

Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto
Especialização em Hematologia Avançada

Anemia Hemolítica Auto Imune: Principais métodos diagnósticos

Leonardo Cirilo Novato

São José do Rio Preto

2012

Resumo

A anemia hemolítica autoimune (AHAI) é uma condição clínica onde autoanticorpos se ligam à superfície dos eritrócitos, ocasionando sua destruição via sistema complemento ou sistema reticuloendotelial.

É uma doença que pode ser classificada de acordo com a temperatura de reatividade dos autoanticorpos à membrana eritrocítica. Assim, temos a AHAI a quente, que se caracteriza por reação dos autoanticorpos a temperatura de 37° C, não sendo capazes de aglutinar os eritrócitos, e a hemólise ocorre pela destruição pelo sistema reticuloendotelial. Na AHAI a frio, os autoanticorpos frios se ligam aos eritrócitos em temperaturas abaixo de 37° C, e a hemólise ocorre nos eritrócitos devido à aglutinação deles na circulação sanguínea, conseqüentemente o sistema complemento é ativado e ocorre a hemólise. Ainda existe a AHAI de forma mista, onde há o predomínio dos dois tipos de anticorpos. A AHAI também pode ser classificada com base em sua etiologia, sendo classificada em idiopática ou secundária a outras doenças como as linfoproliferativas, imunodeficiências, infecções ou drogas.

Para o diagnóstico são realizados vários testes como hemograma, dosagem de bilirrubinas, desidrogenase láctica, haptoglobina e exames confirmatórios como o teste de Coombs direto.

Palavras chave: Anemia hemolítica auto imune, coombs direto, anticorpos quentes, anticorpos frios.

¹-Bacharel em Ciências Biológicas: Modalidade Médica pelo Centro Universitario Barão de Mauá.

Introdução

A anemia hemolítica auto imune (AHAI) é uma doença caracterizada por produção de autoanticorpos que se aderem a membrana dos eritrócitos, promovendo sua destruição via sistema reticuloendotelial ou sistema complemento (ENGELFRIET, et al., 1992).

Essa doença pode ser classificada de acordo com o tipo de anticorpo; que pode ser quente ou frio, dependendo da temperatura em que ocorre agregação entre autoanticorpos e eritrócitos ou ainda por sua etiologia que pode ser idiopática ou secundária a outras patologias.

O quadro clínico é variável e os sintomas iniciais são clássicos de anemia, como dispnéia, adinamia e tontura (VALENT, LECHNER, 2008).

Para o diagnóstico são realizados exames como hemograma, dosagem de bilirrubinas, desidrogenase láctica (DHL), reticulócitos, haptoglobina, e alguns exames complementares para confirmação como teste da antiglobulina direta (TAD) também conhecido como Coombs direto, ou ainda o teste manual de Polybrene (BRAGA, et al., 1998/ MURAHOVSKI, et al., 2010).

Objetivos

Realizar uma revisão bibliográfica a respeito da AHAI, demonstrando as principais técnicas laboratoriais para seu diagnóstico.

Fornecer informações gerais sobre a AHAI para a sociedade.

Metodologia

Para a realização deste trabalho, foi utilizada a pesquisa qualitativa, através de revisão bibliográfica, por levantamento de dados em livros e artigos, utilizando como palavras chave: anemia hemolítica auto imune, autoanticorpos quentes, autoanticorpos frios, coombs direto.

Sendo assim, foram abordados os autores de maior relevância do assunto abordado, através da leitura sistemática de artigos que correlacionavam os critérios de inclusão, evidenciando os principais métodos diagnóstico para a AHAI.

Anemia Hemolítica Auto Imune

A anemia hemolítica auto imune é uma patologia na qual autoanticorpos fixados a antígenos na membrana eritrocítica, medeiam a destruição precoce dos eritrócitos, via sistema complemento ou sistema reticuloendotelial. De acordo com um protocolo estabelecido pela HEMORIO (2006) essa fixação imune culmina em uma série de reações em cascata, que levam a hemólise intravascular pela lise dos eritrócitos, ou hemólise extravascular através da fagocitose pelo sistema macrofagocítico.

Os portadores apresentam um quadro clínico variável, sendo mais evidente a anemia hemolítica. A etiologia desta doença, ainda não está totalmente esclarecida, mas acredita-se que ela esteja relacionada a alterações no sistema imune, devido a infecção viral, alteração dos antígenos de superfície dos eritrócitos por vírus ou drogas (OLIVEIRA, 2006)

Essa patologia é classificada de acordo com o tipo de anticorpo e em relação a presença ou ausência de causas etiológicas. De acordo com o tipo de anticorpo, pode ser por anticorpos quentes, quando se tem uma reação mais intensa a 37°C; por anticorpos frios, quando as reações ocorrem em temperatura inferior a 37°C ou mista quando há a presença desses dois tipos de anticorpos. De acordo com a etiologia, pode ser caracterizada por idiopática ou secundária a doenças malignas como linfomas e carcinoma ovariano, doenças inflamatórias como lúpus eritematoso sistêmico, infecções virais ou uso de drogas como a metildopa (DEL GIGLIO, KALIKS, 2007/ GERTZ, 2007).

Os auto anticorpos quentes mais frequentemente encontrados, são do tipo IgG e são responsáveis por cerca de 70% a 80% de todos os casos de AHAI, podendo ocorrer em qualquer idade, mas com prevalência em mulheres adultas (MURAHOVSKI et al., 2010). Podem estar associados ou não ao sistema complemento, levando a destruição dos eritrócitos por células fagocíticas esplênicas, que apresentam receptores para a porção Fc dos anticorpos IgG e também para as porções C3 e C4 do complemento (BAIN, 2007).

De acordo com Murahovski et al (2010), os anticorpos ativos quando em temperaturas baixas podem provocar tanto a doença das aglutininas a frio,

que são chamadas de crioaglutininas, quanto a hemoglobinúria paroxística noturna ao frio, que são duas doenças clinicamente distintas. A prevalência dos anticorpos frios é bem menor, e na doença das aglutininas a frio, há um predomínio de anticorpos IgM, no qual é responsável por aproximadamente 90% dos casos (ULVESTAD et al., 1999). Essas imunoglobulinas são capazes de ligar-se aos eritrócitos a temperaturas abaixo de 37°C. A hemólise ocorre pelos macrófagos do sistema retículo endotelial e normalmente está associada a fixação do complemento, especificamente a proteína C3b. De acordo com Del Giglio e Kaliks (2007), esses auto-anticorpos são específicos para os antígenos I/i. Esses antígenos são expressos na membrana eritrocítica, sendo 'I' presentes nas células maduras e 'i', em eritrócitos do período pré-natal. Essa AHAI pode ocorrer durante a recuperação de quadros infecciosos intensos ou no decorrer de uma doença linfoproliferativa do tipo B. Dentre as infecções mais comuns podemos mencionar a pneumonia por micoplasmas, geralmente causada pelo *Mycobacterium pneumoniae* e também a mononucleose infecciosa pelo vírus Epstein-Barr, no entanto, de acordo com Berentsen et al (2007), a forma mais usual desse tipo de AHAI, continua sendo a idiopática, tendo sua prevalência em pessoas entre 60 e 70 anos de idade.

O portador da AHAI apresenta sinais clássicos de anemia, como dispnéia, adinamia e tontura (VALENT, LECHNER, 2008). Em casos mais graves pode ocorrer icterícia e/ou esplenomegalia. Durante a evolução clínica da doença ainda podem acontecer eventos tromboembólicos como trombose venosa profunda, tromboembolismo pulmonar e infartos esplênicos (DEL GIGLIO; KALIKS, 2007). Em AHAI por autoanticorpos frios, pode ocorrer a adesão de eritrócitos às paredes dos microvasos, acarretando em alterações no fluxo sanguíneo, podendo apresentar acrocianose e fenômeno de Raynaud, pelo fato do sangue nas extremidades ser mais susceptível e acessível às temperaturas externas (ENGELFRIET et al., 1992).

Diagnóstico Clínico

Os aspectos clínicos da doença são distintos de acordo com o tipo de anticorpo: quente ou frio. Na AHAI a quente, o curso da doença é variável, estando relacionado a quantidade e efetividades dos anticorpos IgG. Segundo

Pirofsky (1975) no início da doença, os sintomas quase não aparecem e o teste de Coombs direto é positivo. A anemia apresenta-se de forma moderada a grave, com índices de hemoglobina entre 6,0 e 10,0 g/dL. Há uma variação de acordo com a idade, onde nas crianças, a doença apresenta-se geralmente de forma autolimitada; em adultos, é normalmente crônica, podendo apresentar exacerbação ou regressão com o passar do tempo (ENGELFRIET et al., 1992).

Os pacientes portadores de AHAI ao frio apresentam uma leve anemia, sendo clinicamente representada por fadiga e palidez. Em épocas frias, esse quadro se intensifica, por aumentar a hemólise, acarretando em hemoglobinemia, hemoglobinúria e icterícia (BUCHANAN et al., 1976).

Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico da AHAI é estabelecido quando o paciente apresenta evidências clínicas ou laboratoriais de hemólise associadas à presença de autoanticorpo.

Para o diagnóstico são realizados vários testes como hemograma, dosagem de bilirrubina, DHL e haptoglobina. Além disso, exames confirmatórios são necessários para demonstrar a presença das imunoglobulinas ou proteínas do sistema complemento na membrana do eritrócito através do teste de Coombs direto (DEL GIGLIO, KALIKS, 2007).

O hemograma do paciente com AHAI apresenta-se com esferocitose, policromatocitose e macrócitos policromáticos. Em casos mais severos nota-se a presença de eritroblastos, e raramente precursores granulocíticos. Pelo fato da anemia ser hemolítica, tem-se uma redução da série vermelha (eritrócitos, hemoglobina e hematócrito). Os índices de volume corpuscular médio (VCM) e hemoglobina corpuscular média (HCM) podem estar normais ou elevados, RDW e HDW estão aumentados (BAIN, 2007).

As dosagens de bilirrubina indireta, desidrogenase láctica e urobilinogênio urinário estão elevados devido a hemólise intensa. Haptoglobina encontra-se diminuída (MACIEL, 2010). A proteína haptoglobina tem a função de carrear a hemoglobina livre intravascular para seu local de degradação no sistema retículo-endotelial se ligando irreversivelmente a hemoglobina (BURTIS, ASHWOOD, 2001).

Murahovschi et al. (2010), afirma que para o diagnóstico confirmatório de AHAI, os exames complementares devem apresentar os seguintes resultados:

Exames Laboratoriais	Resultado
<i>Hemograma</i>	Anemia e plaquetopenia
<i>Coombs direto</i>	Positivo
<i>Desidrogenase láctica</i>	Aumentada
<i>Haptoglobina</i>	Diminuída
<i>Bilirrubina Indireta</i>	Aumentada
<i>Reticulócitos</i>	Aumentados

Tabela 1: Principais testes laboratoriais para diagnóstico AHAI
Fonte: Murahovschi et al., 2010.

É importante confirmar a AHAI através de exames adicionais, pois ela pode ser confundida com esferocitose hereditária. O teste de fragilidade osmótica não é aconselhável, pois encontra-se positivo em ambas anemias. Alguns pacientes passam a produzir outros autoanticorpos como anti-DNA ou fator antinuclear (FAN), porém o teste de antiglobulina direto (TAD), também conhecido como teste de Coombs, é essencial para distinguir essas doenças, uma vez que ele apresenta-se positivo somente na AHAI (BAIN, 2007).

O teste de Coombs direto é realizado para demonstrar a presença de anticorpos na membrana eritrocítica através da incubação dos eritrócitos juntamente com imunoglobulinas de coelho específica para complemento e para imunoglobulina humana. O TAD com soro poliespecífico não é um teste totalmente específico, pois apresenta algumas limitações, sendo assim, necessários outros métodos para melhor caracterizar e confirmar a presença de autoanticorpos circulantes com soros monoespecíficos como anti-IgG, anti-IgM, anti-IgA, C3, C3dg e também a pesquisa e identificação de autoanticorpos circulantes (PACKMAN, 2001). Em casos onde a concentração de autoanticorpos é pequena, o teste de Coombs direto é negativo, sendo detectáveis somente por técnicas mais específicas e sensíveis como ELISA (DEL GIGLIO, KALIKS, 2007).

O teste manual de Polybrene também pode ser utilizado para a detecção da imunoglobulina IgG na superfície das hemácias em pacientes com

diagnóstico clínico e laboratorial de anemia hemolítica auto-imune por anticorpos quentes (MACIEL, 2010).

O método manual do Polybrene foi descrito pela primeira vez, em 1980 por Lalezari & Jiang para demonstrar presença de aloanticorpos eritrocitários (PETZ, GARRATZ, 1980). Após vários estudos, essa técnica veio para substituir o teste em salina e o uso de enzimas para investigação de aloanticorpos. Tratando-se de um polícatión que é capaz de facilitar a agregação de eritrócitos lábeis, sendo facilmente desfeita pela ação do citrato de sódio. Quando ocorre a sensibilização dos eritrócitos por IgG, há aglutinação e essa agregação não se desfaz após o tratamento com citrato de sódio (BRAGA et al., 1998).

De acordo com estudos realizados por Braga et al. (1998), o teste manual de Polybrene , além de ser um teste auxiliar rápido e de baixo custo, apresenta maior sensibilidade aos pacientes portadores de AHAI por anticorpos do tipo IgG, que apresentam teste de coombs direto negativo.

Conclusão

Baseado em todos os aspectos clínicos, laboratoriais e patológicos, este estudo permite concluir que a anemia hemolítica auto imune é facilmente detectada devido a vários testes existentes para seu diagnóstico.

Referências Bibliográficas

BAIN, B. J. *Células sanguíneas: Um guia prático*. 4ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2007.

BERENTSEN, S., et al. Primary chronic cold agglutinin disease: an update on pathogenesis, clinical features and therapy. *Hematology*. 2007 Oct; 12(5):361-70.

BRAGA, G. W. et al. Diagnóstico laboratorial da anemia hemolítica auto-imune: características do teste manual direto do Polybrene. *Rev Ass Med Brasil*, 1998; 44(1): 16-20.

BUCHANAN, G.R., et al. The acute and transient nature of idiopathic immune hemolytic anemia in childhood. *Jour Pediatr*. 1976 May;88(5):780-3.

BURTIS, C. A., ASHWOOD, E.R. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 5ª edição. W. B. Saunder Company. Philadelphia, 2001. Disponível em: <[http://albalab.com.br /upload/2010/08/10/4c61569be1.521446480.pdf](http://albalab.com.br/upload/2010/08/10/4c61569be1.521446480.pdf)> Acesso: 06 abr 2012.

DEL GIGLIO, A.; KALIKS, R. *Princípios de Hematologia Clínica*. Barueri-São Paulo: Manole, 2007.

ENGELFRIET, C. P., et al.. Autoimmune hemolytic anemia. *Semin Hematol*. 1992 Jan;29(1):3-12.

GERTZ, M. A. Management of cold haemolytic syndrome. *Bras. Jou. Haematol*. 2007 Aug;138(4):422-9.

HEMORIO. *Algoritmo para tratamento das anemias hemolíticas auto imunes por anticorpo quente*. 2006. Disponível em: <http://www.hemorio.rj.gov.br /Html/pdf/protocolos/1_06.pdf> Acesso: 11 abr 2012.

MACIEL, Sabrina Pires. *Anemia Hemolítica Auto- Imune*. Monografia Graduação (Biomedicina) UNIS, 2010.

MURAHOVSKI, A. C. S.F., et al. *Protocolo Clínico e diretrizes terapêuticas da Anemia Hemolítica Auto Imune*. Ministério da Saúde: Portaria SAS/MS nº 708, de 17 de dezembro de 2010. Ministério da Saúde, 2010. Disponível em: <[http:// portal.saude.gov.br/portal /arquivos /pdf/pcdt_anemia_hemolitica_autoimune_livro_2010.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal /arquivos /pdf/pcdt_anemia_hemolitica_autoimune_livro_2010.pdf)> Acesso: 30 mar 2012.

OLIVEIRA, Maria Christina L. A. et al . Curso clínico da anemia hemolítica auto-imune: um estudo descritivo. *Jornal Pediatria*. Porto Alegre, v. 82, n. 1, Feb. 2006. Disponível em:< http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0021-75572006000100012&lng=en&nr m=iso>. Acesso: 03 Abr 2012.

PACKMAN, C.H. *Acquired hemolytic anemia due to warm-reacting autoantibodies*. In: McGraw-Hill, editor. McGraw-Hill: Beutler E, Lichtman, M.A., Coller, B.S., Kipps, T.S., Seligsohn, U. Willians; 2001. p. 639-648.

PETZ, L. D., GARRATTY, G. *Acquired Immune hemolytic anemias*. Churchill Livingstone Inc., New York, 1980.

PIROFSKY, B. Immune haemolytic disease: the autoimmune haemolytic anaemias. *Clin Haematol*. 1975;4:167-80.

ULVESTAD, E., et al. Clinical immunology of chronic cold agglutinin disease. *Eur J Haematol*. 1999 Oct; 63(4):259-66.

VALENT, P., LECHNER, K. Diagnosis and treatment of autoimmune haemolytic anaemias in adults: a clinical review. *Wien Klin Wochenschr* 2008;120(5-6):136-51.