

ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

MARCOS VINÍCIUS COELHO

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

RESUMO

Anemia Hemolítica Autoimune (AHAI) é um tipo de anemia hemolítica caracterizada pela menor sobrevivência dos eritrócitos, causada por autoanticorpos circulantes dirigidos contra antígenos de glóbulos vermelhos, ocasionando sua destruição via sistema complemento ou sistema reticuloendotelial (VIEIRA; LIMA; PETILIK, 1999).

A anemia se desenvolve quando a produção das hemácias pela medula não é compensada pelo aumento de destruição devido à hemólise. A AHAI 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 autoanticorpos 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 extra vascular pelo sistema reticuloendotelial. Na AHAI a frio, os autoanticorpos 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 (VIEIRA; LIMA; PETILIK, 1999).

Palavras-chave: Anemia hemolítica. Autoanticorpos. Hemólise.

INTRODUÇÃO

As Anemias Hemolíticas constituem um grupo de doenças com maior frequência congênitas, ou adquiridas, e clinicamente variadas. O quadro fundamental dessas anemias consiste na 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 autoanticorpos circulantes dirigidos contra antígenos de glóbulos vermelhos, ocasionando sua destruição via sistema complemento ou sistema reticuloendotelial (VIEIRA; LIMA; PETILIK, 1999).

A anemia se desenvolve quando a produção das hemácias pela medula não é compensada pelo aumento da hemólise. Clinicamente, além da palidez cutânea, podem ocorrer fraqueza, icterícia, taquicardia, hepatoesplenomegalia e retardo de crescimento (COTIAS, 2010; BRASIL, 2013 ; VIEIRA; LIMA; PETILIK, 1999).

A AHAI é um dos eventos autoimunes mais comuns no homem. 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 de 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 etiologia e de acordo com a temperatura de reatividade dos anticorpos aos eritrócitos. Quanto à etiologia, são classificadas em dois grupos: Primário: a destruição dos glóbulos vermelhos é o único achado clínico e não se identifica doença sistêmica de base para explicar a presença de autoanticorpos. (OLIVEIRA et al, 2006; OLIVEIRA et al, 2011). Secundário: ocorre no contexto de uma doença sistêmica, sendo a anemia hemolítica uma manifestação dessa doença (OLIVEIRA et al, 2006; OLIVEIRA et al, 2011).

Podem ser secundárias as infecções virais e bacterianas, imunização em pacientes com doença autoimune, 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 autoanticorpos 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 extra vascular pelo sistema reticuloendotelial (SOUZA, 2003; BRASIL, 2013).

Na AHAI a frio, os autoanticorpos são da classe IgM, que reagem a temperaturas entre 4 e 18°, fixam o complemento e ocorre hemólise intravascular.

Doenças linfoproliferativas e infecciosas como microplasma 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 multissistêmica complexa secundária à disfunção do sistema imune, que acarreta na diminuição do tempo de sobrevivência das hemácias. Estudos têm 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).

OBJETIVOS

Devido à importância clínica da anemia hemolítica autoimune e às várias formas de apresentação dessa doença, o presente artigo faz um levantamento bibliográfico das principais formas de diagnóstico, para um melhor auxílio ao clínico e melhor condição ao tratamento do paciente.

ANEMIAS

Conceito e Classificação

A anemia é uma das doenças de descrição mais antigas na medicina e, provavelmente, uma das mais difundidas na humanidade. (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
- 115 g/l em crianças de 5 a 11 anos
- 110 g/l em crianças de 6 a 59 meses. (World Health Organization, 2008).

Como pode decorrer de múltiplas causas, a anemia é classificada como 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, fadiga, dispneia a esforços físicos continuados, palidez, entre outros, dependendo do nível da anemia (Failace et al, 2009).

Anemia Hemolítica

A destruição dos eritrócitos em geral ocorre depois de uma sobrevida média de 120 dias, quando as células são removidas extra vascularmente pelos macrófagos do Sistema Reticuloendotelial (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 sobrevida eritroide, diz-se haver hemólise. A redução desta sobrevida média é consequência direta do aumento da quantidade de hemácias destruídas diariamente. A hemólise será compensada enquanto a hiperregeneração medular reacional, que consegue multiplicar a eritropoese até 6 a 8 vezes, mantiver as cifras hematimétricas dentro do normal. Se a sobrevida 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 sobrevida 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 Piruvato Quinase

- Hemoglobina

Anormalidades genéticas (HbS, HbC, Hb instável)

• ADQUIRIDAS

- Imunológicas
- Autoimune (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)

Anemia Hemolítica Autoimune

Nas anemias hemolíticas autoimunes, há destruição das células sanguíneas circulantes via sistema imune.

A anemia hemolítica autoimune (AHAI) consiste num grupo de doenças cuja característica comum é a presença de autoanticorpos 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 reticuloendotelial (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 extra vascular) ou destruição direta na circulação, um processo

conhecido como 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 frios (HOFFBRAND, 2004; BRASIL, 2013).

Anemia Hemolítica Autoimune por Anticorpos Quentes

A AHAI a quente corresponde a 60% - 70% das AHAI e é causada por autoanticorpos 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 autoanticorpos 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 têm 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 extra vascular) (CANÇADO et al, 2004; HOFFBRAND, 2004; ZEERLEDER, 2011; BRASIL, 2013).

Características

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 AHAI a quente (OLIVEIRA et al, 2006; PACKMAN, 2008).

Anemia Hemolítica Autoimune por Anticorpos Frios

AHAI a frio corresponde a 20% - 30% das AHAI e é causada por autoanticorpos 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 como 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).

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 arroxeadada 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 às infecções ou por doenças linfoproliferativas. É comum em pessoas com doença do colágeno, neoplasias e infecções crônicas, aparecem transitariamente 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.

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.

Estudo do Sangue Periférico da AHAI por anticorpos quentes

Em geral, os pacientes com AHAI apresentam a série branca e plaquetária normais. Plaquetopenia associa-se à Síndrome de Evans, 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 à neutropenia (BRASIL, 2013).

Na AHAI por anticorpos quentes, os achados hematológicos são típicos de anemia por hemólise extra vascular, com esferocitose e policromatocitose proeminentes no sangue periférico (HOFFBRAND, 2004). O grande número de macrócitos policromáticos, pela elevada atividade eritropoética, aumenta o VCM (HOFFBRAND, 2004). 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 (FAILACE et al, 2009).

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).

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).

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 rouleaux (HOFFBRAND, 2004).

As crioaglutininas interferem no VCM, gerando resultados incoerentes, com aumento impossível do CHCM. O aquecimento do sangue a 37°C, com passagem imediata no contador, costuma gerar resultados corretos (FAILACE et al, 2009). Nesses casos, não se 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 hemocítômetro (OLIVEIRA, 2014).

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, doenças do colágeno, infecções crônicas, no decurso da pneumonia por Mycoplasma, entre outras, fornecendo assim, dados para o correto diagnóstico médico (OLIVEIRA, 2014).

Estudo Bioquímico

A bioquímica do paciente com AHAI vai ter os achados típicos de pacientes com hemólise extra vascular e intravascular. No caso da AHAI por anticorpos quentes, onde predomina a hemólise extra vascular, observa-se aumento da bilirrubina indireta, Desidrogenase Láctica (LDH) elevada 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).

Estudo Imuno-hematológico

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” (HEMOCENTRO DE CAMPINAS, 2010).

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. 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).

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, para detectar qual isótopo de imunoglobulina está revestindo as hemácias. Para se definir a especificidade do anticorpo, devem ser aplicados testes de eluição (OLIVEIRA et al, 2006; ZEERLEDER, 2011).

Devido ao seu tamanho, autoanticorpos 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, autoanticorpos IgM a frio devem ser suspeitos. 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 patognômico, 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 e menor toxicidade. Um dos testes de escolha é a citometria de fluxo (BRAGA et al, 1998).

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 (GOLIM et al, 2007).

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 AHAÍ, 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 (expressa como a área média geométrica) de antígenos expressa 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 (THEDSA WAD; TAKA; WANACHIWANAWIN, 2011).

CONCLUSÃO

A anemia hemolítica autoimune (AHAI) consiste num grupo de doenças cuja característica comum é a presença de autoanticorpos. 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 (VIEIRA; LIMA; PETILIK, 1999).

Para isso, o diagnóstico laboratorial é imprescindível. Na AHAI por anticorpos quentes, os achados hematológicos são esferocitose, esquizócitos e policromatocitose proeminentes no sangue periférico. Há elevação do VCM e RDW. 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, 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 autoimune 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 autoimune: 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 autoimune. 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 Transfusão 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 autoimunes. 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 autoimune 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 autoimune: 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 autoimune 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.