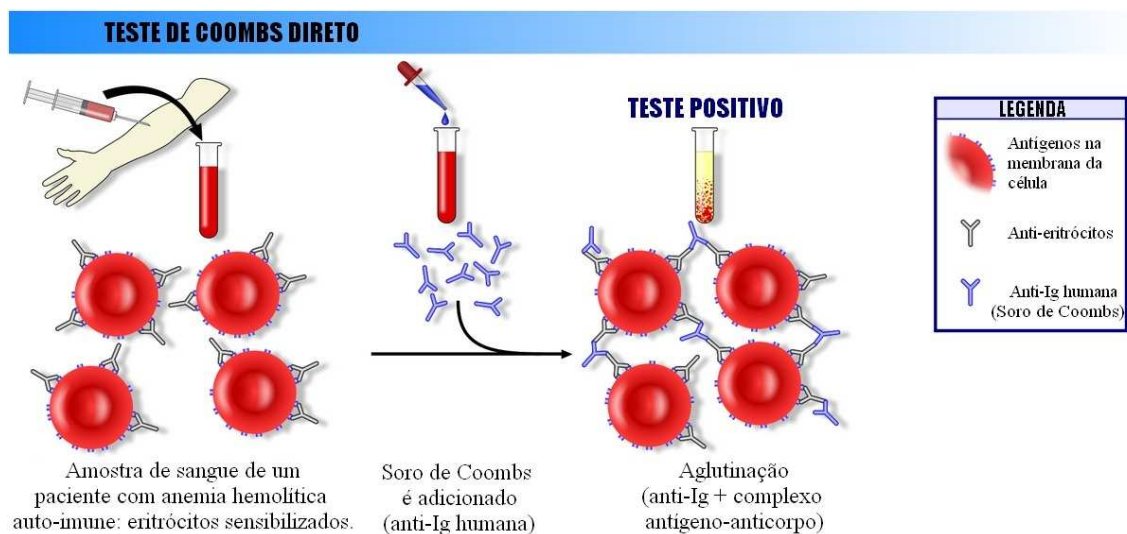


Figura 5: Teste de Coombs Direto (<http://www.biomedicinapadiao.com.br/2010/11/teste-de-coombs-direto.html>)

O soro de Coombs contém anticorpos contra IgG humana e contra frações do completo C3, mas apresenta pouca atividade contra IgM e IgA. Dessa maneira, para complementar o teste poliespecífico, é necessário outro teste com um reagente monoespecífico para IgG, IgM e IgA, a fim de detectar qual isótopo de

imunoglobulina está revestindo as hemácias. Para se definir a especificidade do anticorpo devem ser aplicados testes de eluição.

Devido ao seu tamanho, auto anticorpos IgM são difíceis de detectar, porque eles são removidos durante os processos de lavagem. A temperatura ideal para a ligação de IgM e a temperatura na qual o teste de Coombs está sendo realizado são cruciais. Se houver aglutinação espontânea após a incubação de soro de um paciente com as hemácias teste a 16°C, auto-anticorpos IgM a frio devem ser suspeita. Um anticorpo a frio clinicamente relevante deve ser considerado se ocorrer aglutinação, a 30°C (OLIVEIRA et al, 2006; ZEERLEDER, 2011). É interessante que em quase todas as síndromes de AHAI a frio o anticorpo é dirigido contra o antígeno "I" da superfície dos eritrócitos (HOFFBRAND, 2004).

O TAD quando positivo é patognomônico, o que ocorre em aproximadamente 90% dos casos. O teste de Coombs indireto, que pesquisa anticorpos livres no plasma, não é indicado, pois se esgotam nos receptores de eritrócitos (FAILACE et al, 2009).

Aproximadamente 5-10% dos pacientes com diagnóstico clínico de AHAI apresentam TAD negativo, evidenciando que o teste possui sensibilidade limitada. Em geral, as técnicas desenvolvidas para avaliar pacientes com AHAI com TAD negativo apresentam resultados satisfatórios, e o tipo de teste é escolhido em função da melhor reprodutibilidade de resultados, facilidade de realização, menor toxicidade. Um dos testes de escolha é a citometria de fluxo (BRAGA et al, 1998).

3.3.5 Citometria de Fluxo

Citometria de fluxo é um método tecnológico que permite verificar características físico-químicas em células ou partículas individualmente, permitindo caracterizar variações destas. Permite evidenciar e caracterizar eventos, como identificação de antígenos fixados na superfície de células ou partículas, suspensas em meio líquido, quando tratadas com anticorpos monoclonais marcados com fluorocromo.

A citometria de fluxo oferece a vantagem de analisar células individualmente, quando marcadas com fluorocromos, as quais são monitoradas em tempo real, sem a necessidade de separar células marcadas das não marcadas (GOLIM et al, 2007).

Na AHAI, essa técnica pode ser utilizada para a quantificação de moléculas de imunoglobulinas expressas na superfície das células, o que aumentará a sua importância no caso de Coombs negativo. Isto pode ser feito através da medição e comparação da intensidade de fluorescência (expressos como a área média geométrica) de antígenos expressas na superfície celular utilizando um padrão externo, tal como são quantificadas células granulares. É um método de elevada precisão, reprodutibilidade e comparabilidade de outros ensaios sensíveis (THEDSAWAD; TAKA; WANACHIWANAWIN, 2011).

4 CONCLUSÃO

A anemia hemolítica autoimune (AHA) consiste num grupo de doenças cuja característica comum é a presença de auto anticorpos, estes podem ser do tipo a quente ou a frio, que ocasionam a destruição dos eritrócitos via sistema complemento ou sistema reticuloendotelial. A identificação da doença no seu estágio inicial é essencial para um melhor resultado terapêutico e prognóstico dos casos. Para isso o diagnóstico laboratorial é imprescindível. Na AHA por anticorpos quentes os achados hematológicos são esferocitose, esquizócitos e policromatocitose proeminentes no sangue periférico, há elevação do VCM e RDW. Na AHA por anticorpos frios os achados laboratoriais são semelhantes ao da AHA por anticorpos quentes. Na distensão sanguínea, entretanto, a esferocitose é menos chamativa e nota-se a grosseira crioaglutinação dos eritrócitos, que é característica dessa anemia. Há resultados incoerentes do VCM e aumento impossível do CHCM. O teste de Coombs Direto positivo é patognomônico para fechar o diagnóstico, mas outros testes sensíveis como a citometria de fluxo auxiliam quando o TCD é negativo.

REFERÊNCIAS

BAEK, S.W., et al – Clinical features and outcomes of autoimmune hemolytic anemia: a retrospective analysis of 32 cases. **The Korean Journal of Hematology**, v. 46, n. 2, p. 111-117, 2011.

BERENTSEN S.; TJONNFJORD G.E. Diagnosis and treatment of cold agglutinin mediated autoimmune hemolytic anemia. **Blood Rev.** v. 26, n. 3, p. 107-115, 2012.

BORDIN, J.O. – Anemia hemolítica auto-imune e outras manifestações imunes da leucemia linfocítica crônica. **Rev. bras. hematol. hemoter.** v. 27, n. 4, p. 257-262, 2005.

BRAGA, G.W. et al., Diagnóstico Laboratorial da anemia hemolítica auto-imune: características do teste manual direto do Polybrene. **Rev ass Med brasil** v. 44, n. 1, p. 16-20, 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde; Secretaria de Atenção à Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas. **Anemia hemolítica autoimune**. Portaria SAS/MS nº 1.308, de 22 de novembro de 2013.

CANÇADO, R.D.; et al., Tratamento da anemia hemolítica auto-imune. **Arq Med Hosp Fac Cienc Med Santa Casa**. São Paulo, v. 50, n. 2, p. 56-60, 2004.

CARVALHO, M.C.; BARACAT, E.C.E.; SGARBIERI, V.C.; Anemia Ferropriva e Anemia de Doença Crônica: Distúrbios do Metabolismo do Ferro. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 13, n. 2, p. 54-63, 2006.

COTIAS, P.M.T. Anemias Hemolíticas Induzidas por Medicamentos – AHIM e suas implicações na Hemoterapia Clínica. **Agência Transfusional do IPEC/FIOCRUZ**, fevereiro 2010.

FAILACE, Renato e colaboradores. Hemograma – manual de interpretação. 5ª edição, Porto Alegre, Artmed Editora S.A., 2009.

FILHO, M.B.; SOUZA, A.I.; BRESANI, C.C.; Anemia como problema de saúde pública: uma realidade atual. **Ciênc. saúde coletiva** Rio de Janeiro, v. 13, n. 6, Nov./Dec, 2008.

GENTY I., et al., Characteristics of autoimmune hemolytic anemia in adults; retrospective analysis of 83 cases. **Rev. Med Interne** v. 23, n. 11, p. 901-909, 2002.

GOLIM, M.A., et al. – Conjugação e validação de controle isotópico IgG₁-FITC para uso em citometria de fluxo. – **Rev bras hematol. hemoter.** v. 29, n. 4, p. 361-368, 2007.

Hemocentro de Campinas – Serviço de Transusão do Laboratório de Compatibilidade 2010.

HOFFBRAND, A.V. Fundamentos em Hematologia/A.V. Hoffbrand; J.E. Pettit e P.A.H. Moss; trad. Ivan Carlquist – 4.ed. – Porto Alegre: Artmed, 2004.

LANDEIRO, L., et al., Depleção de células B no tratamento de citopenias auto-imunes. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 27, n. 2, p. 102-105, 2007.

LECHNER, K & JAGER, U - How I treat autoimmune hemolytic anemias in adults. **Blood**, v. 116, n.11, p. 1831–1838, 2010.

LOTÉRIO, H.A.; Anemias. *Perspectivas Médicas*, v.12, enero-diciembre, 2001, pp.5-8, Faculdade de Medicina de Jundiaí.

OLIVEIRA, M.C.L.A, et al., - Anemia hemolítica auto-imune como sintoma inicial de linfoma de Hodgkin. **Rev Med**, Minas Gerais, v. 17 (1/2), p. 64-67, 2007.

OLIVEIRA, M.C.L.A, et al., Clinical course of autoimmune hemolytic anemia: na observational study. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 82, n. 1, p. 58-62, 2006.

OLIVEIRA, M.C.L.A.; OLIVEIRA, B.M.; MURAO, M.; VIEIRA, Z.M.; GRESTA L.T.; & VIANA, M.B. – Curso Clínico da anemia-hemolítica auto-imune: um estudo descritivo. **Jornal de Pediatria**, v. 82, n.1, p. 58-62, 2011.

OLIVEIRA, R.A.G – Atlas de Hematologia – 1ed. – São Paulo: Livraria Médica Paulista Editora, 2014.

PACKAMN CH. Hemolytic anemia due to warm autoantibodies: new and traditional approaches to treatment. **Clin Adv Hematol Oncol**. v. 6, n. 10, p. 739-741, 2008.

SACKEY, K. – Hemolytic Anemia. **Pediatr Rev**, v. 20, p. 152-158, 1999.

SOUZA, R.A.S. – Observação de anemia hemolítica auto-imune em artrite reumatoide. **Rev. Bras. hematol. hemoter**. v. 25, n. 4, p. 247-249, 2003.

THEDSAWAD, A.; TAKA, O. & WANACHIWANAWIN, W. – Development of flow cytometry for detection and quantitation of red cell bound immunoglobulin G in autoimmune hemolytic anemia with negative direct Coombs test. – **Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology**, v. 29, n. 4, p. 364-367, 2011.

VALLE, L.; PINTO, P.; PIMENTA, S.; DIAS, M.; PRÍNCIPE, F.; SOUSA, R.; Doença de Castleman Retroperitoneal – Caso Clínico e Revisão da Literatura. **Arquivos de Medicina**, v. 19 (1-2), p. 29-33, 2006.

VIEIRA, M.A.; LIMA, I.N.; PETILIK, M.E.I.; Abordagem Ambulatorial do Nutricionista em Anemia Hemolítica. **Rev. Nutri**, Campinas, v. 12, n. 1, p. 103-113, jan./abr., 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005: WHO global database on anaemia**. Geneva: World Health Organization, 2008

ZAGO, M.A.; FALCÃO, R.P.; PESQUINI, R. Hematologia: fundamento e prática. São Paulo: Atheneu, 2004.

ZEERLEDER, S. – Autoimmune haemolytic anaemia - a practical guide to cope with a diagnostic and therapeutic challenge. **The Netherlands Journal of Medicine**, v. 69, n. 4, p. 177-183, 2011.

ANEXO
DECLARAÇÃO DE DIREITOS AUTORAIS

Eu, Adrienne Ferreira de Lima, portadora do documento de identidade RG 7.328.582, CPF nº 077.392.804-96, aluna regularmente matriculada no curso de Pós- Graduação em Hematologia e Hemoterapia Laboratorial, do programa de *Lato Sensu* da INESP – INSTITUTO NACIONAL DE ENSINO SUPERIOR E PESQUISA, sob o nº HC1301419 declaro a quem possa interessar e para todos os fins de direito, que:

1. Sou a legítima autora da monografia cujo título é: “Anemia Hemolítica Autoimune e o Diagnóstico Laboratorial: uma revisão da literatura”, da qual esta declaração faz parte, em seus ANEXOS;
2. Respeitei a legislação vigente sobre direitos autorais, em especial, citado sempre as fontes as quais recorri para transcrever ou adaptar textos produzidos por terceiros, conforme as normas técnicas em vigor.

Declaro-me, ainda, ciente de que se for apurado a qualquer tempo qualquer falsidade quanto às declarações 1 e 2, acima, este meu trabalho monográfico poderá ser considerado NULO e, conseqüentemente, o certificado de conclusão de curso/diploma correspondente ao curso para o qual entreguei esta monografia será cancelado, podendo toda e qualquer informação a respeito desse fato vir a tornar-se de conhecimento público.

Por ser expressão da verdade, dato e assino a presente DECLARAÇÃO,

Em Recife, 01/Agosto de 2015.

Adrienne Lima
Assinatura do (a) aluno (a)

Autenticação dessa assinatura, pelo funcionário da Secretaria da Pós- Graduação <i>Lato Sensu</i>
