

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO
Curso de Biomedicina

Maythê Alves Fanasca
Taís Rinaldi Palma Narvais

DIAGNÓSTICO IMUNO-HEMATOLÓGICO DE ANEMIA HEMOLÍTICA
AUTOIMUNE DROGA INDUZIDA: DROGA INDEPENDENTE

São Paulo

2017

Maythê Alves Fanasca
Taís Rinaldi Palma Narvais

**DIAGNÓSTICO IMUNO-HEMATOLÓGICO DE ANEMIA HEMOLÍTICA
AUTOIMUNE DROGA INDUZIDA: DROGA INDEPENDENTE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, orientado pela Profa. Dra. Juliana Vieira dos Santos Bianchi, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

São Paulo

2017

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Padre Inocente Radrizzani

Fanasca, Maythê Alves

Diagnóstico imuno-hematológico de anemia hemolítica autoimune droga induzida: droga independente / Maythê Alves Fanasca, Taís Rinaldi Palma Narvais. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2017.

77 p.

Orientação de Juliana Vieira dos Santos Bianchi

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação), Centro Universitário São Camilo, 2017.

1. Anemia hemolítica autoimune droga induzida Droga independente 2. Drogas e anemia hemolítica 3. Anticorpos contra drogas 4. Diagnóstico imuno-hematológico 5. Diagnóstico laboratorial. Narvais, Taís Rinaldi Palma II. Bianchi, Juliana Vieira dos III. Centro Universitário São Camilo IV. Título

Maythê Alves Fanasca
Taís Rinaldi Palma Narvais

**DIAGNÓSTICO IMUNO-HEMATOLÓGICO DE ANEMIA HEMOLÍTICA
AUTOIMUNE DROGA INDUZIDA: DROGA INDEPENDENTE**

São Paulo, 31 de outubro de 2017

Professor Orientador (Profa. Dra. Juliana Vieira dos Santos Bianchi)

Professor Examinador (Profa Dra. Ana Yara Serrano Gomes)

AGRADECIMENTOS

Agradecemos primeiramente a nossa família por toda dedicação, paciência e incentivo para que o caminho nestes 4 anos fosse mais fácil e prazeroso, nos dando força e coragem para seguir essa etapa de nossas vidas.

Agradecemos a todos os nossos professores por todos os ensinamentos, humanos e científicos, e pela disposição em nos ajudar sempre que necessário. Em especial, a nossa professora e orientadora Juliana Vieira dos Santos Bianchi, pela paciência, ajuda e por ter nos guiado no decorrer deste trabalho, dando sempre todo o suporte necessário.

“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível.”

Charles Chaplin

FANASCA, Maythê Alves; NARVAIS, Tais Rinaldi Palma. **Diagnóstico Imuno-hematológico de anemia hemolítica autoimune droga induzida: droga independente.** 2017. 77 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Centro Universitário São Camilo, São Paulo, 2017.

A anemia hemolítica autoimune droga induzida (AHAIDI) é uma condição pouco frequente e sua gravidade é variável, podendo ser branda ou grave. Cerca de 130 medicamentos, incluindo antimicrobianos e quimioterápicos, foram implicados como causa. As drogas mais comuns associadas a esta doença e as hipóteses para os mecanismos envolvidos mudaram durante as últimas décadas. Os eritrócitos se tornam revestidos com a droga *in vivo*, e um anticorpo (geralmente IgG) se liga a estes eritrócitos, os quais são posteriormente eliminados por macrófagos. A AHAIDI pode ser classificada de acordo com o tipo do anticorpo envolvido na resposta imune: independente de fármaco quando não é necessário que a droga esteja presente para obter reações *in vitro*; ou dependente de fármaco quando os anticorpos reagem, *in vitro*, contra os eritrócitos somente na presença do fármaco. Os achados laboratoriais e clínicos são idênticos aos da anemia hemolítica autoimune, e, por este motivo, muitas vezes a AHAIDI é confundida com AHAI, sendo que a sua remissão é associada à interrupção do medicamento. Em caso de suspeita, a história clínica do paciente é imprescindível para direcionar - os serviços de hemoterapia e imunohematologia - os testes para diagnóstico.

Palavras-chave: Anemia hemolítica autoimune droga induzida. Droga independente. Drogas e anemia hemolítica. Anticorpos contra drogas. Diagnóstico imunohematológico. Diagnóstico laboratorial.

FANASCA, Maythê Alves; NARVAIS, Tais Rinaldi Palma. **Immune-Hematologic Diagnosis of Hemolytic Anemia Autoimmune Induced Drug - Independent Drug.** 2017. 77 f. Course Completion Work (Graduation in Biomedicine) - Centro Universitário São Camilo, São Paulo, 2017.

The autoimmune hemolytic anemia drug induced (AHAIDI) is a rare condition and its gravity is variable; it can be mild or severe. About 130 drugs, including antimicrobials and chemotherapeutics, were implicated as a cause. The most common drugs associated with this disease and the hypothesis for the mechanisms involved have changed over the last decades. The erythrocytes become coated with an *in vivo* drug, and an antibody (usually IgG) binds to these erythrocytes, which are then eliminated by macrophages. The AHAIDI can be classified according to the type of antibody involved in the immune response: drug independent when it is not required that the drug is present to obtain *in vitro* reactions; or drug dependent when the antibodies react, *in vitro*, against the erythrocytes only in the presence of the drug. Laboratory and clinical findings are identical to the autoimmune hemolytic anemia and, for this reason, AHAIDI is often mistaken with AHAI, being that its remission is associated with discontinuation of the drug. In case of suspicion, the clinical available history of the patient is indispensable to direct - by the hemotherapy and immunohematology services - the tests to the diagnosis.

Keywords: Autoimmune hemolytic anemia. Drugs and hemolytic anemia. Antibodies against drugs. Immunohematological diagnosis. Laboratory diagnosis.

Lista de Siglas

AHAIDI	Anemia Hemolítica Autoimune Droga Induzida
AHAI	Anemia Hemolítica Autoimune
TAD	Teste de Antiglobulina Humana
PAI	Pesquisa de anticorpo irregular
G-6-PD	Glicose-6-fosfato desidrogenase
LDH	Desidrogenase láctica
OMS	Organização Mundial da Saúde
WHO	World Health Organization
VCM	Volume Corpuscular Médio
CHCM	Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média
HPF	Hemoglobinúria Paroxística a Frio
Hb	Hemoglobina
mL	Mililitros
pH	Potencial Hidrogeniônico
LLC	Leucemia Linfóide Crônica
EUA	Estados Unidos da América
FDA	Food and Drug Administration
g/dL	Grama por Decilitro

SUMÁRIO

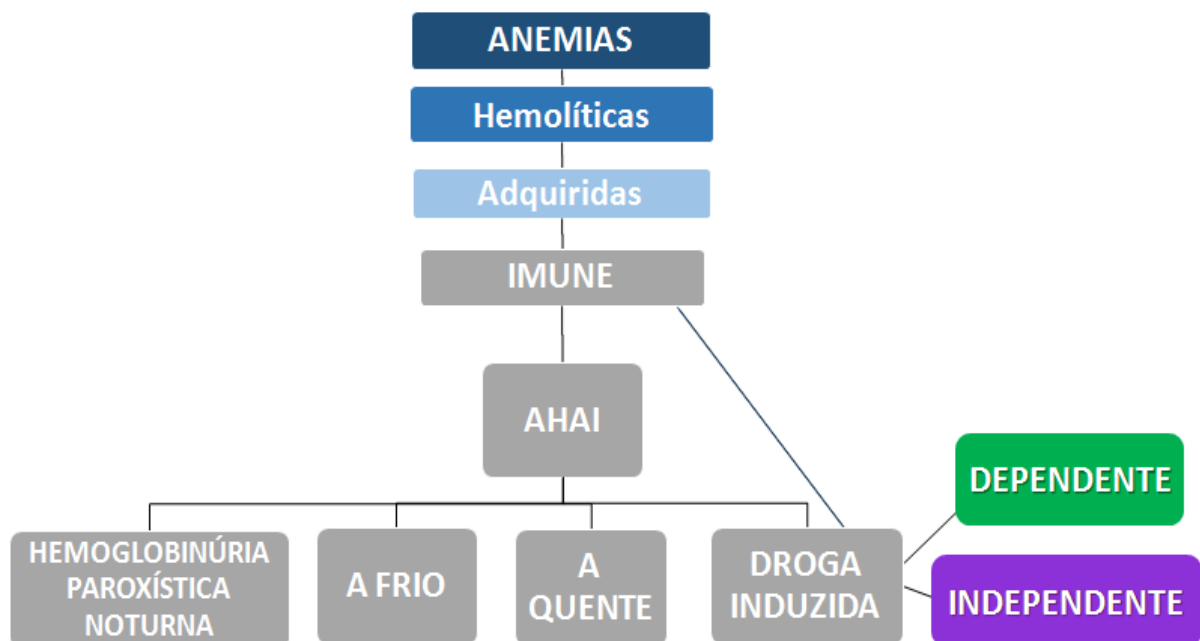
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 OBJETIVO.....	16
3 METODOLOGIA.....	17
4 DESENVOLVIMENTO.....	18
4.1 Anemias.....	18
4.2 Anemia Hemolítica Autoimune	24
4.2.1 Anemia Hemolítica Autoimune a Quente.....	25
4.2.2 Anemia Hemolítica Autoimune a Frio.....	27
4.2.3 Hemoglobinúria Paroxística a Frio.....	30
4.2.4 Anemia Hemolítica Autoimune Droga Induzida	32
5 Anemia hemolítica Autoimune Droga Induzida Droga Independente.....	34
5.1 Fármacos Envolvidos na Anemia hemolítica Autoimune Droga Induzida Droga Independente	38
5.2 Etiologia	46
5.3 Fisiopatologia	49
5.4 Diagnóstico Clínico das Anemias Hemolíticas Autoimunes	52
5.5 Diagnóstico Laboratorial das Anemias Hemolíticas Autoimunes.....	54
5.4.1 Hemograma.....	56
5.4.3 Bioquímica	59
5.4.5 Outros Métodos Diagnóstico Laboratorial	60
5.6 Diagnóstico	60
5.7 Tratamento	63
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	64
REFERÊNCIAS	66

1 INTRODUÇÃO

A Anemia Hemolítica Autoimune Droga Induzida – Droga Independente (AHAIDI), também conhecida como Anemia Hemolítica Droga Induzida, é uma das causas secundárias da Anemia Hemolítica Autoimune (AHAI), sendo esta caracterizada pela destruição prematura das hemácias em decorrência a uma resposta imunológica humoral, no qual, autoanticorpos circulantes atuam contra antígenos de glóbulos vermelhos, colaborando para um quadro clínico de anemia. A anemia é desenvolvida quando não há compensação na produção de hemácia pela medula devido à hemólise (COTIAS, 2010).

As anemias hemolíticas autoimunes são classificadas em: Anemia Hemolítica Autoimune por Anticorpos quentes (AHAI à quente), Anemia Hemolítica Autoimune por Anticorpos frios (AHAI à frio), Hemoglobinúria Paroxística à frio e Anemia Hemolítica Autoimune Droga Induzida, sendo que a esta última, em literaturas mais antigas era classificada diretamente como uma anemia hemolítica imune (FLUXOGRAMA 1).

Fluxograma 1 – Classificação das Anemias Hemolíticas Autoimunes



Fonte: Baseado em (REDDY et al., 2011)

Na AHAI à quente, os anticorpos IgG reagem a temperaturas maiores ou iguais a 37°C. Já na AHAI a frio, os anticorpos são IgM e reagem a temperaturas menores

que 37°C. A hemoglobinúria paroxística à frio é causada pela presença de anticorpos reativos ao frio no sangue e caracteriza-se pela hemólise intravascular súbita seguida de hemoglobinúria. No entanto, a AHAIID ocorre devido a uma reação à fármacos (REDDY et al., 2011).

A AHAIID decorre da interação de alguns medicamentos com a membrana eritrocitária, tornando-a antigênica, em que, o sistema imune reconhece o hapteno, ou seja, parte da droga adsorve às proteínas presentes na membrana eritrocitária, formando o conjugado proteína-hapteno, capaz de desencadear uma resposta imunológica de forma que alguns anticorpos produzidos dirijam-se ao conjugado. Assim, quando os anticorpos se ligam a estes haptenos, causam a destruição prematura dos eritrócitos (NUNES, 2005; COTIAS, 2010). Segundo Valente & Lechner (2008), a incidência da AHAIID é de cerca de 0,61 ou 1,3:1.000.000/indivíduos por ano no ocidente e apesar dos casos serem raros, quando presentes são graves. Segundo Leger (2014), estima-se que a incidência é de 1 a cada 1.000.000.

O diagnóstico desse tipo de anemia é feito por meio da característica clínica e laboratorial de hemólise somado a positividade do Teste de Antiglobulina Direto (TAD). Além disso, o histórico clínico é imprescindível para a elucidação do caso e investigação de histórico de administração de medicamentos para verificar a possível causa da hemólise. Além do TAD, deve ser realizada pesquisa de anticorpo irregulares (PAI) e identificação de anticorpos no eluato (GIRELLO, KUHN, 2002).

A formação de anticorpos induzidos por drogas é baseada em diversos mecanismos e pode ser, por exemplo, adsorção proteica não imunológica, além de outras causas imunes, como: adsorção da droga, formação de imunocomplexo e produção de autoanticorpo. De acordo com estes mecanismos, os anticorpos droga-induzidos são classificados em dependente ou independente (COTIAS, 2010).

Os anticorpos droga-dependentes atuam pelos mecanismos de imunocomplexo e de adsorção. Na formação de imunocomplexo, primeiramente, o anticorpo droga-dependente reage com a droga formando o imunocomplexo (anticorpo-droga) e posteriormente o complexo adsorve a membrana eritrocitária. Na Anemia Hemolítica Droga Induzida por adsorção, a droga se liga firmemente à membrana eritrocitária e o anticorpo reage contra a droga, sendo que nestes casos o

TAD é positivo por IgG com ou sem ativação do complemento (CANÇADO et al., 2005; GARRATTY, 2008).

Os anticorpos droga-independentes atuam por mecanismo autoimune, no qual não há necessidade da presença da droga para que reajam, apesar de ter sido a responsável pela resposta imune. Esses autoanticorpos droga independente se assemelham aos encontrados na AHAI a quente e, por este motivo, podem ser confundidos, interferindo no tratamento e na melhora clínica do paciente (GIRELLO, KUHN, 2002; GARRATTY, 2008).

Sendo assim, caso a suspeita de anemia hemolítica autoimune droga induzida droga-independente seja confirmada, a droga deverá ser suspensa para evitar que o anticorpo atinja níveis altos capazes de causar hemólise grave, esperando-se assim que, a retirada do medicamento reverta a produção de anticorpos em semanas ou até meses (GIRELLO, KUHN, 2002).

2 OBJETIVO

Discutir a importância clínica da Anemia Hemolítica Autoimune Droga Induzida – Droga independente, ressaltando a sua incidência, diagnóstico imuno-hematológico, manifestações clínicas e tratamento convencional e alternativo.

3 METODOLOGIA

Para realização do trabalho de conclusão de curso foi realizada uma revisão bibliográfica, utilizando as bibliografias nos idiomas português, espanhol e inglês nas bases de dados: LILACS (Literatura Latino Americana e do Caribe em Ciências Sociais e da Saúde), PubMed, Bireme e ScienceDirect, no portal de revista eletrônica Scielo (Scientific Electronic Library Online) e no acervo da biblioteca Padre Inocente Radrizzani do Centro Universitário São Camilo. Foram utilizados os seguintes descritores: Anemia Hemolítica Autoimune, Anemia, Autoimmune Hemolytic Anemia, Autoimmune hemolytic anemia independent drug, Mechanism Paroxysmal Cold Hemoglobinuria, Diagnóstico Imuno-Hematológico, Anemia hemolítica autoimune droga induzida - droga independente, Classificação anemias e Tratamento Anemia hemolítica autoimune droga induzida - droga independente.

A partir destes descritores, foram selecionados em média 210 artigos que haviam relação com o tema, utilizando os seguintes filtros: idiomas em português, inglês e espanhol. Foi realizada uma revisão de texto completa e destes 210 artigos, 80 foram selecionados para a realização do trabalho, considerando que os critérios de exclusão foram: artigos com dados irrelevantes, dados sem relação com o tema, sem esclarecimentos claros e acesso restrito. Os critérios de inclusão foram: artigos que tinham relação com o tema, relevância para a realização do trabalho, claros e bem esclarecidos, atuais e com coerência científica.

4 DESENVOLVIMENTO

4.1 Anemias

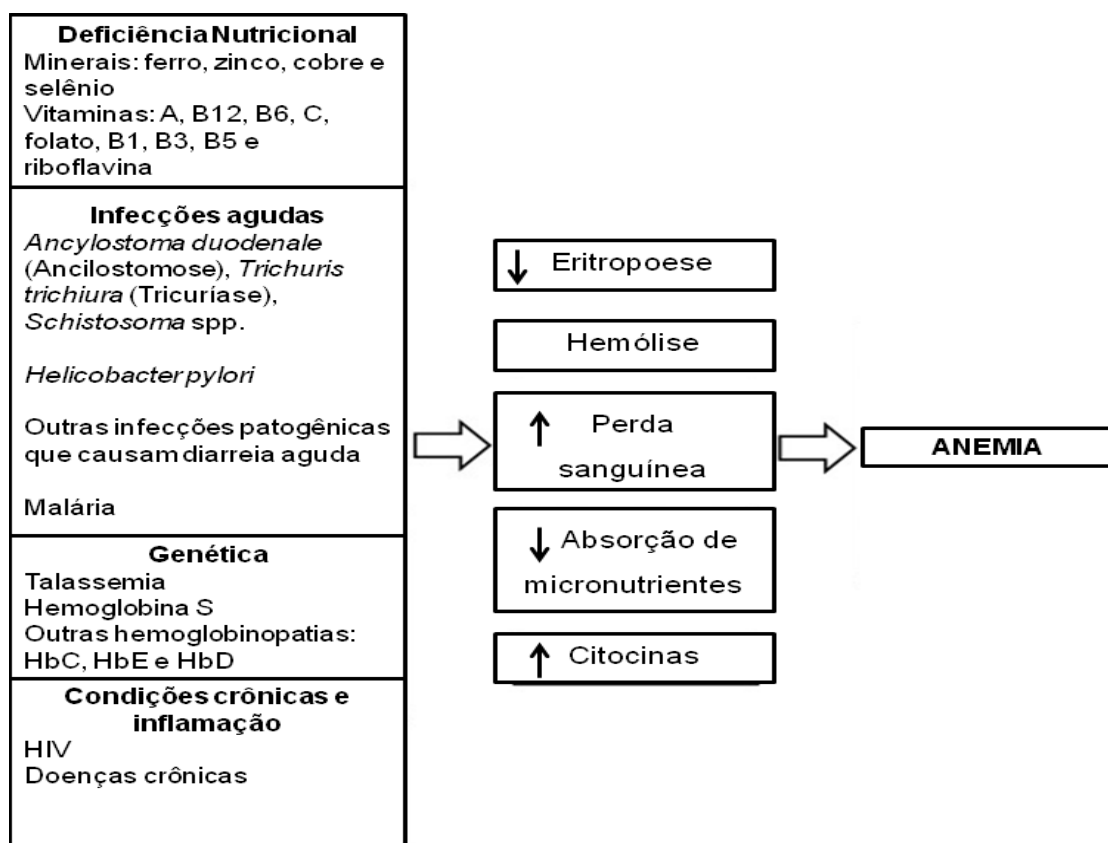
A anemia é um dos distúrbios mais comuns e, provavelmente, um dos mais difundidos e prevalentes no mundo, sendo um problema de saúde público tanto em países desenvolvidos, quanto em países não desenvolvidos. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), estima-se que mais de dois bilhões de pessoas no mundo são anêmicas, correspondendo a um terço da população mundial (BATISTA; SOUZA; BRESANI, 2008).

Segundo a OMS, a prevalência da anemia é classificada de acordo com a significância populacional. Quando a prevalência da anemia é entre 5 a 19,9%, caracteriza um problema discreto; de 20% a 39,9%, um problema moderado; e 40% ou mais, uma grave situação de Saúde Pública. Em termos mundiais, a prevalência de anemia em países industrializados é ainda uma situação crítica, em torno de 5 a 16%. E, no Brasil, 30% das crianças abaixo de cinco anos têm anemia, sendo a segunda maior prevalência da América Latina. Além disso, o Brasil mostra índices crescentes, com níveis que chegam a 70% de prevalência em algumas regiões. (BATISTA; SOUZA; BRESANI; 2008; OBELAR, 2008).

A anemia é um estado caracterizado, basicamente, pela diminuição da concentração de hemoglobina por unidade de volume de sangue, independente do número de eritrócitos, comprometendo a capacidade de transporte adequado de oxigênio para os tecidos. O principal parâmetro de referência para avaliar um quadro de anemia, é a hemoglobina, e, conforme a Organização Mundial de Saúde (OMS – WHO, *World Health Organization*), os limites mínimos permitidos são de 14 g/dL para homens, 12 g/dL para mulheres e 11 g/dL para crianças e grávidas (SILVA, RIBEIRO NETO, SANTOS, 2013). Além da hemoglobina, muitas vezes também é observado uma diminuição no hematócrito em comparação com parâmetros de sangue periférico de uma população de referência. Em indivíduos em condições normais, a concentração de hemoglobina e o hematócrito variam de acordo com a fase de desenvolvimento, podendo ter interferência por estimulação hormonal, tensão de oxigênio no ambiente, idade e o gênero (BRAGA, 1995).

A anemia pode decorrer de múltiplas causas, podendo ter relação com fatores genéticos, nutricionais, infecções agudas, condições crônicas e inflamação (Fluxograma 2). Na anemia aguda há perda súbita de sangue e o sinal é apenas de hipovolemia. Na anemia crônica, em que a volemia é normal por expansão do volume plasmático, há o aparecimento de sintomas clássicos da doença. O sangue do paciente anêmico se mostra descorado, uma vez que é pobre em hemoglobina e eritrócitos. Além disso, apresenta baixa viscosidade e é incapaz de transportar oxigênio com a eficácia necessária. A partir dessas alterações e reações homeostáticas compensadoras, há o aparecimento dos sinais e sintomas de anemia, como por exemplo, fadiga, cefaleia, dispneia a esforços físicos continuados, palidez, entre outros dependendo do nível da anemia. Sendo assim, é necessário a investigação laboratorial para confirmação do quadro (FAILACE et al., 2009).

Fluxograma 2 - Causas potenciais para o desenvolvimento de anemia



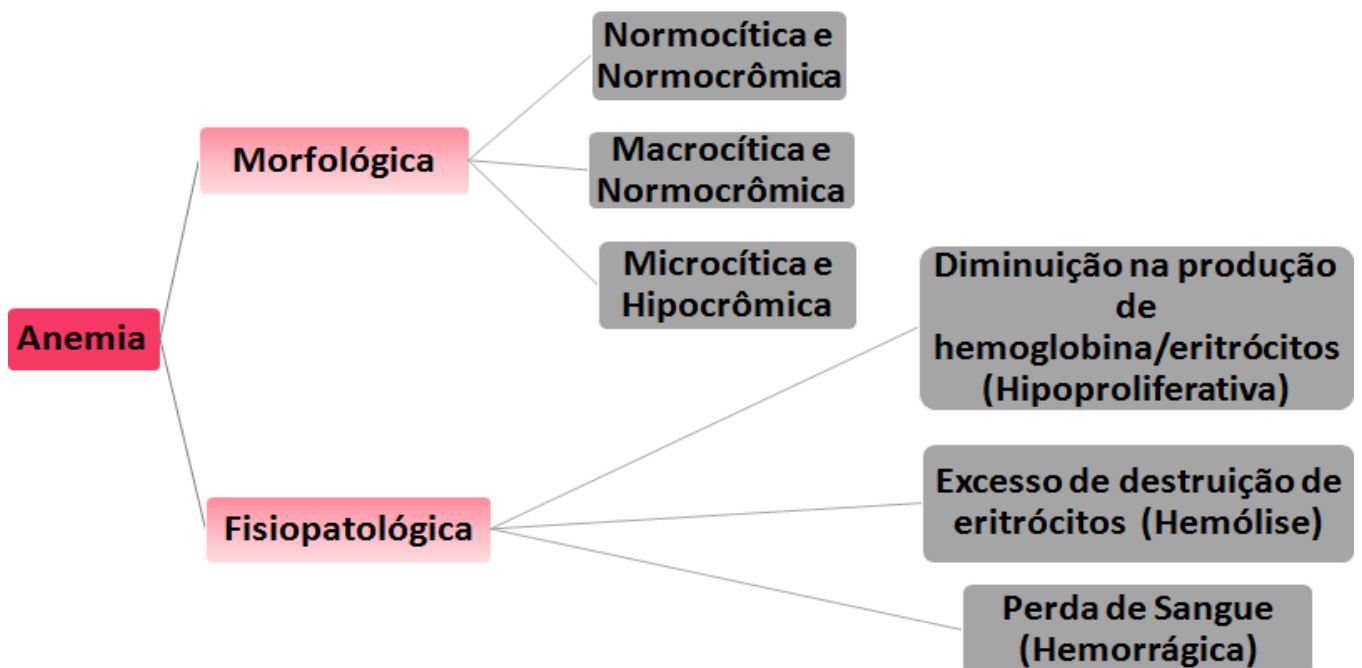
Fonte: Modificado de (IANOTTI et al., 2015)

Para a classificação das anemias, levam-se em consideração alguns critérios, como por exemplo, as causas que levam a este estado. Desta forma, podem ser

classificadas conforme a etiologia, por falta de produção de eritrócitos, com ou sem o comprometimento do sistema hematopoiético, como também por aumento de destruição ou por perda sanguínea (hemorragia) (OLIVEIRA; POLI NETO, 2004).

Por outro lado, baseando-se no resultado dos índices hematimétricos Volume corpuscular médio (VCM) e a Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM), as anemias também podem ser classificadas de acordo com a sua morfologia, ou seja, pelo estudo da forma, podendo ser divididas em três grandes grupos: anemia normocítica e normocrômica, anemia microcítica e hipocrômica e anemia macrocítica e normocrômica (FLUXOGRAMA 3) (OLIVEIRA; POLI NETO, 2004).

Fluxograma 3 – Classificação da anemia de acordo com a morfologia e fisiopatologia



Na classificação fisiopatológica é considerada a origem, ou seja, a etiologia e o mecanismo fisiopatológico da anemia. Assim, um indivíduo pode desenvolver anemia apenas por ausência de produção de hemoglobina ou de eritrócitos, por excesso de destruição de eritrócitos ou por perda de sangue. As anemias por falta de produção, com sistema hematopoiético íntegro, ou seja, medula óssea normal, podem ser por consequência de inúmeros motivos, como por exemplo, a deficiência de ferro, folato, vitamina B12, eritropoetina, insuficiência renal crônica, o que torna a eritropoese ineficaz, impedindo a formação da estrutura do grupo heme, estrutura que capacita a

hemoglobina de se ligar ao oxigênio, formada por quatro anéis pirrólicos ligados entre si por um átomo de ferro, ou então a formação de eritrócitos de forma normal. Quando há um comprometimento do sistema hematopoiético (medula óssea alterada), são considerados outros fatores, como por exemplo, aplasia medular, leucemias, metástases, entre outros (OLIVEIRA; POLI NETO, 2004).

O termo hemólise refere-se diminuição do tempo de vida média do eritrócito na circulação, em razão do aumento da sua destruição, podendo ocorrer de forma aguda ou crônica, e apresenta ampla condição laboratorial e clínica, bem como fisiológica e patológica. A alta destruição de eritrócitos está diretamente associada à diminuição dos valores de hemoglobina comparando-se com os valores de referência, e assim, pode-se definir uma anemia hemolítica. Este grupo de anemia é subdividido em dois grandes grupos: hemólise causada por mecanismos hereditários e hemólise causada por mecanismo adquirido. (SILVA; RIBEIRO NETO; SANTOS, 2013; BARCELLINI; FATTIZZO, 2015).

A hemólise causada por mecanismos hereditários resulta em produção de proteínas defeituosas ou em excesso, ou mesmo na ausência da produção de determinadas proteínas, por consequência de alterações gênicas, mutações ou deleções, causando um defeito intrínseco no eritrócito, seja na membrana, na hemoglobina ou em suas enzimas. A anemia falciforme, talassemia, deficiência da glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PD) e esferocitose hereditária são exemplos de doenças causadas por defeitos intracorporculares (SILVA; RIBEIRO NETO; SANTOS, 2013).

No caso da hemólise causada por mecanismo adquirido, ocorre o encurtamento do tempo de sobrevivência do eritrócito na circulação, devido à problemas extracorporculares, como por exemplo, nas doenças autoimunes, incompatibilidade materno-fetal, transfusões de sangue e tóxicas, sendo esta desencadeada por micro-organismos, bactérias ou vírus (SILVA; RIBEIRO NETO; SANTOS, 2013).

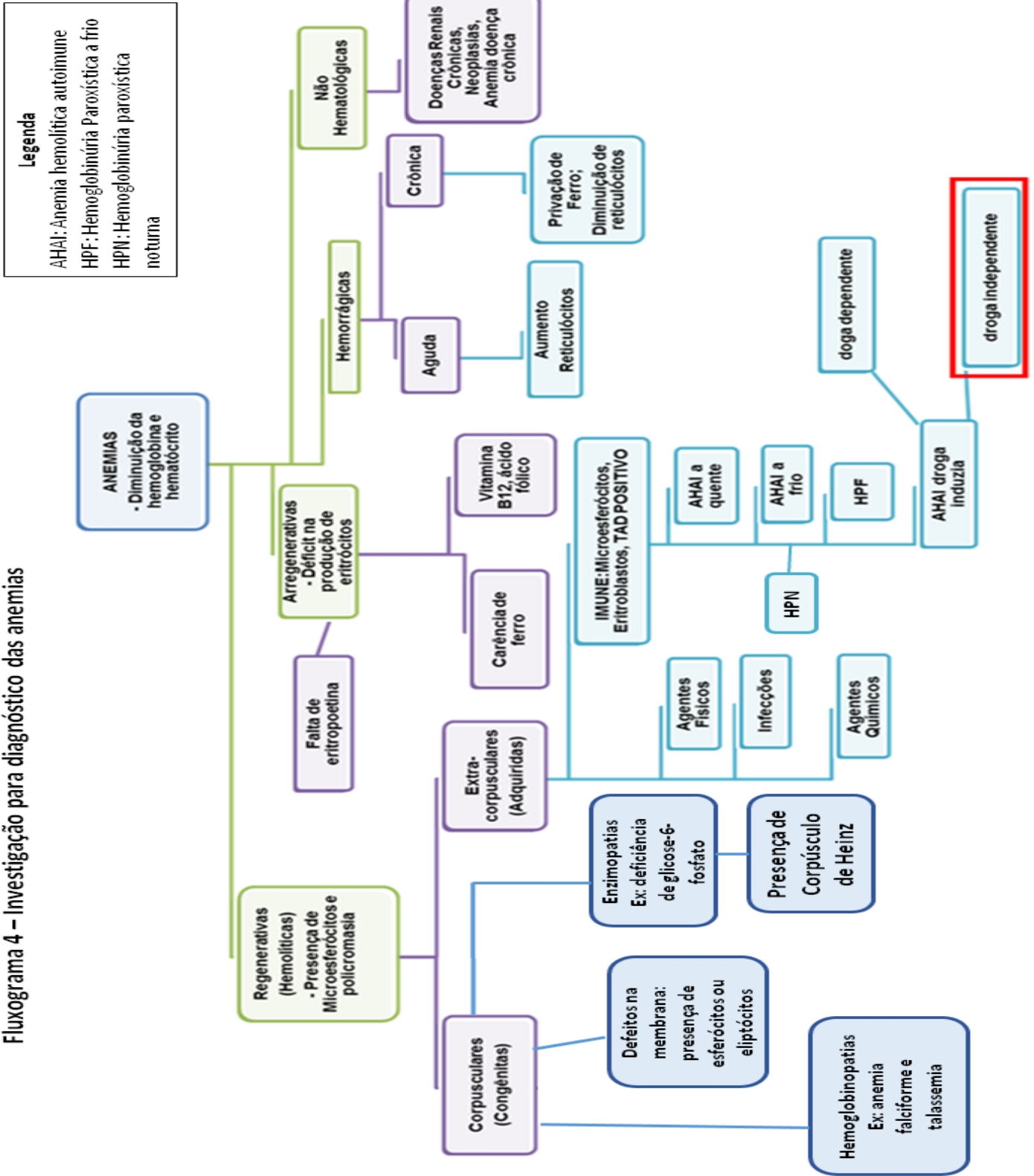
Os eritrócitos na hemólise causada por mecanismo adquirido são normalmente normocíticos e normocrômicos, podendo se enquadrar em tipos morfológicos distintos. Isto depende do grau de hemólise e do número de reticulócito que entram na circulação. Além disso, não é raro que uma anemia de tipo hemolítico ocasione a

carência de elementos como o ferro, folato e/ou vitamina B12, o que caracterizaria tipos mistos de anemias. Para a interpretação morfológica nestes casos, se faz necessária a investigação clínica (SILVA; RIBEIRO NETO; SANTOS, 2013).

No fluxograma 4 está ilustrado o caminho para a investigação e determinação de um tipo de anemia, incluindo a distinção entre as causas congênitas e adquiridas por meio de um histórico clínico e médico do paciente. Além disso, é essencial distinguir as características agudas e crônicas da anemia, se há hemólise intra ou extravascular e também a presença de sinais extra-hematológicos. Uma boa investigação é essencial para o diagnóstico correto e preciso, sendo necessário avaliar o hemograma, perfil imuno-hematológico, exames bioquímicos, além de outros exames (quando necessário), como por exemplo teste imunoenzimático e citometria de fluxo, associando sempre com a história clínica do paciente (BARCELLINI; FATTIZZO, 2015).

É importante ressaltar que, a anemia por carências nutricionais, pode resultar em importante repercussão na saúde da criança como, por exemplo, maior suscetibilidade às infecções, até graus variáveis no comprometimento do crescimento e do desenvolvimento cognitivo e motor (OBELAR, 2008).

Fluxograma 4 – Investigação para diagnóstico das anemias



4.2 Anemia Hemolítica Autoimune

A Anemia Hemolítica Autoimune (AHAI) é a mais importante anemia hemolítica adquirida, tanto pela sua frequência, quanto pelo seu potencial de gravidade. É caracterizada pelo encurtamento da sobrevivência dos eritrócitos causado por autoanticorpos circulantes dirigidos contra antígenos de glóbulos vermelhos, podendo ocasionar sua destruição por dois mecanismos principais, havendo excesso de remoção de eritrócitos por células do sistema reticuloendotelial (hemólise extravascular) ou destruição direta na circulação, um processo conhecido com hemólise intravascular (VIEIRA et al, 1999; GARRATTY, 2008; COTIAS, 2010; HOFFBRAND; MOSS, 2013; BRASIL, 2013).

Este tipo de anemia é um dos eventos autoimunes mais comuns no homem, entretanto a ocorrência em crianças e adolescentes é rara. Estima-se que a incidência seja de 0,2 por 1.000.000 indivíduos menores de 20 anos. É mais comum no sexo masculino, porém é mais frequente no sexo feminino entre os adolescentes. Estudos tem demonstrado um aumento na incidência dessa doença principalmente nos adultos, que tendem a desenvolver, em 25% a 30% dos casos de cronicidade (OLIVEIRA et al., 2006; LANDEIRO et al., 2005).

O mecanismo de hemólise na AHAI depende basicamente de um processo denominado “opsonização”. Anticorpos IgG revestem por completo a membrana eritrocitária e se ligam a receptores específicos dos macrófagos esplênicos, permitindo a fagocitose das hemácias (hemólise extravascular). Os componentes C3b do sistema complemento também são capazes de opsonizar as hemácias. Os macrófagos esplênicos e hepáticos possuem receptores para C3b em sua membrana e, por isso, podem fagocitar as células revestidas por complemento (ARANDA; ZEPEDA, 1986; GARRATTY, 2008).

A AHAI pode ser classificada com base na sua etiologia, classificadas em dois grupos: primária e secundária. Na AHAI primária ou idiopática, a destruição dos glóbulos vermelhos é o único achado clínico e não se identifica doença sistêmica de base para explicar a presença de autoanticorpos. Nestes casos, a prevalência é maior em mulheres, com pico entre a quarta e quinta década de vida. A secundária ocorre no contexto de uma doença sistêmica, sendo a anemia hemolítica uma manifestação

dessa doença. Normalmente, afeta pacientes com doenças auto-imunes e/ou inflamatórias como síndromes mielodisplásicas e hemoglobinúria paroxística noturna, por exemplo, e também pelo uso de medicamentos. As doenças linfoproliferativas são responsáveis por mais da metade dos casos de AHAI secundárias. (OLIVEIRA et al, 2006; VALLE et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2007; BORDIN, 2005).

No quadro 1 está representada outra forma de classificação da AHAI, de acordo com a temperatura de reatividade dos anticorpos aos eritrócitos, sendo os autoanticorpos geralmente do tipo quente, frio ou misto, no qual os dois tipos de anticorpos coexistem. A AHAI DI está incluída nesta classificação, sendo que o mecanismo irá determinar o tipo do anticorpo (dependente ou independente).

Quadro 1 - Classificação da Anemia Hemolítica Autoimune de acordo com a temperatura de reatividade dos autoanticorpos com os eritrócitos

Classificação da Anemia Hemolítica Autoimune
AHAI a quente Idiopática Secundária (desordens linfoproliferativas, desordens autoimunes)
AHAI a frio Síndrome da aglutinina a frio Secundária
Hemoglobinúria Paroxística a Frio Idiopática Secundária
AHAI mista Idiopática Secundária (desordens linfoproliferativas, desordens autoimunes)
AHAI droga induzida Mecanismo Autoimune Mecanismo de Adsorção Mecanismo de formação de complexo imune Mecanismo de formação de autoanticorpos

Fonte: (CHAUDHARY, DAS, 2014)

4.2.1 Anemia Hemolítica Autoimune a Quente

A AHAI a quente é causada por autoanticorpos que reagem mais fortemente à temperatura corporal (37°) contra antígenos do sistema Rh. Usualmente esses

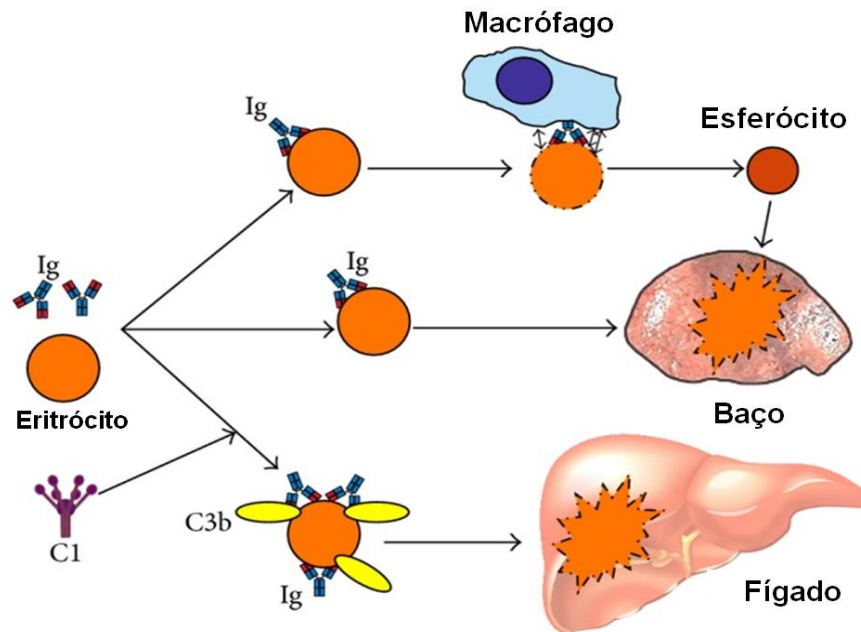
autoanticorpos são da classe IgG, de natureza policlonal, sendo estes incapazes de aglutinar as hemácias, porém causam hemólise extravascular, resultando na remoção e destruição das hemácias com alterações de membrana pelos macrófagos do baço e do fígado, pelo sistema reticulo endotelial (SOUZA, 2003; BRASIL, 2013).

A superfície dos macrófagos expressa receptores para a região Fc das imunoglobulinas, o que permite a captura dos eritrócitos por opsonização, processo caracterizado pela fixação de opsoninas ou fragmentos do complemento na hemácia, resultando na sua fagocitose. Por vezes há ocorrência de fagocitose incompleta, processo no qual resulta na formação de esferócitos, alteração frequentemente encontrada no esfregaço sanguíneo de pacientes com AHAI. As passagens subsequentes desses esferócitos por meio do baço, facilitam a sua hemólise (BERENTSEN, 2015).

A quantidade de complexo antígeno-anticorpo, em eritrócitos revestidos fortemente por IgG, facilita a ligação do complexo de proteína do complemento C1, favorecendo assim, a ativação da via do complemento. Após essa ativação, a fagocitose de eritrócitos opsonizados com C3b por células de Kupffer, conhecidas por “macrófagos do fígado”, é responsável pela maior parte de destruição dos eritrócitos (FIGURA 1) (BERENTSEN, 2015).

A incidência é de 1:80.000 indivíduos e representa cerca de 70,3% de todos os casos de AHAI. Ocorre principalmente entre 60 a 70 anos, com discreta predominância no sexo feminino. As manifestações clínicas são variáveis, tem início insidioso, febre, dor abdominal e lombar, manifestações de anemia com dispnéia, palpitações, mal-estar geral e hemoglobinúria. Achados clínicos são palidez cutâneo-mucosa, ictérica, hepatoesplenomegalia, linfadenomegalia e tromboembolismo venoso, sendo responsável por 3 a 10% dos óbitos em pacientes (COMPANY et al., 2017).

Figura 1 – Mecanismo de hemólise em AHAI a quente: Os eritrócitos com autoanticorpos reativos a quente são fagocitados por macrófago, uma vez que estes expressam receptores para a região Fc de imunoglobulinas. Uma fagocitose incompleta, pode resultar na formação de esferócitos. Os esferócitos estão mais susceptíveis a destruição durante múltiplas passagens pelo baço. Eritrócitos sensibilizados por imunoglobulinas podem ir diretamente para o baço, resultando na sua destruição. Em relação a subclasses de IgG, a IgG3 pode ativar complemento, levando a hemólise do eritrócito no fígado.



Fonte: Modificado de (BERENTSEN, 2015)

4.2.2 Anemia Hemolítica Autoimune a Frio

A AHAI a frio corresponde a 20%-30% das AHAI e é causada por autoanticorpos eritrocitários da classe IgM. Estes ligam-se a hemácia em temperaturas mais frias (entre 4°C e 18°C), ativam complemento, e conseqüentemente, promovem uma hemólise intravascular somente quando o anticorpo tem amplitude térmica, ou seja, quando o anticorpo é capaz de reagir em temperaturas máximas (geralmente a 37°C) e mínimas (entre 4°C e 18°C) (SOUZA, 2003; CANÇADO et al., 2005; BRASIL, 2013).

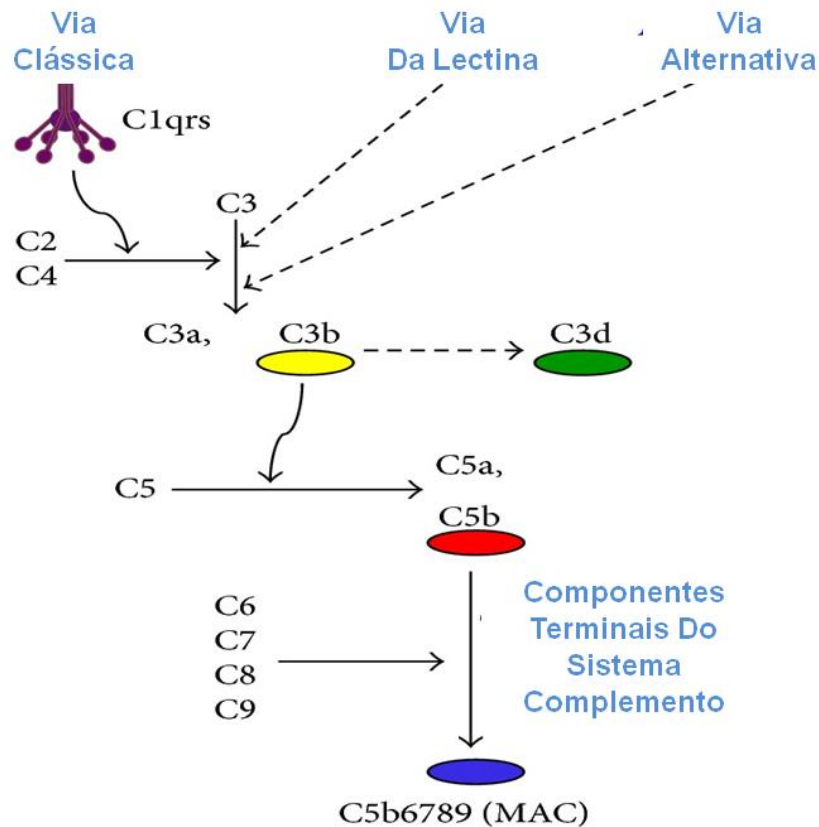
Os autoanticorpos patogênicos são caracterizados por uma grande amplitude térmica, em que de fato acontecerá um quadro de hemólise, pois tem relação com a faixa de temperatura em que uma aglutinação é detectável *in vitro* ou em um alto título, sendo que a atividade a 37°C sempre corresponde a um anticorpo frio clinicamente significativa hemolítica. É importante ressaltar que a hemólise é frequentemente ligeira e muitas vezes sem necessidade de tratamento. Porém, em 50% dos pacientes, o

tratamento é inevitável. Geralmente, a única medida necessária é a orientação médica para que o paciente não se exponha ao frio e previna infecções, de modo a reduzir o risco de exacerbação da hemólise. (SOUZA, 2003; CANÇADO et al.; 2005; BRASIL, 2013; MARTINS, 2014).

As hemácias lisadas são removidas no fígado, principalmente por macrófagos e pelas células de Kupffer, estes reconhecem o C3b presente na hemácia, promovendo a sua opsonização. As hemácias são raramente removidas no baço e por este motivo, a esplenomegalia é uma manifestação clínica menos frequente nesses pacientes quando comparados aos pacientes com AHAI a quente. Doenças linfoproliferativas e infecciosas como micoplasma são causas desse tipo de anemia hemolítica (SOUZA, 2003; BRASIL, 2013; CANÇADO et al., 2005).

Durante a passagem do sangue pelas extremidades do corpo, como por exemplo, mãos e pés, ocorre um resfriamento do sangue, permitindo que crioaglutininas se liguem aos eritrócitos, o que leva a formação de um imunocomplexo. O complexo IgM-crioaglutinina ligada ao antígeno eritrocitário é um potente ativador do complemento, portanto liga-se a C1, resultando na ativação da via clássica do complemento (FIGURA 2). A proteína C1 é uma esterase necessária para progressão da ativação da cascata, portanto ativa C4 e C2, gerando C3-convertase, que por sua vez cliva C3 em C3a e C3b. O fluxo sanguíneo, ao retornar para as partes centrais do corpo, que são mais quentes (37°C), faz com que o complexo IgM-aglutinina se separe da superfície de membrana eritrocitária, resultando na separação dos eritrócitos aglutinados. Porém, C3b permanece vinculado ao eritrócito. A proteína C1 pode, então, se ligar a crioaglutinina e ativar complemento, resultando na formação de C3b. Mas, a ativação pode progressuir além da formação de C3b, resultando em ativação de C5, formação de ataque de membrana e hemólise intravascular. A hemólise intravascular mediada por C5 ocorre somente em exacerbações agudas graves e em alguns pacientes profundamente hemolíticos. O principal mecanismo de hemólise é a destruição extravascular de eritrócitos revestidos com C3b (FIGURA 3) (YAMAMOTO; PORTINHO, 2011; BERENTSEN, 2015).

Figura 2 – Cascata do complemento simplificada. Via clássica do complemento: ativação mediada por um anticorpo e é iniciada pela ativação de C1 (C1q, C1r e C1s). C: proteína do complemento. MAC: Complexo de Ataque a Membrana.

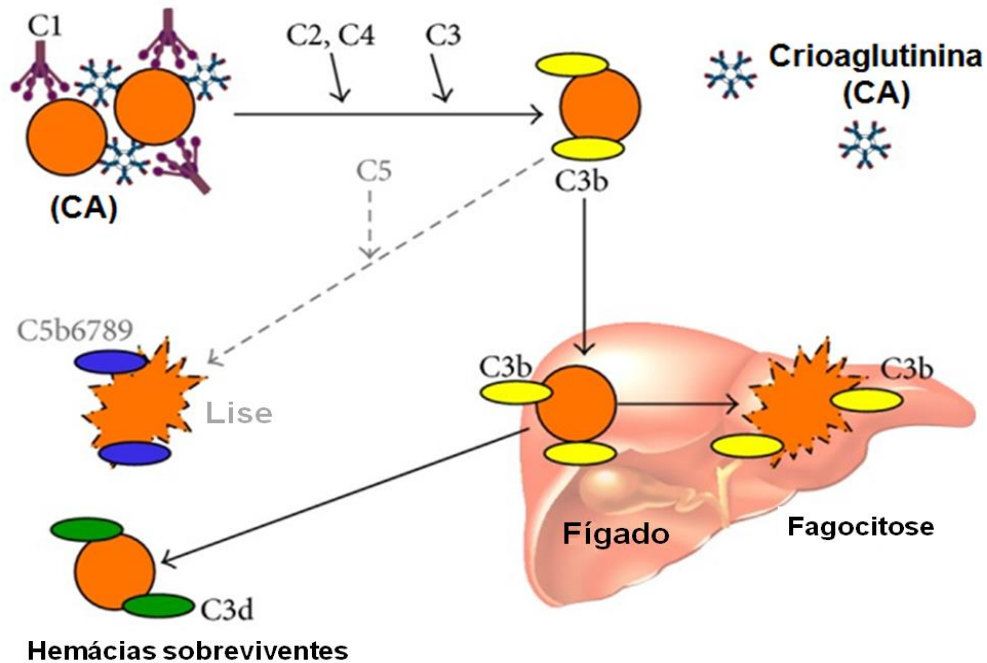


Fonte: Modificado de (BERENTSEN, 2015)

É importante ressaltar que geralmente este processo não acontece porque há uma diminuição na afinidade do anticorpo pelo antígeno eritrocitário a medida que as células voltam para a circulação central e atingem temperaturas fisiológicas. Mas, por outro lado, as hemácias que ficam retidas na região capilar, podem sofrer lise (YAMAMOTO; PORTINHO, 2011; BERENTSEN, 2015).

Em hemácias sobreviventes, pode ter uma grande quantidade de moléculas C3b na superfície celular. Além da formação de C3b, a ativação do complemento pode prosseguir para ativação de C5, resultando em complexo de ataque a membrana e hemólise intravascular (BERENTSEN, 2015).

Figura 3 – Mecanismo de hemólise da AHAI a frio: crioaglutinina favorece a ativação de complemento (ligação de C1) resultando na formação de C3b e indução de hemólise extravascular. A ativação do complemento pode prosseguir pela ativação de C5, induzindo hemólise intravascular.



Fonte: Modificado de (BERENTSEN, 2015)

A incidência desta é relativamente incomum, havendo um pico de incidência entre 50 a 60 anos em ambos os sexos. Há sintomas de anemia, urina escura, acrocianose de orelhas, nos dedos das mãos e dos pés, icterícia, hepatoesplenomegalia e linfadenomegalia. As manifestações clínicas variam entre os pacientes e isto se deve ao fato de que, provavelmente, são dependentes da amplitude térmica do anticorpo (CHAUDHARY; DAS, 2014).

4.2.3 Hemoglobinúria Paroxística a Frio

A Hemoglobinúria paroxística a frio (HPF) é subtipo raro de anemia hemolítica. A sua incidência é de 0,2 a cada 100.000 na faixa etária < 20 anos. Os anticorpos policlonais anti-IgG reativos a frio se ligam ao antígeno P presente na superfície de membrana eritrocitária e não aglutinam os eritrócitos. Porém, a hemólise é inteiramente dependente do complemento, sendo que a temperatura ideal para ativação do complemento é de 37°C. Estes anticorpos bifásicos, que fixam complemento tanto em baixas temperaturas quanto em temperaturas fisiológicas, são

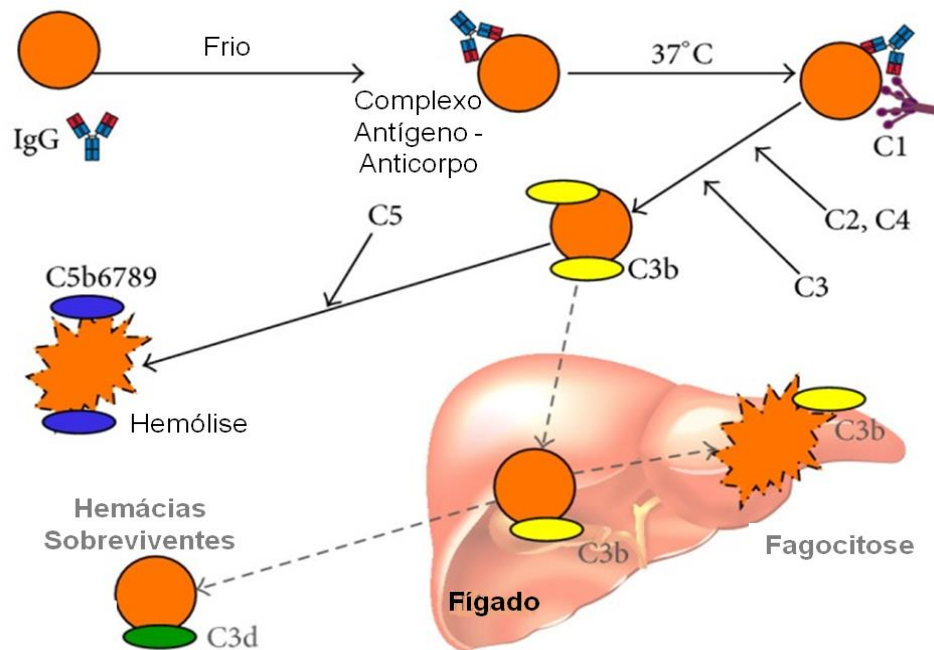
chamados de hemolisinas de Donath-Landsteiner (NEVES et al., 1998; BRASIL, 2010; MATOS et al., 2012; BERENTSEN, 2015).

A formação do complexo antígeno P com o anticorpo anti-P é um gatilho de complemento extremamente forte, resultando na ativação completa das vias clássicas e dos componentes terminais do sistema complemento (C5 a C9), promovendo a lise celular (FIGURA 4). A hemólise, portanto, é maciça e intravascular de início súbito, com anemia e hemoglobinúria, geralmente após exposição do paciente à temperaturas frias. Porém, o paciente também pode apresentar os seguintes sintomas: calafrios, febre, dor abdominal e nos membros inferiores e icterícia (BRASIL, 2010; MATOS et al., 2012; BERENTSEN, 2015).

A maioria dos casos deste subtipo de AHAI foi descrita em crianças após infecções virais, como sarampo, caxumba, varicela, mononucleose infecciosa, infecção do trato respiratório superior, e, em adultos, secundária a sífilis. Inicialmente foi descrita como uma manifestação de sífilis terciária, dividida em três categorias: sífilítica crônica; crônica não-sifilítica e transitória aguda. Os anticorpos geralmente aparecem cerca de uma semana após o início das infecções, persistindo por 1 a 3 meses. (MATOS et al., 2012; BRASIL, 2013).

O tratamento baseia-se na erradicação do frio e acompanhamento clínico e analítico, com normalização dos valores de hemoglobina e marcadores de hemólise. Apesar de a HPF ser uma complicação transitória com um bom prognóstico, pode haver necessidade de transfusões em caso de anemia grave ou agravamento rápido (BRASIL, 2013).

Figura 4 – Mecanismo de hemólise da Hemoglobínúria Paroxística a Frio: Hemólise mediada pela ativação do complemento, mostrando uma temperatura bifásica (frio e a 37°C). As setas pretas representam ativação da via clássica do complemento, responsável por induzir hemólise intravascular. Setas cinzas representam outro possível caminho de hemólise.

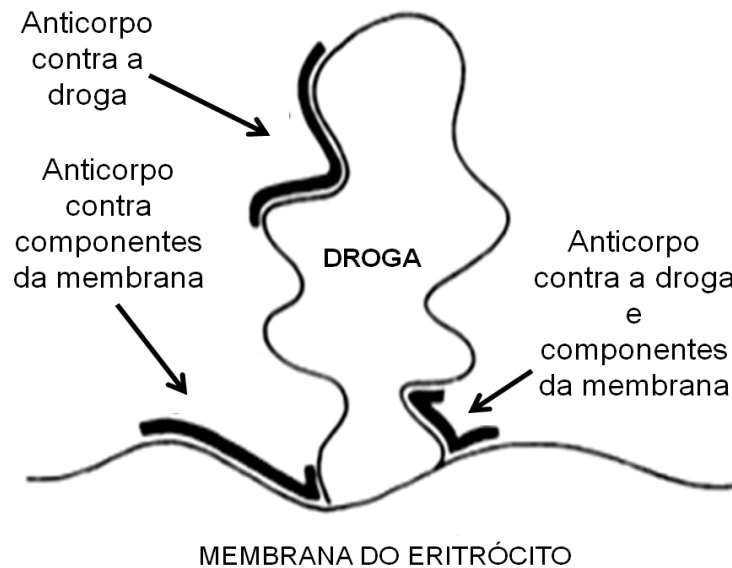


Fonte: Modificado de (BERENTSEN, 2015)

4.2.4 Anemia Hemolítica Autoimune Droga Induzida

A Anemia Hemolítica Autoimune Droga Induzida pode estar associada a anticorpos independentes de drogas, os quais não precisam da presença da droga para obter reação *in vitro*, tendo característica idêntica aos autoanticorpos contra antígenos eritrocitários, como também pode ser atribuída a anticorpos droga-dependentes, que só reagem *in vitro* na presença da droga. Estes são anticorpos que reagem direto contra epítomos da droga e/ou seus metabólitos presente na membrana eritrocitária ou se ligam ao conjugado hapteno-proteína (FIGURA 5). Portanto, há quatro mecanismos clássicos responsáveis pela hemólise induzida por medicamentos: (1) a formação de complexos imunes, (2) adsorção dos medicamentos, (3) modificação da membrana e (4) formação de autoanticorpos (CHAUDHARY; DAS, 2014; GARRATTY, 2009).

Figura 5 - Locais de reação dos anticorpos droga-induzidos. As linhas mais escuras representam o sítio de ligação do anticorpo (porção Fab) droga-induzida ao antígeno



Fonte: Modificado de (GARRATTY, 2004)

Na formação de complexos imunes, a droga combina-se às proteínas plasmáticas, formando imunógenos. As imunoglobulinas, IgM e IgG, reconhecem determinantes no medicamento e na administração da droga, desencadeando a formação de um complexo anticorpo/medicamento com ativação da cascata do complemento e as hemácias envolvidas nesse processo são lisadas, apresentando hemólise intravascular aguda. Entretanto, com a suspensão da medicação há rápida recuperação (GARRATTY, 2009).

No mecanismo de adsorção, o medicamento liga-se firmemente às proteínas da membrana eritrocitária e não há ativação do complemento, apresentando hemólise extravascular, sendo uma anemia que possui perfil de evolução mais branda, sem risco de vida para o paciente. Já quando há modificação da membrana pela adsorção de proteínas não imunológicas, as drogas são capazes de modificar as hemácias de tal forma que proteínas plasmáticas, IgG, IgM, IgA, e complemento, podem ligar-se à membrana (GARRATTY, 2009).

No último tipo de mecanismo, a droga induz a produção de um autoanticorpo que reconhece os antígenos eritrocitários, entretanto, apenas 0,5% a 1% evoluem com anemia hemolítica imune com repercussão clínica (GARRATTY, 2009).

5 Anemia hemolítica Autoimune Droga Induzida Droga Independente

A anemia hemolítica autoimune droga induzida é uma complicação rara que provém de um tratamento medicamentoso e tem incidência de aproximadamente 1 caso por milhões de habitantes por ano, comparando-se com a AHAI, que foi relatado 1 caso em 80.000 habitantes. Entretanto, a incidência se torna subestimada, uma vez que há vários fatores que levam a um diagnóstico errado por ser indistinguível da anemia hemolítica autoimune e encontra-se autoanticorpos nos soros dos pacientes e na eluição dos eritrócitos. Uma falha no seu reconhecimento pode resultar em morte, por isso é essencial uma investigação sorológica consistente associada a uma história clínica completa para um diagnóstico correto. (GABE et al., 2011; MAYER et al., 2015; GARRATY, 2009).

Os autoanticorpos droga-independente reagem com o eritrócito na presença ou ausência do fármaco e causam hemólise extravascular mediada pela porção Fc do anticorpo, além de não ativarem complemento. Já os anticorpos dependentes de drogas se ligam aos eritrócitos apenas na presença do fármaco sensibilizador, levando a hemólise intravascular, mediada predominantemente por complemento. Entretanto, alguns medicamentos podem estimular a produção dos dois tipos de anticorpos (WENZ; LALEZARI, 1973; LICHTMAN et al., 2005; SALAMA, 2009; SALAMA; MAYER, 2014).

Em 1980, havia somente 33 medicamentos relatados e conhecidos por causar AHAI. Porém, em 2004 houve relato de aproximadamente 100 medicamentos. Ainda em 2007, Garratty e Arndt, publicaram uma lista de drogas causadoras de AHAI e essa lista foi baseada em uma revisão de quase 500 artigos sobre AHAI. A partir disso, concluíram o envolvimento de 125 fármacos na causa da anemia hemolítica, sendo que alguns destes não eram mais utilizados ou raramente utilizados (GARRATY; ARNDT, 2007; PETROIANU, 2011; GARRATY, 2012; ARNDT, 2014; MAYER, 2015).

A incidência de alguns fármacos que causam AHAI varia de década pra década e pode variar em um período curto. A incidência dos fármacos pode variar nacional e internacionalmente, tendo relação direta com a dosagem administrada em cada país. Houve predominância da metildopa e penicilina intravenosa em doses altas

na década de 1970 a 1990, enquanto que o cefotetano, cefalosporina de 2ª geração, predominou na década de 2000 (TABELA 1). Hoje, são relatados mais de 130 medicamentos responsáveis por causar AHAIdroga induzida, envolvendo anticorpos dependentes e independentes de droga (evidenciados na cor cinza) (PETROIANU, 2011; GARRATY, 2012; ARNDT, 2014; MAYER, 2015).

No entanto, no início de 2016, o cefotetano se tornou disponível nos Estados Unidos até agosto de 2017, suspendendo a sua venda em forma genérica a partir de então. Por este motivo, há diminuição dos casos de AHAIDI causados por cefotetano (TABELA 1). Desde então, de acordo com os casos relatados na literatura, o fármaco mais comumente associado com AHAIDI tem sido fludarabina, quimioterápico análogo das purinas (GARRATY, 2012; ARNDT, 2014).

Tabela 1 – Fármacos causadores de AHAIDI mais incidentes

Droga	São Francisco (Garraty and Petz)		Sul da Califórnia (Garraty, Arndt and Leger)		
	1969-1978	1979-1988	1989-1998	1999-2008	1979-2008
Metildopa	29 (67%)	0	0	0	0 (0%)
Penicilina	10 (23%)	2 (15%)	0	0	2 (1,3%)
Cefotetano	0	0	36 (69%)	45 (53%)	81(54%)
Ceftriaxona	0	1 (8%)	5 (10%)	14 (17%)	20 (13%)
Outras cefalosporinas	0	2 (15%)	0	0	2 (1,3%)
Inibidores da β- lactamase	0	0	4 (8%)	6 (7%)	10 (7%)
Piperacilina	0	0	1 (2%)	12 (14%)	13 (9%)
Outros	4 (9,3%)	8 (62%)	6 (12%)	8 (9%)	22 (15%)
Total	43	13	52	85	150

FONTE: Modificado de (GARRATY, 2012)

Geralmente os anticorpos dependentes de drogas estão mais associados penicilinas, quinidina, cefalosporina e cefotetano. Enquanto que a fludarabina, metildopa, os antibióticos inibidores de β -lactamase, particularmente as cefalosporinas de segunda e terceira geração, e quimioterapias a base de platina foram os agentes causais frequentes de anticorpos independentes de drogas (QUADRO 2), sendo que o mecanismo hemolítico das penicilinas e cefalosporinas inclui a união desses antibióticos com a membrana eritrocitária para a formação de imunocomplexos e geração da resposta imune, com a formação de IgG e anticorpos contra as hemácias (PETROIANU, 2011; GARRATY, 2012; ARNDT, 2014; MAYER, 2015).

Por outro lado, há evidências de que a AHADI pode desviar ao reconhecimento, principalmente se o fármaco em questão não foi relatado anteriormente como causador de hemólise imune até o momento. Os sinais e sintomas clínicos apresentados pelo paciente são variáveis. O resultado imunohematológico pode ser mal interpretado e pode ser confundido, sugerindo outro diagnóstico, como por exemplo anemia hemolítica autoimune idiopático, uma vez que os anticorpos independentes de droga são indistinguíveis sorologicamente dos autoanticorpos quentes e são semelhantes aos responsivos aos esteroides (PETROIANU, 2011; GARRATY, 2012; ARNDT, 2014; MAYER, 2015)

Quadro 2 - Algumas drogas causadoras de AHADI por Anticorpo Droga Independente

Fármaco	Categoria Terapêutica	Possível Mecanismo
Apazone	Anti-inflamatório e analgésico	Droga Independente e Dependente por adsorção
Cefalosporinas		
Segunda Geração	Antimicrobiano	Droga Independente e Dependente por adsorção e imunocomplexo
Terceira Geração	Antimicrobiano	Droga Independente e Dependente por adsorção e imunocomplexo
Clorpromazina	Antipsicótico	Droga Independente e Dependente por imunocomplexo
Cladribina	Antineoplásico	Droga Independente

Quadro 2 - Algumas drogas causadoras de AHAI por Anticorpo Droga Independente

Ciclofenila	Princípio Estimulante das Gônadas	Droga Independente
Ciclosporina	Imunossupressor	Droga Independente
Diclofenaco	Anti-inflamatório	Droga Independente e Dependente por imunocomplexo
Fenoprofeno	Anti-inflamatório e Analgésico	Droga Independente e Dependente por imunocomplexo
Fludarabina	Antineoplásico	Droga Independente
Glafenina	Analgésico	Droga Independente e Dependente por imunocomplexo
Ibuprofeno	Anti-inflamatório	Droga Independente
Interferon	Antineoplásico e Antiviral	Droga Independente
Levodopa	Antiparkinsoniano e Anticolinérgico	Droga Independente
Ácido Mefenâmico	Anti-inflamatório	Droga Independente
Metildopa	Anti-hipertensivo	Droga Independente
Nomifensina	Antidepressivo	Droga Independente e Dependente por imunocomplexo
Fenacetina	Analgésico e Antipirético	Droga Independente e Dependente por imunocomplexo
Procainamida	Antiarrítmico	Droga Independente
Estreptomicina	Antimicrobiano	Droga Independente e Dependente por adsorção e imunocomplexo
Suprofeno	Anti-Inflamatório e Analgésico	Droga Independente e Dependente por imunocomplexo
Zomepirac	Anti-Inflamatório e Antipirético	Droga Independente e Dependente por adsorção e imunocomplexo

FONTE: Modificado de (LEGER, 2014)

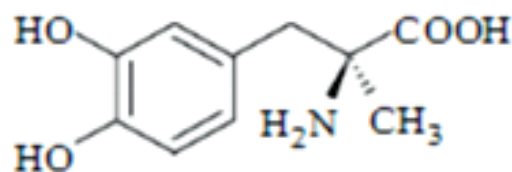
5.1 Fármacos Envolvidos na Anemia hemolítica Autoimune Droga Induzida Droga Independente

5.1.1 Metildopa

Historicamente, os anticorpos independentes de drogas foram formados mais comumente em resposta ao tratamento com a metildopa e foi uma das primeiras drogas relatadas como indutora de AHAIDI. É um fármaco que tem efeito antihipertensivo e geralmente tem como indicação terapêutica a hipertensão gestacional e pré-eclâmpsia (MURPHY; KELTON, 1988; GARRATY, 2009).

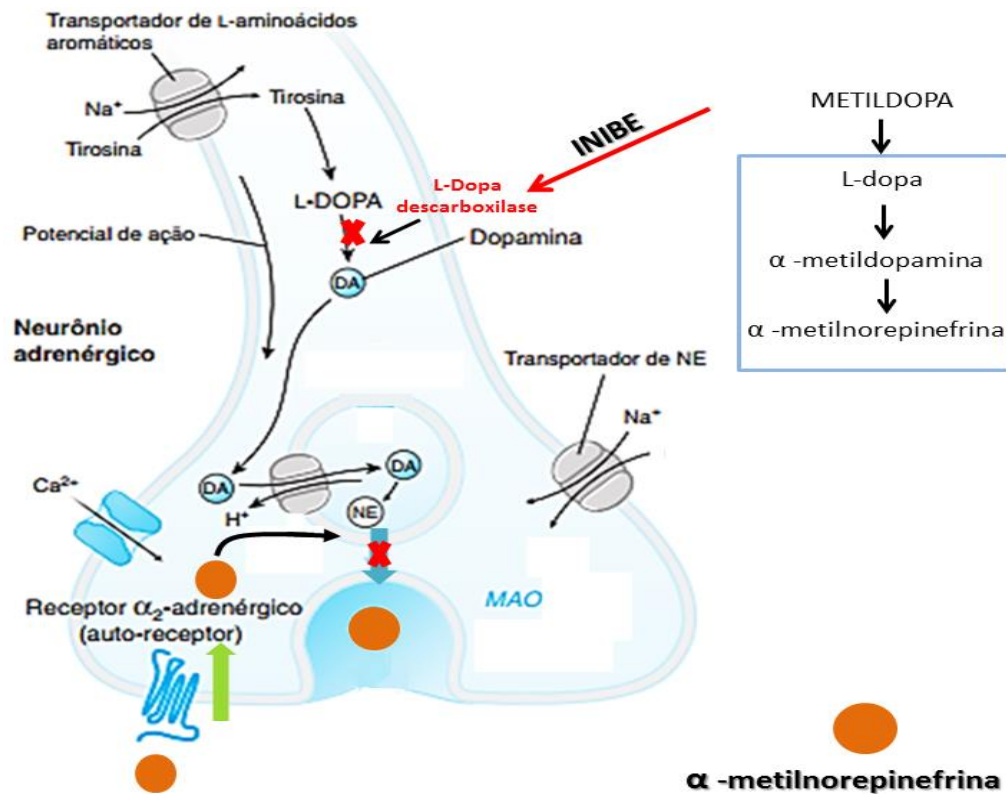
A metildopa é um pró-fármaco e a sua estrutura química é a alfa-metil-3,4-dihidroxi-l-fenilalanina (FIGURA 6), uma molécula análoga à Dopa, a qual é metabolizada pela L-dopa descaboxilase nos neurônios adrenérgicos, dando origem à α -metildopamina e posteriormente à α -metilnorepinefrina, a qual é armazenada dentro de vesículas, substituindo a norepinefrina, impedindo a ação da monoamina oxidase (FIGURA 7). A α -metilnorepinefrina atuará em receptores α -adrenérgicos agindo como um falso neurotransmissor, o que resultará na diminuição do efluxo simpático da norepinefrina para a periferia, diminuindo a pressão arterial por reduzir a resistência periférica vascular, além de alterar a frequência e o débito cardíacos (TAVARES, PLAVNIK, 1998).

Figura 6 – Estrutura química da metildopa



Fonte: (SILVA, et al., 2016)

Figura 7 – Mecanismo de ação da metildopa. A metildopa é capaz de inibir a enzima L-Dopa descarboxilase, inibindo conseqüentemente, a transformação da L-Dopa em dopamina, diminuindo a sua liberação da fenda sináptica. Além disso, a metildopa é um análogo da DOPA e pode ser metabolizada nos neurônios adrenérgicos em α -metilnorepinefrina. A α -metilnorepinefrina é armazenada em vesículas neurotransmissoras e atua como um falso neurotransmissor, substituindo a norepinefrina, sendo capaz de diminuir a pressão arterial.



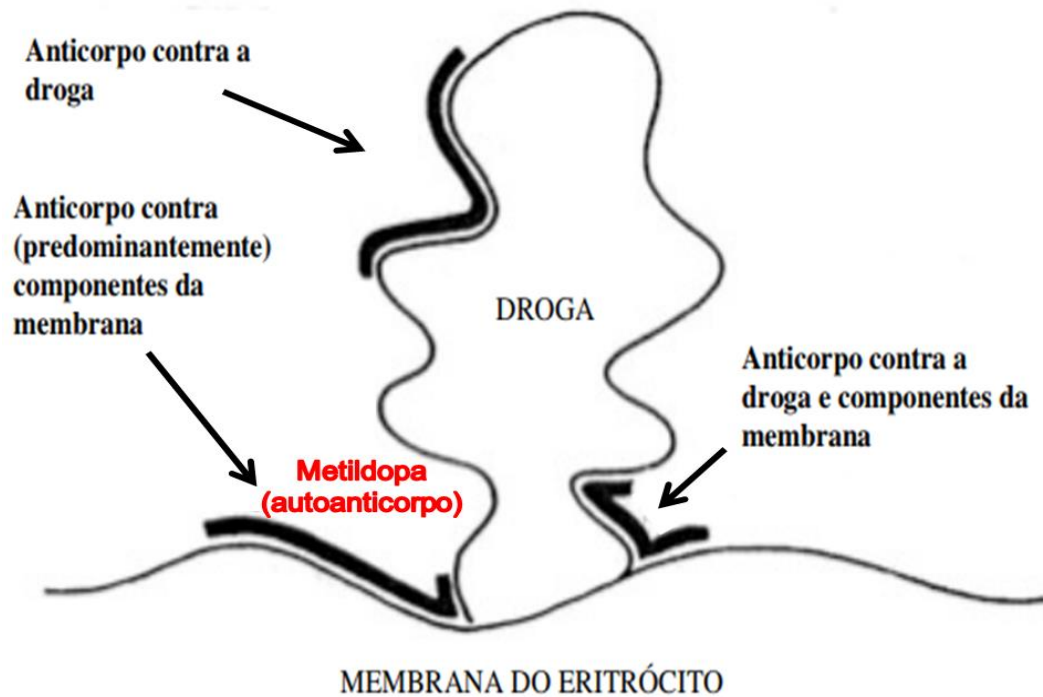
Fonte: Modificado de (NADAL-VICENS; CHYUNG; TURNER, 2009)

Acredita-se que cerca de 10 a 20% dos pacientes que são tratados com a metildopa por mais de 4 meses passam a produzir autoanticorpos eritrocitários, porém apenas 0,5% a 1% dos pacientes desenvolvem uma AHAI (MURPHY; KELTON, 1988; GARRATY, 2009).

Sabe-se que estes anticorpos são autoanticorpos verdadeiros, ou seja, se ligam contra antígenos eritrocitários próprios e não contra o fármaco ou contra um antígeno alterado pela droga, como ilustrado na figura 8, e geralmente aparecem por volta de seis meses de uso deste medicamento. O anticorpo pode ser formado entre 48 horas a 3 meses após a administração do fármaco e, por esse motivo, são detectáveis na ausência da droga e não é necessário que o medicamento indutor esteja presente para que ocorra hemólise. A diminuição do processo hemolítico cessa dentro de

aproximadamente 2 semanas após a retirada do fármaco. Porém, não há elucidação do mecanismo de indução dos autoanticorpos que ocorre com a metildopa (MEJÍA-ARREGUÍ, 2005; GARRATTY, 2009; ANISH; JAMES; GRAZIANO, 2009; PEREZ et al., 2009).

Figura 8 - Local de reação do autoanticorpo contra metildopa



FONTE: Adaptado de (GARRATTY, 2004)

Segundo Murphy e Kelton (1988) e Gehrs e Friedberg (2002), os autoanticorpos produzidos pelo uso da metildopa são geralmente IgG que reagem a quente e podem apresentar especificidade por antígenos eritrocitários de alta frequência relacionados principalmente ao sistema Rh, além de, terem afinidade também pelos antígenos Jk^a, Wr^b e U, dos sistemas Kidd, Diego e MNS, respectivamente.

Como mostrado na tabela 1, houve uma diminuição significativa no uso da metildopa e isto refletiu na queda da sua incidência, deixando de ser o principal fármaco responsável pela AHAIDI droga independente. A metildopa caiu em desuso pelo fato da alta frequência de efeitos secundários e pela necessidade de serem utilizadas doses frequentes. Os efeitos adversos hematológicos mais comuns relacionados a metildopa são depressão da medula óssea, anemia hemolítica,

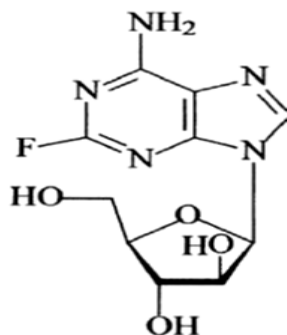
leucopenia, granulocitopenia e trombocitopenia, além de causar positividade no TAD em até 10% dos pacientes que administram 2 gramas diários. Uma minoria destes pacientes apresenta plaquetopenia, esferocitose e hemólise que podem ser intensas (PEREZ et al., 2009; FERREIRA et al., 2013).

5.1.2 Fludarabina

Nas últimas duas décadas, os análogos de purina, como a fludarabina, têm sido uma das drogas mais relatadas por produzir anticorpos independente de drogas e AHAÍ. A fludarabina é um quimioterápico frequentemente utilizado no tratamento de Leucemia Linfóide Crônica (LLC) e o curso clínico de pacientes com este tipo de neoplasia é muitas vezes complicado por desordens autoimunes que envolvem as células do sangue (MYINT et al, 1995; D'ARENA; CASCAVILLA, 2007; GARRATY, 2009; PIERCE; NESTER, 2011).

A fludarabina (FIGURA 9), é uma pró-droga e é administrada na sua forma monofosforada (fosfato de fludarabina) que ao ser metabolizada, dá origem à sua forma ativa, a 9-β-D-arabinosil-2-fluoroadenina (F-Ara-A). O 2F-ara-A é transportado ativamente para dentro dos linfócitos leucêmicos. Pelo fato do F-Ara-A ser relativamente insolúvel, foi necessário uma adição de fosfato no carbono 5' para produzir uma droga suficientemente solúvel, afim de permitir o seu uso clínico. A fludarabina, composto resultante, é carregado negativamente ao pH fisiológico e, por isso, é incapaz de entrar nas células (MONTILLO; RICCI; TEDESCHI, 2006; DE LA CRUZ et al., 2017).

Figura 9 – Estrutura química da fludarabina



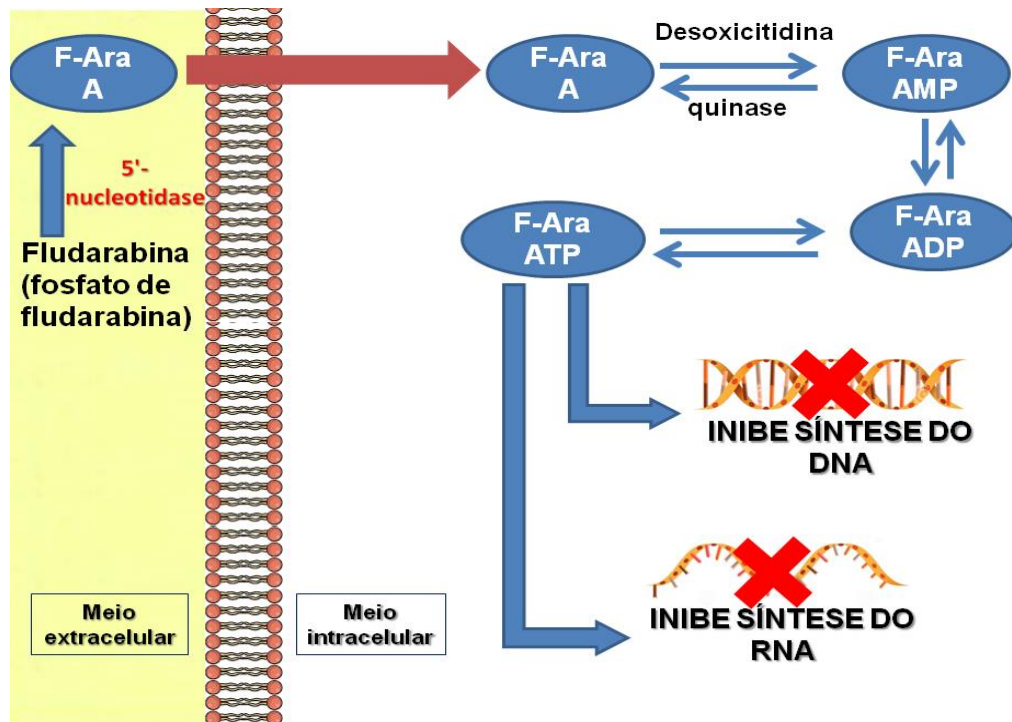
Fonte: (ROBAK; ROBAK, 2013)

A fludarabina, para que entre na célula, praticamente imediatamente após infusão intravenosa, sofre um processo de desfosforilação pela ação da enzima 5'-nucleotidase, geralmente presente em eritrócitos, células endoteliais e alguns órgãos, dando origem ao F-Ara-A. O F-Ara A, sofre ação da enzima desoxicitina quinase e é novamente fosforilada no meio intracelular, dando origem ao F-Ara-AMP, o qual dá origem ao F-Ara-ADP e este, posteriormente, ao F-Ara-ATP. O principal mecanismo citotóxico da fludarabina requer a presença do F-Ara-ATP, o qual é responsável por inibir a síntese de DNA (FIGURA 10). No entanto, o F-Ara-ATP também é um inibidor eficaz da síntese de RNA (MONTILLO; RICCI; TEDESCHI, 2006).

A DNA ligase I, enzima responsável pela replicação e reparo do DNA, também é inibida pelo F-Ara-ATP, o que potencializa o seu efeito sobre a inibição do DNA e resulta em inativação completa da síntese de DNA e posteriormente inicia um processo de morte celular programada, a qual sofrerá apoptose (MONTILLO; RICCI; TEDESCHI, 2006).

Estudos relatam que cerca de 20% dos pacientes com LLC tratados com fludarabina desenvolveram AHAIDI. Porém, essa conclusão pode ser contestada, já que até 35% dos pacientes com LLC foram relatados por formar autoanticorpo contra eritrócitos (AHAI a quente), ou seja, indivíduos com LLC que fazem uso de fludarabina e apresentam autoanticorpo podem ter AHAIDI ou AHAI secundária a LLC. Um outro estudo feito, relata um estudo comparativo entre a fludarabina e outros fármacos. 5% do grupo tratado com fludarabina desenvolveu autoanticorpos, sendo que 2% apresentou AHAI. Já o grupo que foi tratado com outros fármacos, 0% dos pacientes desenvolveram autoanticorpos (GARRATY, 2009).

Figura 10 – Mecanismo de ação da fludarabina



Fonte: Baseado em (MONTILLO; RICCI; TEDESCHI, 2006)

Segundo Borthakur et al (2007), relataram recentemente que 5,8% dos 300 pacientes com LCC que receberam fludarabina, ciclofosfamida e rituximab, desenvolveram anemia, porém 82,4% desses pacientes apresentaram TAD negativo, o que sugere que tratamentos adicionais da LCC, como por exemplo a inclusão de rituximab, pode mascarar a reatividade do TAD, levando a um TAD negativo. Além disso, segundo Swords et al (2006) e Chaturaka, Senaka e Lallindra (2015), a associação de ciclofosfamida e rituximab com fludarabina mostrou que a incidência e gravidade da AHADI por fludarabina foi reduzida, sugerindo que o rituximab pode exercer algum mecanismo protetor para inibir a hemólise induzida por fludarabina em LLC, uma vez que estudos feitos com o rituximab, mostraram que as infusões do fármaco foram associadas a uma diminuição do número de linfócitos e, principalmente, esgotamento dos linfócitos B.

Por outro lado, a incidência geral da ocorrência de AHADI por fludarabina permanece obscura, uma vez que os pacientes tratados com esse tipo de medicamento já apresentam complicações autoimunes subjacentes, o que gera dificuldades na descoberta da formação dos anticorpos ocorrendo estritamente como

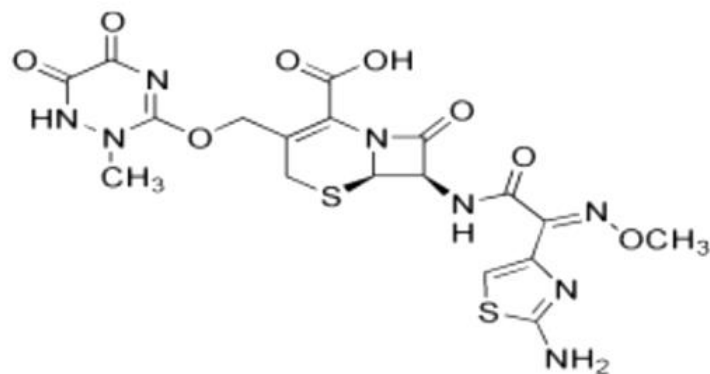
resultado dos próprios medicamentos. Suas complicações são raras, mas podem ser fatais (SARTORI; STALEY; SKIPPER, 2014).

5.1.3 Cefalosporinas

A AHAÍ induzida por cefalosporinas é uma condição rara, porém na última década houve um aumento na incidência de anemia hemolítica associada às cefalosporinas de segunda e terceira geração, as quais têm sido a causa mais comum de casos relacionados à AHAÍDI desde o primeiro caso relatado de AHAÍ intravascular por cefotaxime. Há alguns anos, os fármacos mais incidentes eram a metildopa e a penicilina (ARNDT; GARRATY, 2005; KAPUR et al., 2008; ALVES et al., 2011).

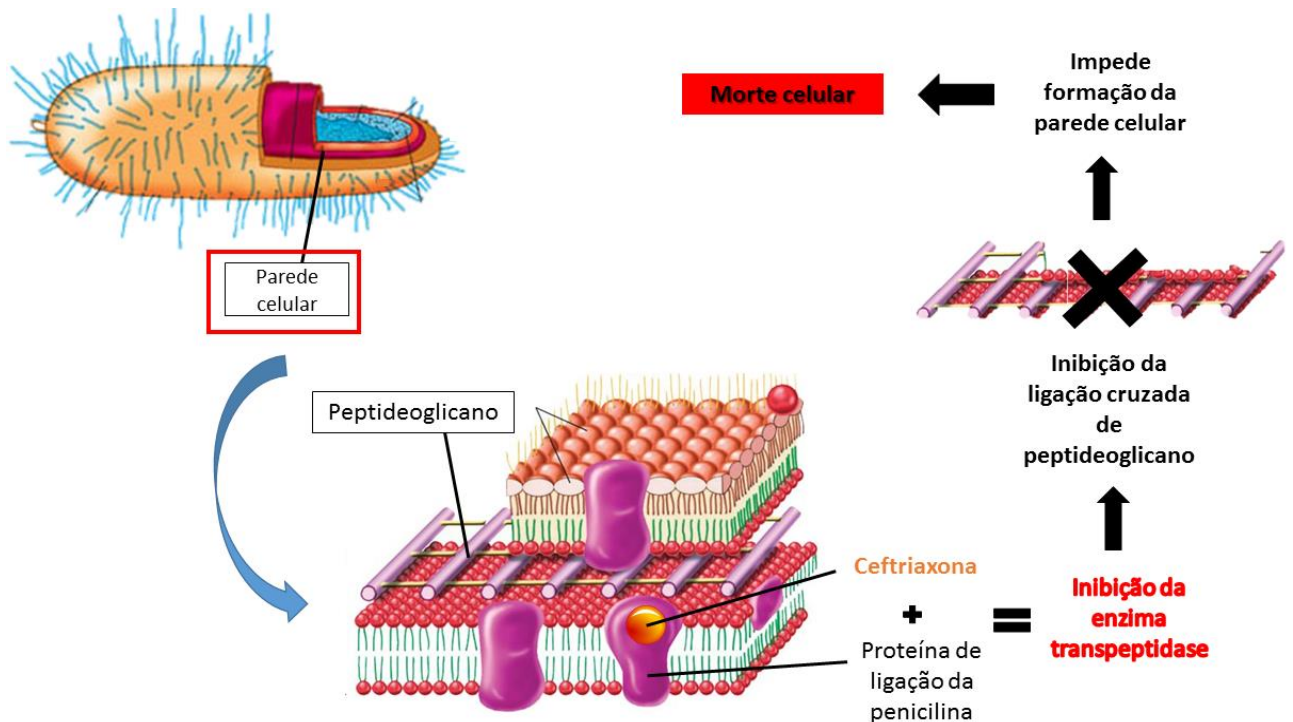
A ceftriaxona (FIGURA 11) é um fármaco que pertence a classe das cefalosporinas de terceira geração e é utilizada devido ao seu largo espectro de ação contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas desde 1982. O mecanismo de ação da ceftriaxona consiste na inibição da enzima transpeptidase e consequentemente da formação da ligação cruzada entre cadeias de peptídeooglicano, impedindo a síntese da parede celular bacteriana (FIGURA 12) (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010; SILVA et al., 2014).

Figura 11 – Estrutura química da ceftriaxona



Fonte: (SILVA et al., 2014)

Figura 12 - Mecanismo de ação da Ceftriaxona



Fonte: Baseado em (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010)

Esta droga foi associada a mais de 50% dos casos de AHAI por cefalosporinas de terceira geração e foi relatada 37 vezes entre 1991 e 2015, sendo estes relatados tanto em crianças quanto em adultos, a maioria idosos a partir de 60 anos, sendo mais comum em crianças, principalmente nas portadoras de desordens hematológicas crônicas, como por exemplo, anemia falciforme. Em crianças, as reações hemolíticas podem começar de 5 minutos a 7 dias após a administração do fármaco (KAPUR, et al 2008; VEHAPOĞLU, et al. 2016).

A hemólise causada por esta classe de fármacos é predominantemente intravascular e os anticorpos responsáveis são as imunoglobulinas das classes IgG e/ou IgM ativadores de complemento. Os autoanticorpos produzidos podem reagir com o fármaco, com o complexo fármaco-hemácia ou apenas com a membrana da hemácia, sendo que no caso do ceftriaxona os anticorpos produzidos parecem reagir com o complexo fármaco-hemácia (ARNDT; GARRATY, 2005; KAPUR et al., 2008; ALVES et al., 2011).

O diagnóstico de AHAI pelo ceftriaxona foi baseado em evidências laboratoriais de hemólise de caráter autoimune, com TAD, PAI e a pesquisa de

autoanticorpos, assim como anti-C3d, fortemente positivos (SELTSAM; SALAMA, 2000; ARNDT; GARRATY, 2005; ALVES et al., 2011).

Em um estudo feito, foi observado que a reexposição ou continuidade do tratamento com a ceftriaxona é determinante para o desenvolvimento de autoanticorpos contra o fármaco, resultando em hemólise. Em todos os casos relatados em crianças, havia história de exposição prévia ao ceftriaxona, o que determina uma hemólise de caráter imune (ARNDT; GARRATY, 2005; ALVES et al., 2011).

As cefalosporinas de segunda e terceira geração, em particular a ceftriaxona, são fármacos comumente utilizados na prática médica e é importante considerar e compreender as reações adversas, atentando-se em reconhecer os sinais e sintomas de hemólise em pacientes em uso destes fármacos. O diagnóstico precoce da anemia hemolítica resultará em um melhor prognóstico, uma vez que a hemólise induzida por estes fármacos apresenta alta taxa de fatalidade, sendo de 57,14% em crianças e de 50% em adultos (ALVES et al., 2011).

5.2 Etiologia

Até hoje não há provas de que um fármaco gera a produção de autoanticorpos, uma vez que é difícil de obter-se como ocorre o mecanismo dessa produção pelo sistema imune em resposta a um determinado fármaco. Porém, uma evidência é suficiente para acreditar nesse fato: o aparecimento de autoanticorpos contra eritrócitos começou após administração de determinada droga, causando um quadro de anemia no paciente, muitas vezes grave. E, ainda assim, estudos mostram que após a retirada do medicamento, houve cessação da resposta imune. Quando o medicamento foi readministrado, houve recorrência de anemia hemolítica (GARRATY, 2012; LEGER, 2014).

Por outro lado, há evidências de que a AHAIDI droga independente pode ocorrer em pacientes que nunca foram tratados com uma droga causadora de AHAIDI. Acredita-se que isso se deve ao fato de que, nos EUA, animais foram expostos a antimicrobianos beta-lactâmicos, adicionados a ração do animal (gado e galinha). Quando o ser humano ingere a carne deste animal, é exposto ao medicamento e

assim pode desenvolver anticorpos contra a droga. Por este motivo, os anticorpos podem ser detectados em pacientes aleatórios e doadores de sangue (GARRATTY, 2012).

Em 2012, a *Food and Drug Administration* (FDA) – Administração de Alimentos e Remédios anunciou restrições em relação a utilização de cefalosporinas em animais dos Estados Unidos. A presença de anticorpos contra drogas se tornou um importante e relevante ponto clínico e diagnóstico para casos de AHAI (GARRATTY, 2012).

Em relação à Fludarabina, apesar do mecanismo de formação de autoanticorpos pelo seu uso não estar totalmente elucidado, acredita-se que a fludarabina afeta linfócitos T, contribuindo para um agravamento na disfunção destas células, uma vez que a função das células T já é basicamente prejudicada em pacientes com LLC (BORDIN, 2005; D'ARENA; CASCAVILLA, 2007; DE LA CRUZ et al., 2017).

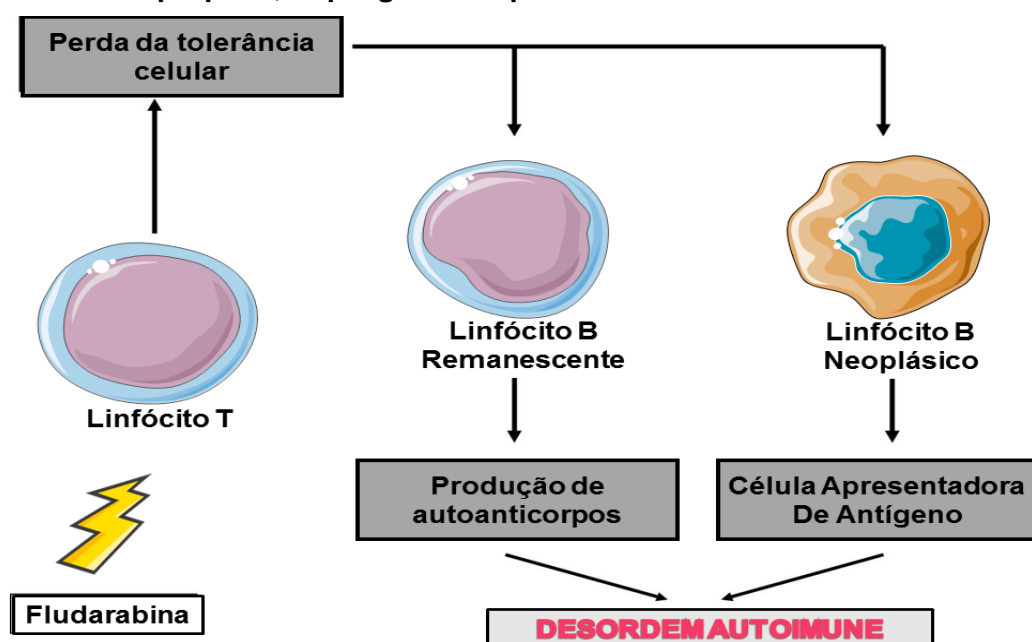
Na resposta imune, os linfócitos B atuam como células apresentadoras de antígenos, capaz de processar e expressar moléculas co-estimulatórias necessárias para estimular células Thelper. Já foi descrito, inclusive, que pacientes com AHAI a quente mediada por autoanticorpos do tipo IgG, possuem células Thelper específicas para proteínas do sistema Rh, o que leva ao reconhecimento desses antígenos como algo estranho ao corpo, gerando a lise das hemácias (BORDIN, 2005).

Atualmente, foi demonstrado que as células B da LLC, assim como na AHAI a quente, atuam como células apresentadoras de antígenos próprios, sendo capazes de processar e apresentar proteínas do sistema Rh às células Thelper auto-reativas. Desse modo, os linfócitos B malignos da LLC entram em contato com a hemácia e plaquetas, apresentando os antígenos presentes nessas células aos linfócitos Thelper (BORDIN, 2005).

Os linfócitos Thelper são responsáveis pela auto-tolerância e esta é, em partes, mantida pela eliminação de linfócitos auto-reativos. Porém, linfócitos Thelper específicos para certos auto-antígenos, como por exemplo os do sistema Rh, podem fugir do mecanismo de controle e, se ativados, causam uma doença autoimune, o que gera por consequência a lise completa das hemácias (BORDIN, 2005).

Segundo Hamblin et al (1998), a autoimunidade na LLC é acima de tudo devido à perda de células T, uma vez que estas células são importantes componentes da tolerância imunológica (processo pelo qual o sistema imunológico não ataca determinado antígeno próprio), principalmente o Thelper. A patogênese da AHAIDI foi recentemente sugerida por Hall et al (2005), que demonstrou que células B de LLC são as principais células apresentadoras de antígenos que eficientemente apresentam proteínas do sistema Rh para estimular Thelper, linfócito responsável por estimular a multiplicação de outros leucócitos para agirem contra antígenos, coordenando a resposta imune (Figura 13). Portanto, o sistema imune reconhece as proteínas do sistema Rh como “algo estranho” e ataca-o, resultando em hemólise do eritrócito. Os autoanticorpos induzidos são geralmente IgG de alta afinidade que visam frequentemente elementos do sistema Rh.

Figura 13 – Mecanismo de formação de autoanticorpos pelo uso de Fludarabina. A fludarabina é capaz de inibir linfócitos T, sendo que estes, principalmente o Thelper, são responsáveis pela tolerância celular. Quando há a inibição destas células, há uma perda na tolerância celular, o que resulta na apresentação de antígenos próprios pelos linfócitos B neoplásicos (devido a LLC), como por exemplo proteínas do sistema Rh. Os linfócitos B remanescentes, produzem autoanticorpos afim de reconhecer os antígenos apresentados pelos linfócitos B neoplásicos, resultando, então, em uma desordem autoimune. A consequência desta desordem é o ataque de autoanticorpos contra hemácias próprias, o que gera um quadro de hemólise



Fonte: Modificado de (D'ARENA, CASCAVILLA, 2007)

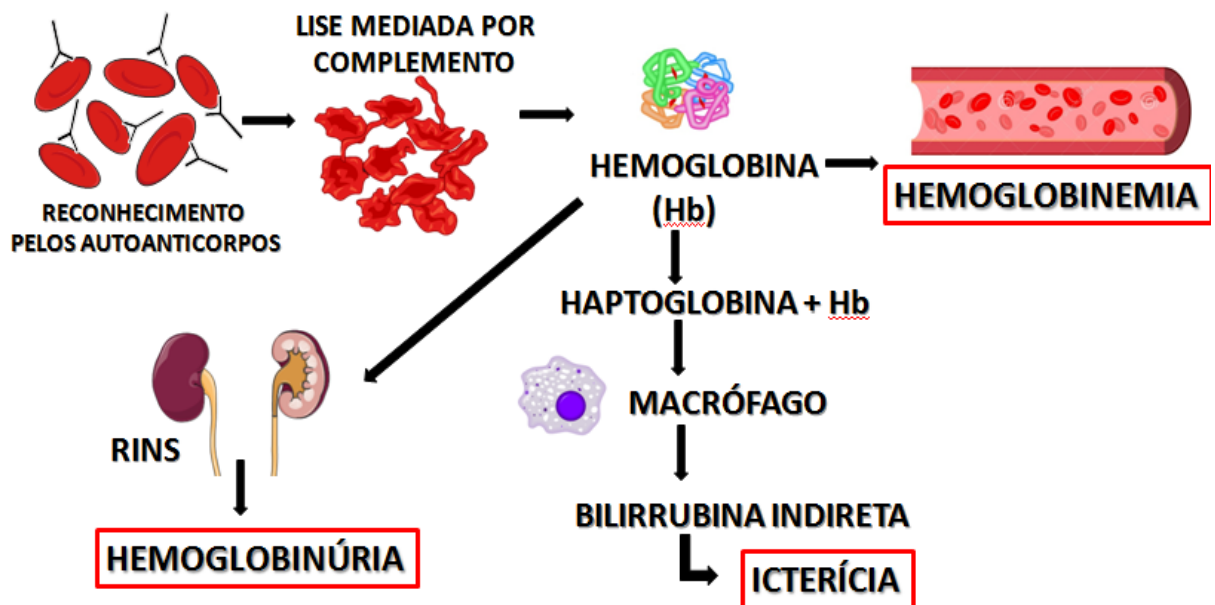
5.3 Fisiopatologia

A hemólise causada em doenças hematológicas e não hematológicas, caracterizada pela destruição precoce dos eritrócitos, pode ser distinguida em hemólise intravascular, em que os eritrócitos são destruídos dentro da circulação, e hemólise extravascular, em que os eritrócitos são fagocitados pelo sistema fagocítico mononuclear e acontece primeiramente no baço, fígado e medula óssea (GUALANDRO, 2013; MEULENBROEK; WOUTERS; ZEERLEDER, 2014; RAPIDO, 2017).

A formação de anticorpos dependentes de drogas envolve um processo de hemólise intravascular, diferentemente dos anticorpos independentes de droga, uma vez que há união da droga com a membrana eritrocitária e formação de imunocomplexos capazes de gerar resposta imune com a formação de IgG que reagem contra os eritrócitos, onde estão presentes os imunocomplexos, o qual é subsequentemente removido pelos macrófagos no baço. Uma vez o eritrócito destruído, iniciam-se as respostas fisiopatológicas agudas à exposição de hemoglobina extracelular no plasma, ou seja, inicia-se um processo chamado de hemólise intravascular aguda (FIGURA 14) (PETROIANU, 2011; RAPIDO, 2017; TASCH; GONZALEZ-ZAYAZ, 2017).

Uma das respostas é o aumento da pressão arterial e toxicidade pró-oxidativa ocorrendo em tecidos vasculares e renais. Além disso, durante a hemólise intravascular, alguns compostos tóxicos encontrados dentro dos eritrócitos, como por exemplo a hemoglobina que é responsável por diversos efeitos adversos como disfunção vascular, lesão e inflamação, são liberados na circulação e pode ser eventualmente liberada na urina (hemoglobinúria). Para limitar a toxicidade do conteúdo dos eritrócitos, proteínas plasmáticas solúveis são importantes, sendo que a haptoglobina e a hemopexina são consideradas as mais importantes. A haptoglobina se liga irreversivelmente à hemoglobina liberada, sendo rapidamente eliminada da circulação e degradada no fígado, fazendo com que tenha uma redução na haptoglobina plasmática (GUALANDRO, 2013; RAPIDO, 2017).

Figura 14 – Hemólise Intravascular: a lise da hemácia resulta em liberação dos seus compostos na circulação, como por exemplo a hemoglobina. A hemoglobina em sua forma livre, pode ser eventualmente filtrada pelos rins, sendo liberada na urina, caracterizando um quadro de hemoglobinúria. Além disso, pode se ligar a haptoglobina, uma proteína plasmática que tem como função limitar os efeitos tóxicos causados pela hemoglobina livre no plasma, formando o complexo haptoglobina – hemoglobina. Este complexo é captado por macrófagos e hepatócitos, o que resulta na degradação da hemoglobina dentro dessas células, liberando protoporfirina e consequentemente a bilirrubina indireta. Quando os níveis plasmáticos de bilirrubina aumentam, caracteriza um quadro chamado de icterícia. A hemoglobina livre no plasma pode gerar quadros de hemoglobinemia.



Fonte: Baseado em (RAPIDO, 2017)

Durante a hemólise intravascular, a hemoglobina circula em sua forma livre e pode reagir mais rapidamente com o óxido nítrico, gerando reações que resultam na potencial inibição da vasodilatação não dependente *in vivo*, o que gera uma vasoconstrição abrupta, e por este motivo o paciente tem uma elevação na pressão arterial (RAPIDO, 2017).

Além da hemoglobina, o grupo heme também é liberado na circulação sanguínea, sendo este capaz de causar um consumo de óxido nítrico e consequente vasoconstrição, como também aumenta a expressão de moléculas de adesão e ativação endotelial, colaborando para o recrutamento de moléculas inflamatórias como macrófagos e neutrófilos para o pulmão, processo que induz a ativação de inflamação e trombose, bem como agregação de plaquetas e oxidação da lipoproteína de baixa densidade (RAPIDO, 2017).

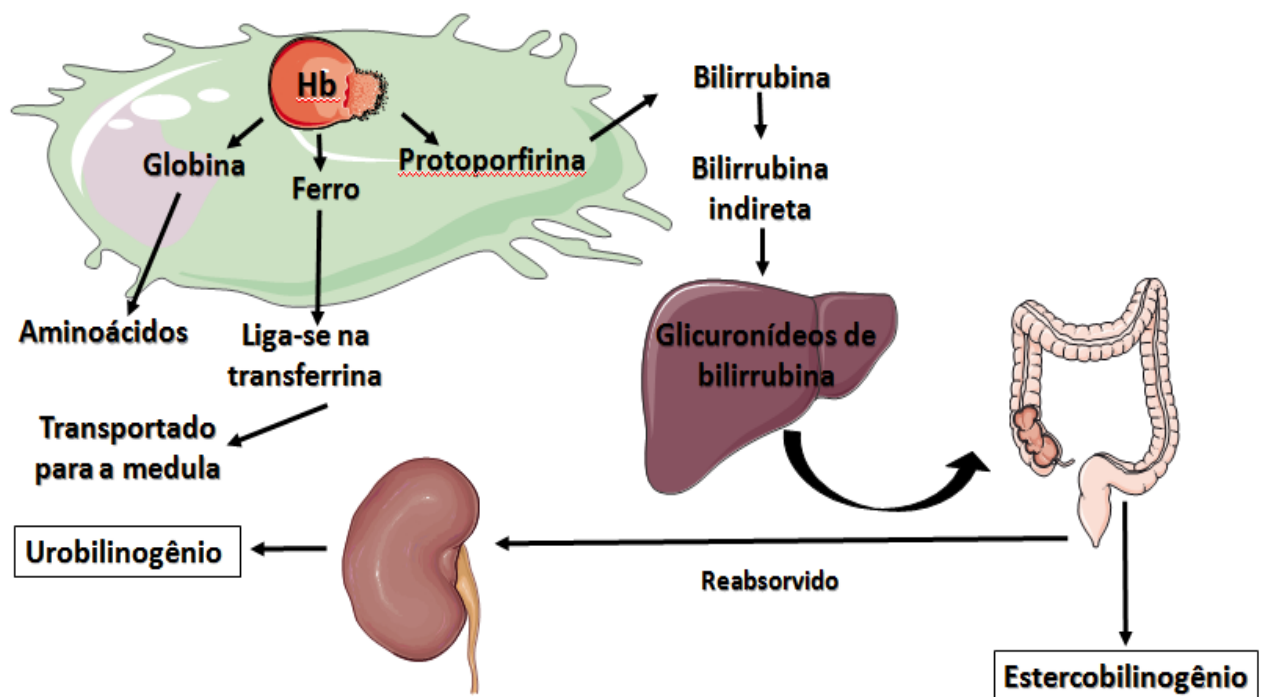
Portanto, durante a hemólise intravascular, hemoglobina plasmática e grupo heme descompartimentados podem prejudicar a sinalização do óxido nítrico, diminuindo sua biodisponibilidade e produzindo instabilidade vasomotora, além de disfunção endotelial e vasoconstrição sistêmica, resultando em um aumento da resistência vascular sistêmica e diminuição do fornecimento de oxigênio pelo sangue para os órgãos, como os rins (RAPIDO, 2017).

Diferente dos casos de AHAIDI droga dependente, a maioria dos casos de AHAIDI droga independente é associada a hemólise extravascular, além de anemia grave, febre e icterícia. A hemólise extravascular é caracterizada por ocorrer a eliminação de eritrócitos senescentes circulantes que exibem marcadores de superfície e que precisam ser removidas da circulação, ou seja, no caso da AHAIDI anticorpo droga independente, há ligação do anticorpo contra a droga presente no eritrócito na presença ou ausência da droga em questão (RAPIDO, 2017; TASCH; GONZALEZ-ZAYAZ, 2017).

Na hemólise extravascular (FIGURA 15), o conteúdo interno do eritrócito não é encontrado no plasma, pois a célula lisada é fagocitada pelos macrófagos e permanece dentro deles, sendo que o produto de degradação desse processo é recuperado e reciclado. O ferro, derivado da hemoglobina, é armazenado intracelularmente em depósitos de ferritina ou retorna ao plasma para se ligar a transferrina, podendo ser transportado para a medula e ser utilizado na eritropoese. Porém, ainda assim há um aumento na concentração de ferro livre no baço, o que pode resultar em esplenomegalia (PETROIANU, 2011; GUALANDRO, 2013; RAPIDO, 2017).

A hemólise extravascular também é caracterizada pelo aumento da bilirrubina sérica. Devida a uma hemólise intensa, como consequência do catabolismo aumentado do heme, porção não proteica da hemoglobina, a quantidade de bilirrubina produzida aumenta e leva ao aumento da bilirrubina não conjugada (indireta) no plasma, manifestando-se clinicamente como icterícia (GUALANDRO, 2013).

Figura 15 – Hemólise Extravascular: Os eritrócitos são fagocitados pelos macrófagos e seus conteúdos internos são recuperados e reciclados. A globina é utilizada na síntese de aminoácidos. O ferro pode ser utilizado na eritropoese. A protoporfirina é degradada em bilirrubina, que por sua vez é degradada em bilirrubina indireta e quando aumentada, assim como na hemólise intravascular, gera um quadro de icterícia. Além disso, a bilirrubina indireta pode ser conjugada no fígado com o ácido glicurônico, formando glicuronídeos de bilirrubina. Este pode ser absorvido no intestino e ser eliminado na forma de estercobilinogênio. Quando reabsorvido, é filtrado pelos rins e é eliminado juntamente com a urina na forma de urobilinogênio.



Fonte: Baseado em (RAPIDO, 2017)

5.4 Diagnóstico Clínico das Anemias Hemolíticas Autoimunes

As alterações clínicas observadas no paciente com AHAI, bem como os doentes com AHAI/DI droga independente, são, na maioria das vezes, manifestações inespecíficas de anemia, como por exemplo, cansaço fácil, palidez, icterícia, mal estar e febre branda (AGARWAL, 1998; CANÇADO et al., 2005; GO, 2017).

Ainda assim, em casos em que há doença de base como causa desencadeante da AHAI, pode ocorrer concomitância desses sinais com sintomas inespecíficos. Além disso, existem casos em que a hemólise é assintomática, sendo diagnosticada apenas

por exames laboratoriais ocasionais. Para obter um diagnóstico correto, é necessária uma avaliação completa do paciente, levando em consideração a história clínica, exame físico completo, uma vez que estes podem ser sinais indicativos de anemia (QUADRO 3) (AGARWAL, 1998; GURPREET; CORNETT; TIERNEY, 2004; CANÇADO et al., 2005; GO, 2017).

Quadro 3 - Pontos críticos a serem investigados na anemia

História Clínica	Exame Físico
Histórico Familiar de Anemia	Icterícia
Raça	Palidez
Início Agudo/Crônico	Petéquias
Hemorragia – urina, fezes, gástrica, pulmonar	Temperatura
Infecções	Taquicardia/Hipotensão Arterial
Urina escura (hemoglobinúria)	
Consumo de álcool e hábitos alimentares	
Uso de drogas, hábitos medicamentosos	
Transfusões anteriores	

FONTE: Modificado de (LAMBERT, BERIS, 2009)

Para uma boa investigação etiológica, o estudo das anemias deve ser direcionado por meio da realização de um hemograma completo, contagem de reticulócitos e esfregaço de sangue. De acordo com os dados obtidos a partir da triagem descrita acima, serão necessários exames mais específicos, como os laboratoriais ou de outro tipo, para determinar a causa da anemia (GURPREET; CORNETT; TIERNEY, 2004; LAMBERT; BERIS, 2009).

Em casos de deficiência nutricional, causa mais comum de anemia, é imprescindível o questionamento sobre hábitos alimentares e ingestão diária de bebida alcoólica. Além disso, é importante levar em consideração a história social, uma vez que toxicodependentes que consomem drogas injetáveis podem ter doenças virais, como infecção por vírus da imunodeficiência humana e/ou da hepatite C podem estar associados à anemia, e a história ocupacional, já que a exposição a agentes tóxicos, como por exemplo o chumbo, pode comprometer o funcionamento normal da

medula, podendo resultar em anemia. Conhecer os hábitos medicamentosos do paciente no caso de AHAIDI droga independente se torna essencial para um diagnóstico efetivo (GURPREET; CORNETT; TIERNEY, 2004; LAMBERT; BERIS, 2009).

5.5 Diagnóstico Laboratorial das Anemias Hemolíticas Autoimunes

Para determinar o diagnóstico de um tipo de anemia, é necessária uma investigação minuciosa para, primeiramente, diferenciar os tipos de anemia. Sendo assim, geralmente o primeiro alerta vem de exames laboratoriais básicos, como por exemplo o hemograma, o qual indica a concentração de hemoglobina e hematócrito, parâmetros laboratoriais iniciais e essenciais para determinação de um quadro anêmico (LAMBERT; BERIS, 2009; MARTINS, 2014).

A contagem de reticulócitos também se torna importante, visto que é um parâmetro preciso e que reflete o estado da eritropoese (processo de formação dos eritrócitos), podendo indicar uma anemia hemorrágica aguda ou um tipo de anemia regenerativa (hemolítica). Por meio deste parâmetro, é possível verificar se há uma resposta compensatória da medula óssea à anemia, com aumento da produção de eritrócitos (regenerativas) ou se a anemia é secundária a um déficit na produção de eritrócitos (arregenerativas) (LAMBERT; BERIS, 2009; MARKS; GLADER, 2009).

O VCM é outro parâmetro laboratorial de grande importância na investigação e no diagnóstico diferencial das anemias, correspondendo ao tamanho médio das hemácias, que se avaliado em conjunto com a Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) e RDW (*red cell distribution width* - largura da distribuição das células vermelhas), o qual indica a variação de tamanho dos eritrócitos, auxilia no diagnóstico diferencial direcionando para os seguintes passos da investigação, podendo sugerir anemia megaloblástica (deficiência de vitamina B12) e anemia por carência de ferro, nutrientes importantes na eritropoese (LAMBERT; BERIS, 2009).

O exame do esfregaço sanguíneo é um dos exames mais informativos no diagnóstico de anemia e tem especial importância na suspeita de anemias hemolíticas, o qual revelará microesferócitos e eritroblastos, evidenciando um quadro de policromasia. Além disso, permite visualizar outras linhas celulares, como por

exemplo a presença de leucócitos, podendo informar sobre a presença de uma doença primária na medula óssea, de doenças infiltrativas ou infecciosas. Em alguns casos, as alterações no esfregaço podem surgir antes de se refletirem no hemograma, alterando o valor da concentração de hemoglobina ou do VCM (MARTINS, 2014).

As anemias hemolíticas fazem parte das anemias regenerativas e devido a não compensação da medula em relação a hemólise, há o aparecimento de reticulócitos no esfregaço de sangue e, conseqüentemente, policromasia. Geralmente as hereditárias resultam em defeitos de membrana do eritrócito e pode ser dividida em: defeitos de membrana dos eritrócitos (como por exemplo a esferocitose e eliptocitose hereditárias, no qual serão vistos no esfregaço sanguíneo a presença de esferócitos e eliptócitos, respectivamente), hemoglobinopatias (como células falciformes, em que serão vistos eritrócitos em formato de foice e talassemias, sendo evidenciado microcitose e hipocromia) e enzimopatias (como deficiência de glicose-6-fosfato, no qual o diagnóstico será confirmado o pela presença do Corpúsculo de Heinz no esfregaço de sangue) (BOLTON-MAGGS, 2012; MARILYN, 2009; CORRONS, 2009; HOFFBRAND et al., 2010; BAIN, 2011).

As adquiridas podem ter diferentes etiologias, como secundárias a agentes físicos e químicos, infecções e de caráter imune. Nas imunes geralmente a TAD é caracteristicamente positivo. A partir de então, as AHAI devem ser diferenciadas entre si de acordo com o hemograma, testes imuno-hematológicos (QUADRO 4), exames bioquímicos, além de outros métodos diagnósticos, como por exemplo o teste imunoenzimático (LAMBERT; BERIS, 2009; MARKS, GLADER, 2009; HOFFBRAND et al., 2010; CANÇADO, 2012).

Quadro 4 - Resultados típicos de testes imuno-hematológicos na diferenciação das anemias hemolíticas imunes.

	Resultado do TAD	Classe da Imunoglobulina	Anticorpo Específico
ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE			
AHAI a quente	IgG, C3 ou ambos	IgG	Variável, frequentemente Rh
AHAI a frio	C3	IgM	Anti-I ou Anti-i
AHAI mista	IgG + C3	IgG quente + IgM frio	Igual AHAI a quente + AHAI a frio
Hemoglobinúria Paroxística a Frio	C3	IgG	Anti-P

Quadro 4 - Resultados típicos de testes imuno-hematológicos na diferenciação das anemias hemolíticas imunes

ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE DROGA INDUZIDA			
Anticorpo droga dependente	IgG, C3 ou ambos	IgG, IgM ou ambos	Variável
Anticorpo droga independente	IgG ± C3	IgG	Variável
ANEMIA HEMOLÍTICA ALOIMUNE			
Reação Tranfusional	IgG ± C3	IgG, IgM ou ambos	Variável
Doença Hemolítica do Recém-Nascido	IgG	IgG	Comumente Anti-D, Anti-K e Anti-c

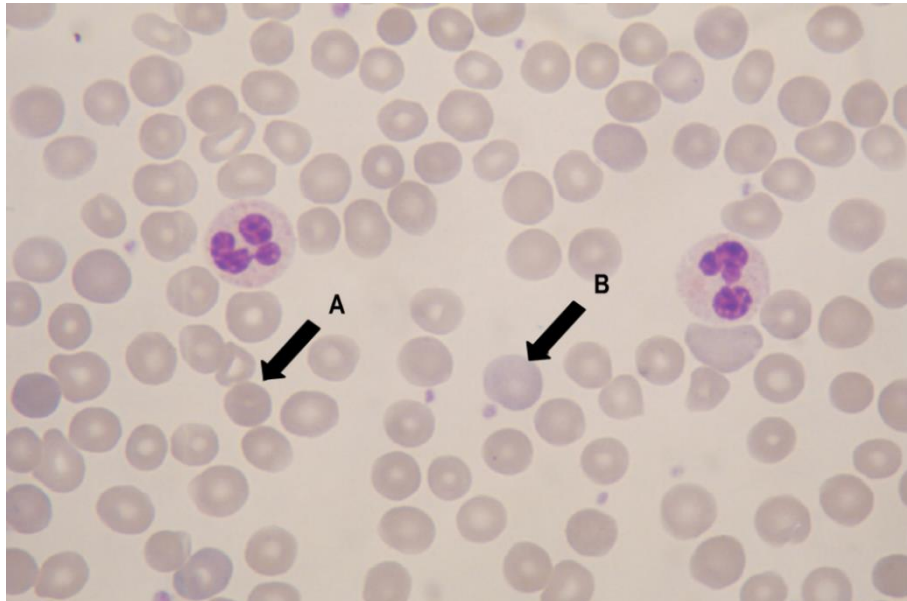
Fonte: (PARKER; TORMEY, 2017)

5.4.1 Hemograma

Para diagnóstico laboratorial da AHAI, a avaliação do hemograma é essencial, porém não define o diagnóstico. Os achados laboratoriais podem incluir anemia de variada intensidade, desde leve à grave, reticulocitose (10-30%) e um VCM que pode estar dentro dos valores de referência (normocítica) ou aumentado (macrocítica). O hemograma pode indicar somente a anemia, ou bicitopenia (diminuição de duas séries sanguínea), ou então pancitopenia (diminuição de todas as séries sanguíneas). O esfregaço de sangue periférico pode evidenciar a presença de microesferócitos (RAPAPORT, 1990).

No esfregaço sanguíneo de pacientes com AHAI é possível observar policromasia, condição na qual os eritrócitos se apresentam na cor azul-acinzentado quando vistos em microscópio e ocorre quando há liberação de eritrócitos imaturos pela medula óssea, podendo ser denominados de reticulócitos. Uma característica visível e importante para diferenciação de diagnóstico da AHAI de outras formas de anemia é a presença de esferócitos (FIGURA 16), em que frequentemente são vistos nos esfregaços. Leucocitose com neutrofilia é uma condição típica e ocorre pela hiperestimulação da medula óssea durante forte resposta eritróide regenerativa (BELLANTI, 1980; PACKMAN, 2015).

Figura 16 - Esfregaço sanguíneo evidenciando esferócitos e policromasia



Legenda: A – Esferócito; B – Policromasia

Fonte: (GUALANDRO, 2013)

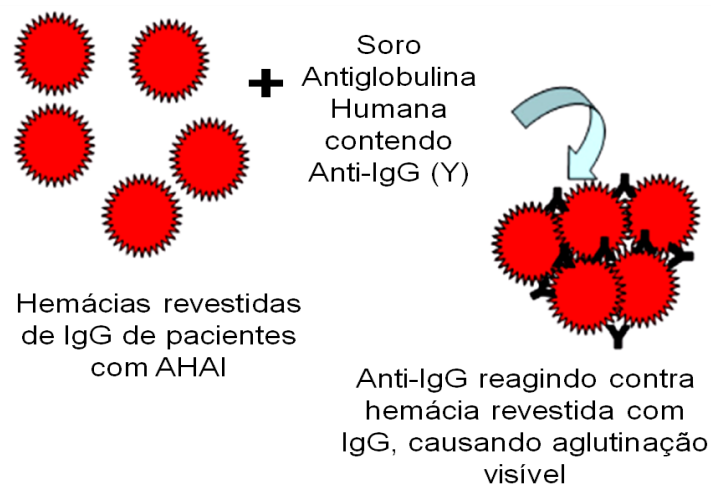
A avaliação do hemograma também pode auxiliar na identificação dos tipos de AHAI. Os pacientes com AHAI a quente, geralmente apresentam níveis de hematócrito inferiores a 10%, porém podem também ter anemia hemolítica compensada e hematócrito quase normal. Ocasionalmente, é possível ter leucopenia ou neutropenia evidente e trombocitopenia imune, uma condição determinada como Síndrome de Evans. Normalmente, a contagem de plaquetas se encontra dentro dos valores de referência. Os pacientes com hemoglobinúria paroxística a frio, apresentam rápida queda no hematócrito durante o paroxismo, além de uma leucopenia ser detectada logo no começo do paroxismo, seguida de leucocitose. Os achados hematológicos na AHAI droga induzida são semelhantes aos encontrados na AHAI a quente, porém pode ser tão grave como os observados na hemoglobinúria paroxística a frio, dependendo do mecanismo imune induzido pelo fármaco (PACKMAN, 2015).

A hemoglobina, principal parâmetro que define um quadro de anemia, indica a gravidade clínica da hemólise. Seus níveis podem ser próximos aos valores de referência em formas leves ($Hb > 10 \text{ g / dL}$), moderado ($Hb 8-10 \text{ g / dL}$), grave ($Hb 6-8 \text{ g / dL}$) e muito grave ($Hb 6 \text{ g / dL}$). Por outro lado, a avaliação clínica e laboratorial é recomendável para um diagnóstico correto e tratamento terapêutico das diferentes condições hemolíticas (BARCELLINI; FATTIZZO, 2015).

5.4.2 Perfil Imuno-Hematológico

Apesar dos avanços na medicina transfusional, o teste imuno-hematológico simples, como o teste direto de antiglobulina (TAD) (FIGURA 17), continua sendo a marca diagnóstica da AHAI. Este teste baseia-se na detecção de anticorpos ligados à superfície das hemácias com presença de hemólise. Os anticorpos “imunes”, quando em contato com hemácias que tenham o antígeno correspondente, fixam-se na membrana, bloqueando o antígeno. Entretanto, não tem a capacidade de aglutinar estas hemácias. Por isso, o soro de Coombs (soro antiglobulina humana) deve ser adicionado à reação, pois é capaz de promover a aglutinação dessas hemácias sensibilizadas pelo autoanticorpo. Para interpretação do TAD, quando não houver aglutinação, este é negativo. Caso tenha a presença de aglutinação (1+ a 4+), o TAD é positivo (FIGURA 18) (VERRASTO; LORENZI; NETO, 1996; CHAUDHARY; DAS, 2014; COMPANYY et al., 2017).

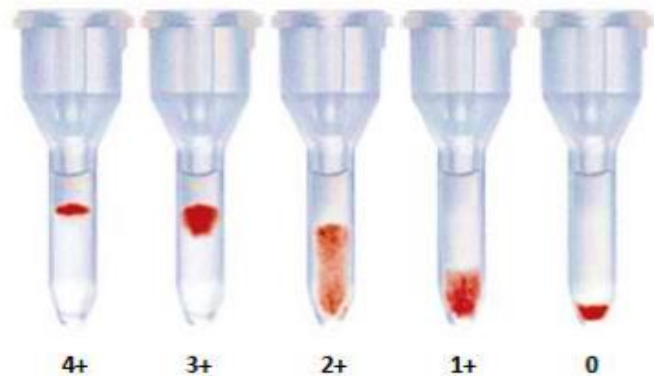
Figura 17 - Mecanismo de Teste Direto de Antiglobulina



Fonte: Modificado de (PACKMAN, 2008)

Uma desvantagem deste método é que ele apresenta sensibilidade limitada, pois é positivo apenas quando o número de moléculas IgG por glóbulo vermelho é superior a 200 (CHAUDHARY; DAS, 2014; COMPANYY et al., 2017). Por outro lado, uma vantagem é que o TAD é positivo em 98% dos casos de AHAI por IgG e será positivo na presença de qualquer IgG ligado às hemácia. Sendo assim, pode ser utilizado na finalização do diagnóstico de AHAI (BELLANTI, 1980; HOFFBRAND; PETTIT, 1988).

Figura 18 - Interpretação de Aglutinação em Gel



FONTE: Modificado de (SCHÖRNER, 2012)

Outro teste feito para verificar a presença de Anemia Hemolítica Autoimune droga induzida é por meio do tratamento de hemácias na presença da droga. Para uma confirmação confiável de AHAI mediada por anticorpos dependentes de droga e diferenciação no diagnóstico de AHAI a quente, é necessário testar o soro do paciente após a cessação e remoção do fármaco circulante ou complexo fármaco-anticorpo, indicados por uma clara diminuição da reatividade sorológica (JOHNSON; FUEGER; GOTTSCHALI, 2007; PIERCE; NESTER, 2011).

5.4.3 Bioquímica

Há diversos marcadores que podem orientar o médico para o diagnóstico diferencial das anemias, bem como monitorar o tratamento. Geralmente, pacientes em condições de hemólise, apresentam aumento de reticulócitos, indicando uma resposta compensatória da medula, lactato desidrogenase elevado, uma vez que esta enzima é encontrada no interior das hemácias, e é utilizada no processo de fermentação, podendo ser utilizada como marcador de hemólise intravascular, redução significativa da haptoglobina, a quem se liga a hemoglobina livre e na presença de hemólise ativa, a velocidade de destruição da haptoglobina excede a velocidade de formação de novas moléculas e conseqüentemente sua concentração diminui no sangue, isto porque depois que a haptoglobina se liga à hemoglobina, a qual aumenta sua concentração na condição de hemólise, são captadas pelo fígado e ocorre a reciclagem do ferro, do grupo heme e dos aminoácidos contidos na

hemoglobina. Além disso, há o aumento da bilirrubina não conjugada, devido ao aumento do catabolismo da hemoglobina, sendo que o teste direto de antiglobulina é o marcador para anemias autoimunes e o exame de esfregaço de sangue é essencial no diagnóstico de defeitos de membrana congênita (BARCELLINI; FATTIZZO, 2015).

O aumento da lactato desidrogenase e hemosiderinúria ocorre devido a quantidade superior de hemoglobina liberada na corrente sanguínea em relação a capacidade de se ligar a haptoglobina, tendo o excesso filtrado pelo rim e reabsorvido no túbulo renal proximal, local onde a porção de ferro é removida e armazenada como ferritina ou hemosiderina e são dados bioquímicos típico de indicadores de hemólise intravascular, como pode ser observado na hemoglobinúria paroxística noturna. A hiperferritinemia pode indicar uma hemólise crônica, e este aumento ocorre de acordo com a hipótese de que o ferro produzido por eritropoese ineficaz e hemólise extravascular não é facilmente eliminada e a própria anemia é um poderoso estímulo para a absorção de ferro no intestino (BARCELLINI; FATTIZZO, 2015).

5.4.5 Outros Métodos Diagnóstico Laboratorial

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 imunoenzimático e citometria de fluxo (OLIVEIRA et al., 2006; BRAGA et al., 1998; ZEERLEDER, 2011).

5.6 Diagnóstico

Na hipótese de AHAI, é necessário fazer uma investigação laboratorial para a confirmação do tipo da anemia, uma vez que este processo imunológico é essencialmente idêntico à AHAI. Caso o diagnóstico for confirmado, é necessário descobrir qual é o mecanismo (adsorção da droga, complexo imune ou autoanticorpos). Utilizando apenas testes in vitro não será suficiente para distinguir a AHAI da AHAI a quente, então é preciso apresentar TAD positivo, que é o achado mais confiável para o diagnóstico, teste de anticorpos positivo e uma eluição. A única confirmação confiável para diferenciação requer o teste do soro do paciente após interrupção da administração do fármaco e remoção de qualquer medicamento circulante ou complexos fármaco-anticorpo, indicados por uma clara diminuição na reatividade sorológica (PIERCE; NESTER, 2011).

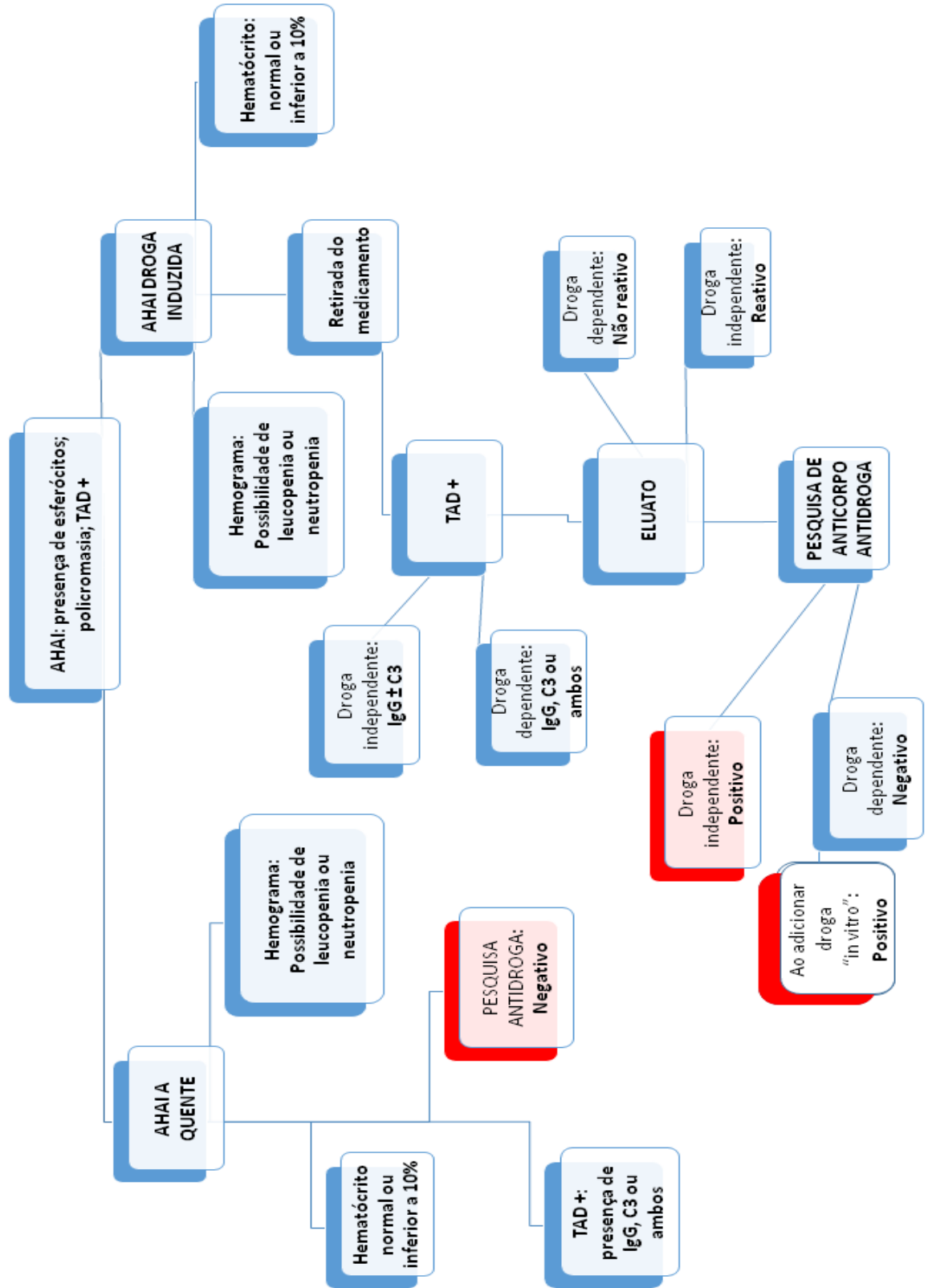
Se o TAD for negativo, a probabilidade de AHAI é extremamente pequena. Seguindo o TAD positivo, realiza-se uma eluição para caracterizar o anticorpo que recobre os eritrócitos do paciente. As hemácias são lavadas retirando os anticorpos não ligados, seguido por modificação química para remover os anticorpos. O eluato é resultante de ensaios contra os reagentes de eritrócitos (PIERCE; NESTER, 2011; SARTORI; STALEY; SKIPPER, 2014).

A formação de anticorpos independentes de fármacos imita um autoanticorpo verdadeiro e pode ser diagnosticado sem a presença *in vitro* do medicamento. Distinguir um anticorpo dependente de droga e independente é difícil, podendo levar em consideração a cessação da droga em questão. O resultado de reatividade do eluato a partir de uma eluição ácida pode indicar a formação de anticorpos dependentes de droga ou independente, sendo que em anticorpos dependentes de droga o eluato será caracteristicamente não reativo devido à ausência do fármaco, enquanto que um anticorpo independente de fármaco ainda será reativo (SARTORI; STALEY; SKIPPER, 2014).

Entretanto, se os achados clínicos e hematológicos sugerirem fortemente AHAI, mas nenhum anticorpo for detectado, há a probabilidade de confirmação do diagnóstico testando o soro do paciente, que esteja administrando fármaco, com metabolitos de droga e os anticorpos reagirão com estes metabolitos, mas não o medicamento original (GARRATY, 2009).

De acordo com o fluxograma 5, a maior dificuldade no diagnóstico da AHAI droga independente, é a semelhança com a AHAI a quente. Por isso, é necessário realizar a pesquisa de anticorpo antidroga para uma conclusão diagnóstica. Além disso, a história clínica do paciente é um fator importante e guiará o médico na descoberta da AHAI droga dependente, uma vez que só a realização da pesquisa de anticorpo antidroga não será suficiente, considerando que após a retirada do fármaco, a pesquisa será negativa, sendo necessária a adição dos metabolitos da droga *in vitro* para que haja a reação do anticorpo contra os metabolitos, o que resultará em positividade da pesquisa de anticorpo antidroga. Assim, será possível diferenciar a AHAI droga dependente da AHAI a quente.

Fluxograma 5 – Diferenciação diagnóstica entre AHAI/ I droga independente, droga dependente e AHAI a quente



5.7 Tratamento

Uma vez diagnosticado um quadro de anemia induzido por droga, a retirada do fármaco pode cessar a anemia e é usualmente suficiente para assegurar o término da hemólise, desde que não existam outras causas subjacentes de anemia, sendo que o TAD se negativará a partir dos 3 meses após a retirada do fármaco. Ainda assim, muitas vezes a anemia hemolítica autoimune subjacente é exarcebada por um autoanticorpo induzido por drogas. Considerando-se esse fato, a retirada da droga irá diminuir, mas não cessar o processo hemolítico (CANÇADO et al, 2005; SARTORI; STALEY; SKIPPER, 2014; TASCH; GONZALEZ-ZAYAZ, 2017).

Transfundir um paciente com um autoanticorpo quente pode acelerar grandemente a hemólise, não sendo recomendado esse tipo de terapia neste caso. No entanto, muitas vezes a transfusão é inevitável, ou seja, quando a hemoglobina do paciente se apresenta abaixo de 7g/dL (SARTORI; STALEY; SKIPPER, 2014).

Uma complicação adicional é a ligação não específica de autoanticorpos, o que pode mascarar a detecção de aloanticorpos clinicamente significativos, podendo positivar o TAD, sendo estes removidos no baço. Se a transfusão é necessária, devem ser feitos estudos de adsorção para detecção de qualquer aloanticorpo clinicamente significativos subjacentes (SARTORI; STALEY; SKIPPER, 2014).

Além da remoção da droga, dois tratamentos de droga são recomendados no tratamento de AHAI droga independente, como no tratamento para AHAI a quente: corticosteroides, geralmente prednisona, e imunoglobulina intravenosa. Os corticosteroides são utilizados para diminuir a quantidade de revestimento dos autoanticorpos na membrana eritrocitária, enquanto que a imunoglobulina age submergindo o sistema imunológico, abrandando ainda mais o processo hemolítico (SARTORI; STALEY; SKIPPER, 2014; TASCH; GONZALEZ-ZAYAZ, 2017).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A anemia hemolítica autoimune droga induzida é uma condição rara, com incidência de aproximadamente 1 caso por milhões de habitantes. Essa condição provém de um tratamento medicamentoso e pode estar associada a anticorpos independentes de droga ou dependentes. Hoje, são relatados mais de 130 medicamentos responsáveis por causar esse tipo de anemia associados aos dois tipos de anticorpos.

Quando se trata de uma AHAIID droga dependente, os anticorpos só reagem *in vitro* na presença da droga. Porém, quando o anticorpo for independente de droga, não é necessária a presença da droga para obter a reação *in vitro*, ou seja, reagem com o eritrócito na presença ou ausência do fármaco. Além disso, causam hemólise extravascular e não ativam complemento. Acredita-se que a formação desse autoanticorpo esteja associado ao consumo de carnes de animais que, quando vivos, foram expostos a antimicrobianos beta-lactâmicos ou qualquer outro medicamento que possa causar AHAIID, adicionados em sua ração. O ser humano, ao ingerir esta carne, é exposto ao medicamento, desencadeando uma resposta imune contra a droga. Também, há drogas que, por meio do seu mecanismo de ação, desencadeiam uma desordem autoimune favorecendo a formação de autoanticorpos, como por exemplo, a fludarabina.

Os sintomas clínicos da AHAIID anticorpo independente são manifestações inespecíficas de anemia, como por exemplo, cansaço, palidez, icterícia e mal estar. Para iniciar o processo de investigação do tipo de anemia, geralmente os exames laboratoriais são fundamentais e irão indicar e direcionar para um tipo de anemia.

Primeiramente, o hemograma evidenciará um valor de hemoglobina abaixo dos valores de referência e poderá indicar a gravidade clínica da hemólise. No caso de AHAIID, a contagem de reticulócitos é um ponto importante e reflete o estado da eritropoese. O esfregaço sanguíneo evidenciará a presença de microesferócitos e eritroblastos. Os parâmetros bioquímicos, como por exemplo, lactato desidrogenase, bilirrubinemia e haptoglobina irão indicar uma condição de hemólise, imune ou não. Se tratando dos exames imuno-hematológicos, o TAD será positivo e a eluição será positiva em casos de AHAIID droga independente, podendo ser um parâmetro de

diferenciação da AHAI de droga independente e dependente, uma vez que na AHAI independente a eluição ainda será positiva e na dependente, a eluição será caracteristicamente não reativa devido à ausência do fármaco.

A AHAI de droga independente segue os mesmos parâmetros diagnósticos da AHAI a quente, podendo ser muitas vezes indistinguíveis, o que resulta em um diagnóstico incorreto e, por consequência desse diagnóstico incorreto, há chances da AHAI de droga independente ser fatal. Por isso, é necessário diferenciar estes dois tipos de anemia. Geralmente o teste de pesquisa de anticorpo antidroga pode ser um diferencial, uma vez que na AHAI de droga independente será positivo e na AHAI a quente será negativo. Além disso, o sistema complemento também pode ser um parâmetro diferencial entre estes tipos de anemia, já que na AHAI de droga independente será negativo e na AHAI a quente será positivo.

Geralmente o tratamento indicado para a AHAI de droga independente é a retirada do fármaco em questão, o que irá resultar em uma diminuição do processo hemolítico em aproximadamente 2 semanas, porém o TAD positivo pode permanecer por semanas ou meses. Caso essa medida não seja possível, há duas outras medidas de tratamento: administração de corticosteroide e imunoglobulina intravenosa. Os corticosteroides irão reduzir a quantidade de autoanticorpos que revestem a membrana eritrocitária e a imunoglobulina intravenosa irá reduzir o processo hemolítico.

REFERÊNCIAS

AGARWAL, B. Autoimmune hemolytic anemia. **Indian Journal Pediatrics**, v. 65, n. 5, p. 663-668, mai. 1998.

ALVES, V. P. M. P et al. Anemia hemolítica autoimune induzida por ceftriaxona: relato de caso e breve revisão da literatura. **Rev Bras Clin Med**, São Paulo, v. 9, n. 4, p.311-315, jul. 2011. Disponível em: <<http://files.bvs.br/upload/S/1679-1010/2011/v9n4/a2192>> Acesso em: 20 abr.2017.

ANISH, T.; JAMES, B. R.; GRAZIANO, S. L. Methyldopa-induced autoimmune haemolytic anaemia revisited. **The New Zealand Medical Journal**, v. 122, n. 1301, p. 6-53, ago. 2009. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19829392>> Acesso em: 10 ago.2017

ARANDA, H. B.; ZEPEDA, M. C. R. Anemia Hemolítica Auto-Imune primária em ñinos. **Boletín Médico del Hospital Infantil de México**, v. 43, n. 1, p. 192, mai. 1986.

ARNDT P. A.; GARRATTY G. The changing spectrum of drug induced immune hemolytic anemia. **Semin Hematol**, Pomona, v. 42, n. 3, p. 137-144, jul. 2005. Disponível em: < [http://www.seminhematol.org/article/S0037-1963\(05\)00057-0/fulltext](http://www.seminhematol.org/article/S0037-1963(05)00057-0/fulltext)> Acesso em: 30 jul.2017.

ARNDT, P. A. Drug-induced immune hemolytic anemia: the last 30 years of changes. **Immunohematology**, v. 30, n.2, p. 44-54, set. 2014.

BAEK , S. W. et al. Clinical features and outcomes of autoimmune hemolytic anemia: a retrospective analysis of 32 cases. **Korean Journal of Hematology**, Daejeon v. 46, n. 2, p. 111-117, fev. 2011. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3128891/>> Acesso em: 25 mai.2017>

BAIN, B.J. Haemoglobinopathy diagnosis: algorithms, lessons and pitfalls. **Blood Reviews**, London, v. 25, n. 5, p. 205-213, set. 2011. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268960X11000336?via%3Dihub>> Acesso em: 10 fev.2017.

BARCELLINI, W.; FATTIZZO, B. Clinical Applications of Hemolytic Markers in the Differential Diagnosis and Management of Hemolytic Anemia. **Disease Markers**, Milano, v. 2015, p. 1-7, jun. 2015. Disponível em: < <https://www.hindawi.com/journals/dm/2015/635670/abs/>> Acesso em: 10 fev. 2017.

BATISTA, Malaquias Filho; SOUZA, Ariani Impieri; BRESANI, Cristiane Campello. Anemia como problema de saúde pública: uma realidade atual. **Ciênc. Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v.13, n.6, p.1917-1922, nov./dec. 2008. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232008000600027> Acesso em: 25 mai.2017.

BRAGA, Gisele Wally et al. Diagnóstico laboratorial da anemia hemolítica auto-imune: características do teste manual direto do Polybrene. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo, v.44, n.1, p.16-20, mar. 1998. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/ramb/v44n1/2003.pdf>> Acesso em: 10 fev.2017

BELLANTI, J. A. **Imunologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1980. 732 p.

BERENTSEN, S. Role of complement and potential new targets for therapy. **Transfusion Medicine and Hemotherapy**, Haugesund v. 42, n. 5, p. 303-310, set. 2015. Disponível em: < <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/363278/>> Acesso em: 2 jul.2017.

BOLTON-MAGGS, P. H., et al. Guidelines for the diagnosis and management of hereditary spherocytosis--2011 update. **British Journal of Haematology**, London, v. 156, n. 1, p. 37-49, jan. 2012. Disponível em < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2141.2011.08921.x/full>> Acesso em: 2 jul.2017.

BORDIN, J. O. Anemia hemolítica auto-imune e outras manifestações imunes da leucemia linfocítica crônica. **Rev. bras. hematol. hemoter.** São Paulo, v. 27, n. 4, p. 257- 262, dez. 2005. Disponível em < <http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v27n4/v27n4a08.pdf>> Acesso em: 10 ago.2017.

BORTHAKUR,G. et al. Immune leukemias in patients with chronic lymphocytic leukaemia treated with fludarabine, cyclophosphamide and rituximab: incidence and predictors. **British Journal of Haematology**, Houston, v. 136, n. 1, p. 800-805. 2007. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2141.2007.06513.x/full>> Acesso em: 15 set.2017.

BRAGA, J. A. R. Anemia Carencial: aspectos clínicos e laboratoriais. **Rev. LAES & HAES**, v. 95, n. 1, p. 45-56, jun/jul. 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas: anemia hemolítica auto-imune**. Brasília: Ministério da Saúde, 2010. 8 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas: anemia hemolítica autoimune**. Brasília: Ministério da Saúde, 2013. 19 p.

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, set. 2005. Disponível em: <http://www.fcmsantacasasp.edu.br/images/Arquivos_medicos/2005/50_2/vlm50n2_4.pdf> Acesso em: 15 set. 2017.

CANÇADO, R. D. Anemia: winning elbow room in the field of hematology and hemotherapy. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter**, São Paulo, v. 34, n. 4, p. 251-253, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3460392/>> Acesso em: 20 jun. 2017.

CHAUDHARY, R.K; DAS, S. S. Autoimmune hemolytic anemia: From lab to bedside. **Asian J Transfus Sci**, Uttar Pradesh, v.8, p. 5-12, jan, 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3943148/>>. Acesso em: 05 abril, 2017.

COMPANY, A. H. et al. Warm autoimmune hemolytic anemia: experience from a single referral center in Mexico City. **Blood Research**, Mexico City, v. 52, n.1, p. 44-49, mar. 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5383587/>> Acesso em: 15 jul. 2017.

CHATURAKA, R.; SENAKA, R.; LALLINDRA, G. Rituximab in the treatment of autoimmune haemolytic anaemia. **British Journal of Clinical Pharmacology**, Colombo, v.79, n.5, p. 709-719, abr. 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4415708/>> Acesso em: 30 set. 2017.

CORRONS, J. L. V. Red blood cell enzyme defects [internet]. Handbook on Disorders of Iron Metabolism. European School of Haematology, 2009 [citado 2017 agos 18]. Disponível em: <http://www.esh.org/esh-handbook-on-disorders-of-iron-metabolism-2009/>.

COTIAS, P. M. T. **Anemias hemolíticas induzidas por medicamentos – ahim e suas implicações na hemoterapia clínica**. [Rio de Janeiro]: Agência Transfusional do IPEC/FIOCRUZ, 2010. 4 p. Disponível em: <www.controllab.com.br/pdf/controllab_tc_ih_ahim_anemia_201002.pdf>. Acesso em: 24 nov. 2016.

DE LA CRUZ, A. et al. Fludarabine Inhibits Kv1.3 Currents in Human B Lymphocytes. **Frontiers in Pharmacology**, Madrid, v. 177, n. 8, p. 1-8, mar. 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5374215/>> Acesso em: 20 jul. 2017.

D'ARENA, G., CASCAVILLA, N. Chronic lymphocytic leukemia-associated autoimmune hemolytic anemia. **Leukemia & Lymphoma**, v. 48, n. 6, p. 1072-1080, jun. 2007.

FAILACE, Renato. **Hemograma**: manual de interpretação. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 424 p.

FERREIRA, A. L. et al. Alterações hematológicas induzidas por medicamentos convencionais e alternativos. **Revista Brasileira de Farmácia**, Belo Horizonte, v. 94, n.2, p.94-101, abr. 2013. Disponível em: <<http://www.rbfarma.org.br/files/rbf-94-2-2-2013.pdf>> Acesso em: 10 jun.2017.

GABE, E. et al. Estudo da Anemia imune hemolítica induzida na vigilância do caso-controle de Berlim. **Br J Haematol**, v. 154, n.1, p. 644-653, fev. 2011.

GARRATTY, G. Immune hemolytic anemia caused by drugs. **Expert Opin Drug Safety**, Pomona, v. 11, n. 2, p. 635-642, fev. 2012. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22502777>> Acesso em: 1 ago.2017.

GARRATTY, G.; ARNDT, P. A. An update on drug-induced immune hemolytic anemia. **Immunohematology**, Pomona, v. 23, n. 3, p. 105-119. 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18284300>> Acesso em: 5 jul. 2017.

GARRATTY, G. Drug-induced immune hemolytic anemia. **Hematology**, Pomona, v. 2009, n. 1, p.73-79, jan. 2009. Disponível em: <<http://asheducationbook.hematologylibrary.org/content/2009/1/73.long>> Acesso em: 25 mai.2017.

GARRATTY, G. Immune hemolytic anemia associated with drug therapy. **Blood Reviews**, Pomona, v.24, p. 143-150, jun. 2010. Disponível em: <[http://www.bloodreviews.com/article/S0268-960X\(10\)00027-5/fulltext](http://www.bloodreviews.com/article/S0268-960X(10)00027-5/fulltext)> Acesso em: 10 abr.2017.

GARRATTY, G. Review: drug-induced immune hemolytic anemia – the last decade. **Immunohematology**, Los Angeles, v. 20, n. 3, p. 138-142, mar. 2004. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15373645>>. Acesso em: 4 mar. 2017.

GARRATTY, G. The James Blundell Award Lecture 2007: do we really understand immune red cell destruction?. **Transfusion Medicine**, Pomona, v. 18, n. 6, p.321-340, dez. 2008. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-3148.2008.00891.x/full>> Acesso em: 15 jun. 2017.

GERHS, B. C.; FRIEDBERG, R. C. Autoimmune hemolytic anemia. **American Journal of Hematology**, Springfield, v. 69, n. 4, p. 71-85, abr. 2002. Disponível em:< <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ajh.10062/epdf>> Acesso em: 10 fev.2017.

GIRELLO, Ana Lúcia; KÜHN, Telma Ingrid B. de Bellis. **Fundamentos da imunohematologia eritrocitária**. 4. ed. São Paulo: Editora Senac, 2002. 328 p.

GO, Ronald S.; WINTERS, Jeffrey L.; KAY, Neil E. How I treat autoimmune hemolytic anemia. **Blood Journal**, Minnesota, v. 116, n. 11, p. 1-32, mar. 2017. Disponível em:< <http://www.bloodjournal.org/content/early/2017/03/30/blood-2016-11-693689/tab-article-info>> Acesso em: 15 mar.2017.

GUALANDRO, S. F. M. Análise do exame hematológico: alterações dos eritrócitos. In: ZAGO, Marco A.; FALCÃO, Roberto P.; PASQUINI, Ricardo. **Tratado de hematologia**. São Paulo: Atheneu, 2013. cap. 84, p. 833-840.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: Importância Terapêutica e Perspectivas para a Descoberta e Desenvolvimento de Novos Agentes. **Quim. Nova**, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 667-679, abri. 2010. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422010000300035> Acesso em: 10 set.2017.

GURPREET, M. D. D.; CORNETT, P. A.; TIERNEY, L. M. Hemolytic Anemia. **American Family Physician**, San Francisco, v. 69, n. 11, p. 2599-2606, jun. 2004. Disponível em:< <http://www.aafp.org/afp/2004/0601/p2599.html>> Acesso em: 1 fev.2017.

HALL, A. W., et al. Rh autoantigen presentation to helper T cells in chronic lymphocytic leukemia by malignant B cells. **Blood**, Foresterhill, v. 105, n. 5, p. 2007-2015, mar. 2005. Disponível em: < <http://www.bloodjournal.org/content/bloodjournal/105/5/2007.full.pdf>> Acesso em: 1 set. 2017.

HAMBLIN, T.J. et al. Fludarabine and hemolytic anemia in chronic lymphocytic leukemia. **Journal of Clinical Oncology**, v. 16, n. 5, p. 3209-3210, mai. 1998. Disponível em: < <http://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/JCO.1998.16.9.3209?journalCode=jco>> Acesso em: 16 set. 2017.

HOFFBRAND, A. V.; PETTIT, J. E. **Hematologia clínica ilustrada**: manual e atlas colorido. São Paulo: Mandel, 1988. 567 p.

HOFFBRAND, A.V., et al. Postgraduate Haematology [Internet]. Oxford: Wiley-Blackwell, 2010 [citado 2017 agos 18] Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/9781444323160>.

HOFFBRAND, Victor A.; MOSS, J. E. Pettit. **Fundamentos em hematologia**. 6. ed. São Paulo: Artmed, 2013. 464 p.

IANOTTI, L. L. et al. Determinants of anemia and hemoglobin concentration in haitian school-aged children. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 12 v. 93, n. 5, p. 1092-1098, nov. 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4703262/>> Acesso em: 20 mar.2017.

JOHNSON, S. T; FUEGER, J. T; GOTTSCHALI, J. L. One center's experience: the serology and drugs associated with drug-induced immune hemolytic anemia--a new paradigm. **Transfusion**, v. 47, n. 4, p.697-702, abr. 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17381629>> Acesso em: 10 abr. 2017.

JUNQUEIRA, D. R. G., et al. Unfractionated heparin versus low molecular weight heparin for avoiding heparin-induced thrombocytopenia in postoperative patients. **The Cochrane Collaboration**, Minas Gerais, v. 9, p. 36, mar, 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22972111>>. Acesso em: 7 dezembro 2016.

KAPUR G., et al. Ceftriaxone induced hemolysis complicated by acute renal failure. **Pediatr Blood Cancer**, Ann Arbor, v. 50, n. 1, p.139-142, jan. 2008. Disponível em: <https://deepblue.lib.umich.edu/bitstream/handle/2027.42/57397/20839_ftp.pdf?sequence=1&isAllowed=y> Acesso em: 10 set.2017.

LAMBERT, Jean-François; BERIS, Photis. Pathophysiology and differential diagnosis of anaemia [internet]. Handbook on Disorders of Iron Metabolism. European School of Haematology, 2009 [citado 2017 agos 18]. Disponível em: <http://www.esh.org/esh-handbook-on-disorders-of-iron-metabolism-2009/>.

LANDEIRO, L. et al. Depleção de células B no tratamento de citopenias autoimunes. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São José do Rio Preto, v. 27, n. 2, p. 102- 105, abr/jun. 2005. Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842005000200009> Acesso em: 25 ago.2017.

LEGER, Regina M. The Positive Direct Antiglobulin Test and Immune-Mediated Hemolysis. In: FUNG, Mark K. **AABB Technical Manual**. 18. ed. United States: American Association of Blood Banks, 2014. Cap. 17, p. 499-524.

LICHTMAN, Marshall. A. et al. **Manual de hematologia de Williams**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 622 p.

LIMA, Adrienne Ferreira de. **Anemia hemolítica autoimune e o diagnóstico laboratorial: uma revisão da literatura**. 2015. 31 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Hematologia e Hemoterapia Laboratorial) – Instituto Nacional de Ensino Superior e Pesquisa, Recife, 2015.

MARILYN, R.H. Inherited haemolytic anaemias. **Medicine**, London, v. 37, n. 3, p. 143-148, mar. 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1357303909000036>> Acesso em: 23 jun. 2017.

MARKS P.W.; GLADER B. Approach to Anemia in the Adult and Child. In: HOFFMAN R., et al. **Hematology: basic principles and practice**. 5. ed. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone, 2009. cap. 32, p. 439-460. [citado 2017 agos 18]. Disponível em: <https://www.coursehero.com/file/ph39v/Marks-PW-Glader-B-Approach-to-Anemia-in-the-Adult-and-Child-In-Hoffman-F-Benz/>

MARTINS, S. D. C. **Anemias hemolíticas: clínica, diagnóstico e terapêutica: uma revisão crítica**. 2014. 82 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Mestrado integrado em Medicina – Área Científica de Hematologia), Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Portugal, 2014.

MATOS, C. et al. Hemoglobinúria paroxística ao frio: quando suspeitar?. **Nascer e crescer**, Porto, v. 2, n.3, p. 135-137, set. 2012. Disponível em: <http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0872-07542012000300004> Acesso em: 25 mar.2017.

MAYER, B. et al. Variability of Findings in Drug-Induced Immune Haemolytic Anaemia: Experience over 20 Years in a Single Centre. **Transfus Med Hemother**, Berlin, v. 42, n.5, p. 333-339, set. 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4678312/>> Acesso em: 15 jul.2017.

MEJÍA-ARREGUÍ M. H. Anemias hemolíticas autoimunes. **Rev Med Inst Mex Seguro Soc**, v. 43, n. 1, p. 25-28, ago. 2005.

MEULENBROEK, E. M.; WOUTERS, D.; ZEERLEDER, S. Methods for Quantitative Detection of Antibody-induced Complement Activation on Red Blood Cells. **Journal of Visualized Experiments**, v. 83, n.1, p. 51-61, jan. 2014. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4091512/>> Acesso em: 1 jul.2017.

MINTZER, D. M.; BILLET, S. N.; CHMIELEWSKI, L. Drug-Induced Hematologic Syndromes. **Advances in Hematology**, Philadelphia, v. 2009, 11 p., jul. 2009. Disponível em: < <https://www.hindawi.com/journals/ah/2009/495863/>> Acesso em: 30 jul.2017.

MONTILLO, M.; RICCI, F.; TEDESCHI, A. Role of fludarabine in hematological malignancies. **Expert Revista Anticancer Therapy**, v. 6, n. 9, p. 1141- 1161. 2006.

MURPHY, W. G.; KELTON, J. G. Methyldopa-induced autoantibodies against red blood cells. **Blood Reviews**, Ontario, v. 2, n. 1, p. 36-42, mar. 1988. Disponível em: [http://www.bloodreviews.com/article/0268-960X\(88\)90006-9/pdf](http://www.bloodreviews.com/article/0268-960X(88)90006-9/pdf)> Acesso em: 5 set.2017.

MYINT, H., et al. Fludarabine-related autoimmune haemolytic anaemia in patients with chronic lymphocytic leukaemia. **British Journal of Haematology**, v. 91, n. 2, p. 341-344, out. 1995.

NADAL-VICENS, M.; CHYUNG, J. H.; TURNER, T. J. Farmacologia da Neurotransmissão Serotoninérgica e Adrenérgica Central. In: GOLAN, D. E. **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. Cap. 13, p. 186-202.

NEVES, V., et al. Hemoglobinúria Paroxística a Frio. A Propósito de Um Caso Clínico. **Acta Pediátrica Portuguesa**, Setúbal, v. 29, n. 1, p. 59-62, out. 1998. Disponível em:< <http://actapediatrica.spp.pt/article/view/5548/4313>> Acesso em: 25 fev.2017.

NUNES, G. S. Métodos imunoquímicos para análise de contaminantes ambientais: conceitos, estado da arte e perspectivas. **Química Nova**, São Luís, v. 28, n. 3, p. 462-471, mai/jun. 2005. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422005000300018> Acesso em: 15 jul.2017.

OBELAR, M. S. Anemia carencial na infância: um importante problema de saúde pública. **Revista Paulista de Pedriatria**, v. 26, n.1, p. 4-5, jan. 2008.

OLIVEIRA, M.C.L.A, et al. Anemia hemolítica auto-imune como sintoma inicial de linfoma de Hodgkin. **Rev Med**, Belo Horizonte, v. 17, n.1-2, p. 64-67, 2007. Disponível em:< file:///C:/Users/Hp-Marlu/Downloads/v17n1-2a11.pdf> Acesso em: 20 jul.2017.

OLIVEIRA, M.C.L.A. et al. Curso Clínico da anemia-hemolítica auto-imune: um estudo descritivo. **Jornal de Pediatria**, Porto Alegre, v. 82, n.1, p. 58-62, 2006. Disponível em: < http://www.scielo.br/pdf/jped/v82n1/en_v82n1a12.pdf> Acesso em: 28 fev.2017.

OLIVEIRA, R. A. G.; POLI NETO, A. **Anemias e leucemias: conceitos básicos e diagnóstico por técnicas laboratoriais**. São Paulo: Roca, 2004. 421 p.

PACKMAN, C. H. Hemolytic anemia due to warm autoantibodies. **Elsevier Health**, Charlotte v. 22, n. 1, p. 17-31, jan. 2008. Disponível em: < [http://www.bloodreviews.com/article/S0268-960X\(07\)00050-1/pdf](http://www.bloodreviews.com/article/S0268-960X(07)00050-1/pdf)> Acesso em: 20 abr.2017.

PACKMAN, C. H. The Clinical Pictures of Autoimmune Hemolytic Anemia. **Transfusion Medicine and Hemotherapy**, Charlotte, v. 42, n. 5, p. 317-324, set. 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4678314/pdf/tmh-0042-0317.pdf>> Acesso em: 20 jul.2017.

PARKER, V.; TORMEY, C. A. The Direct Antiglobulin Test: Indications, Interpretation, and Pitfalls. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine Online**, New Haven, v. 141, n. 2, p. 305-310, fev. 2017. Disponível em:< <http://www.archivesofpathology.org/doi/pdf/10.5858/arpa.2015-0444-RS>> Acesso em: 15 ago.2017.

PEREZ, R. P. et al. Anemia hemolítica secundaria a metildopa. **Revista Archivo Médico de Camagüey**, Camagüey v.13, n.6, p. 1-7, nov. 2009. Disponível em: < <http://scielo.sld.cu/pdf/amc/v13n6/amc150609.pdf>> Acesso em: 5 set.2017.

PETROIANU, A. Esplenomegalia induzida por drogas. **Acta Med Port**, Minas Gerais, v.24, n.4, p.977-982, jan. 2011. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/5b0b/1df36e13de0a590e13a58cfce3a33cacf5f5.pdf>> Acesso em: 30 ago.2017.

PIERCE, A. N.; NESTER, T. Pathology Consultation on Drug-Induced Hemolytic Anemia. **Am J Clin Pathol**, v.136, n.1, p. 7-12, jul. 2011. Disponível em:

<<https://academic.oup.com/ajcp/articlelookup/doi/10.1309/AJCPBVLJZH6W6RQM>>
Acesso em: 1 mar.2017.

RAPAPORT, S. P. **Hematologia Introdução**. 2. ed. São Paulo: Roca, 1990. 450 p.

RAPIDO, F. The potential adverse effects of haemolysis. **Blood Transf**, Milan, v. 15, n.3, p. 218-221, may. 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5448827/>> Acesso em: 25 mar.2017.

REDDY, V. R. S. et al. Autoimmune hemolytic anemia: mixed type: a case report. **Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion**, Bangalore, v.27, n. 2, p.107-110, jun. 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3136667/>> Acesso em: 10 jun.2017.

ROBAK, P.; ROBAK, T. Older and new purine nucleoside analogs for patients with acute leukemias. **Cancer Treat Rev**, v.39, n.8, p.851-861. 2013.

RODRIGUES, R. **Anemia hemolítica auto-imune**. 2013. 17 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Especialização em Hematologia Laboratorial) - Departamento de Ciências da Saúde da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Unijuí, 2013.

SALAMA, A. Drug-induced immune hemolytic anemia. **Exp Opin Drug Saf**, Berlin, v. 8, n. 2, p. 73-79, jan. 2009. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1517/14740330802577351?journalCode=ieds20>> Acesso em: 15 mar.2017.

SALAMA, A., MAYER, B. Diagnostic pitfalls of drug-induced immune hemolytic anemia. **Immunohematology**, Berlin, v. 30, n. 2, p. 80-84, set. 2014.

SARTORI, A.; STALEY, B.; SKIPPER, A. Drug-Induced Autoimmune Hemolytic Anemia in a 78-Year-Old African-American Man with Chronic Lymphocytic Leukemia. **Lab Med**, v. 45, n. 3, p. 105-108, out. 2014. Disponível em: <<https://academic.oup.com/labmed/articlelookup/doi/10.1309/LMLWQDB2Q6LS7VQG>> Acesso em: 1 set.2017.

SCHÖRNER, E. J. Elaboração do procedimento operacional padrão sobre teste da antiglobulina direto enviado ao laboratório de imuno-hematologia e Agência Transfusional do Hospital Universitário Prof. Polydoro Ernani de São Thiago da

Universidade Federal de Santa Catarina. Santa Catarina: Universidade Federal de Santa Catarina, 2012.

SELTAM A; SALAMA A. Ceftriaxone-induced immune haemolysis: two cases reports and a concise review of the literature. **Intensive Care Med**, Berlin, v. 26, n.9, p.1390-4, set. 2000. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11089773>> Acesso em: 10 set.2017.

SILVA, Alexsandro Macedo; RIBEIRO NETO, Luciane Maria; SANTOS, Paulo Caleb Júnior de Lima. **Hematologia: métodos e interpretação**. São Paulo: Roca, 2013. 450 p.

SILVA, J. R. et al. Ensaio de Dissolução do Medicamento Metildopa Produzido pela Indústria Farmacêutica. **UNICIÊNCIAS**, v. 20, n. 1, p.50-57, 2016.

SILVA, T. F. A. et al. Mecanismo De Ação, Efeitos Farmacológicos E Reações Adversas Da Ceftriaxona: Uma Revisão De Literatura. **Revista Eletrônica de Farmácia**, n. 11, v. 3, p. 48-57, set. 2014. Disponível em:< <https://revistas.ufg.br/REF/article/viewFile/7424/17127>> Acesso em: 10 set.2017.

SOUZA, R. A. S. Observação de anemia hemolítica auto-imune em artrite reumatoide. **Rev. Bras. hematol. Hemoter.**, São José do Rio Preto, v. 25, n. 4, p. 247-249, out. 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S151684842003000400011> Acesso em: 30 jul.2017.

SWORDS, R. et al. Treatment of refractory fludarabine induced autoimmune haemolytic with the anti-cd20 monoclonal antibody rituximab. **Clinical and Laboratory Haematology**, v. 28, n. 1, p. 57-59. 2006. Disponível em: < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2257.2006.00738.x/full>> Acesso em: 20 set.2017.

TASCH, J.; GONZALEZ-ZAYAZ, P. Ceftriaxone-Induced Hemolytic Anemia in a Jehovah's Witness. **The American Journal of Case Reports**, v. 18, n. 1, p. 431-435, apr. 2017. Disponível em:< <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5408558/>> Acesso em: 10 ago.2017.

TAVARES, A.; PLAVNIK, F. L. Inibidores do sistema simpático. **HiperAtivo**, São Paulo, v. 5, n.2, jun. 1998. Disponível em: <<http://departamentos.cardiol.br/dha/revista/5-2/inibidores.pdf>> Acesso em: 27 set. 2017.

VALENTE, P.; LECHNER, K. Diagnosis and treatment of autoimmune haemolytic anaemias in adults: a clinical review. **Wien Klin Wochenschr**. Austria, v. 120, n. 5, p. 136–151, fev. 2008. Disponível em: < <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00508-008-0945-1>> Acesso em: 12 jun.2017.

VALLE, L. et al. Doença de Castleman Retroperitoneal – Caso Clínico e Revisão da Literatura. **Arquivos de Medicina**, Porto, v. 19, n.1-2, p. 29-33, 2006. Disponível em: < <http://www.scielo.mec.pt/pdf/am/v19n1-2/v19n1a04.pdf>> Acesso em: 1 set.2017.

VEHAPOĞLU, A. et al. Ceftriaxone-induced hemolytic anemia in a child successfully managed with intravenous immunoglobulin. **The Turkish Journal of Pediatrics**, Istanbul, v. 58, n. 2, p. 2016-2019. 2016. Disponível em: < http://www.turkishjournalpediatrics.org/uploads/pdf_TJP_1585.pdf> Acesso em: 27 set.2017.

VERRASTO, T. et al. **Hematologia e hemoterapia: fundamento de morfologia, fisiologia, patologia e clínica**. São Paulo: Atheneu, 1996. 303 p.

VIEIRA, M. P. et al. Nutritional ambulatory approach in hemolytic anemia. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 1, jan/abr. 1999. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52731999000100009> Acesso em: 10 fev. 2017.

WENZ B.; LALEZARI P. Methylodopa: Physicochemical Characterization of the Erythrocyte Autoantibody. **Blood**, Bronx, v. 42, n. 2, p. 247-255, jul. 1973. Disponível em: < <http://www.bloodjournal.org/content/bloodjournal/42/2/247.full.pdf>> Acesso em: 30 set. 2017.

YAMAMOTO G. R. I., PORTINHO C.P. Sistema Complemento: Ativação, Regulação e Deficiências Congênitas e Adquiridas. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo, v. 47, n. 1, p. 41-51, jan/mar. 2011. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302001000100029> Acesso em: 1 mar. 2017.

ZEERLEDER, S. Autoimmune haemolytic anaemia: a practical guide to cope with a diagnostic and therapeutic challenge. **The Netherlands Journal of Medicine**, Amsterdam, v.69, n.4, p.177-183, abr. 2011. Disponível em: < <http://www.njmonline.nl/getpdf.php?id=1045>> Acesso em: 15 set. 2017.