



LISBOA

UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



FACULDADE DE  
**MEDICINA**  
LISBOA

# **TRABALHO FINAL**

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

Clínica Universitária de Medicina II

### **Anemias Hemolíticas:**

### **Abordagem Diagnóstica e Terapêutica**

Mariana Raquel Domingos Marques Rosa

Orientado por:

Dr.ª Ana Cristina Sabino Grilo

---

Junho' 2024

## Resumo

Segundo o Global Burden of Disease Studying 2021, a anemia é a doença hematológica mais comum a nível mundial, com uma prevalência global em todas as idades de 24,3%, e a terceira principal causa de incapacidade em todo o mundo. A anemia hemolítica é um tipo de anemia caracterizada pela destruição precoce dos eritrócitos. Pode ser classificada em hereditária ou adquirida, aguda ou crónica, intrínseca ou extrínseca ao eritrócito e intravascular ou extravascular de acordo com o local predominante de hemólise. Para além da apresentação clássica de anemia, indivíduos com anemia hemolítica exibem sinais e sintomas que resultam diretamente da hemólise, podendo apresentar icterícia como principal sinal clínico. As alterações laboratoriais da anemia hemolítica incluem anemia com reticulocitose, aumento da bilirrubina indireta, da lactato desidrogenase e do urobilinogéneo, e diminuição dos níveis de haptoglobina. Sendo uma entidade com etiologias muito diversas, que condicionam diferentes abordagens terapêuticas, a abordagem diagnóstica constitui um estímulo ao raciocínio clínico, que deve ser organizado e hierárquico, com base no contexto de cada indivíduo.

Este trabalho tem como principal objetivo rever a investigação, diagnóstico e tratamento desta patologia a partir de casos clínicos ilustrativos das várias etiologias, cuja informação foi recolhida no Serviço de Medicina Interna 4.1 do Hospital Beatriz Ângelo.

*Anemia Hemolítica, Anemia Hemolítica Hereditária, Anemia Hemolítica Adquirida*

Trabalho Final é da exclusiva responsabilidade do seu autor, não cabendo qualquer responsabilidade à FMUL pelos conteúdos nele apresentados.

## Abstract

According to the Global Burden of Disease Study 2021, anemia is the most common hematologic disease worldwide, with a global prevalence of 24.3% in all ages, and the third leading cause of disability worldwide. Hemolytic anemia is a type of anemia characterized by the premature destruction of erythrocytes. It can be classified as hereditary or acquired, acute or chronic, intrinsic or extrinsic to the erythrocyte, and intravascular or extravascular according to the predominant site of hemolysis. In addition to the classic presentation of anemia, individuals with hemolytic anemia exhibit signs and symptoms directly resulting from hemolysis, which may include jaundice as the main clinical sign. The laboratory alterations of hemolytic anemia include anemia with reticulocytosis, increase of indirect bilirubin, of lactate dehydrogenase and urobilinogen levels, and decreased haptoglobin levels. Being an entity with very diverse etiologies, that condition different therapeutic approaches, the diagnostic approach stimulates clinical reasoning, which should be organised and hierarchical, based on the context of each individual.

This thesis aims to review the investigation, diagnosis, and treatment of this pathology using illustrative clinical cases of various etiologies, the information of which was collected in the Internal Medicine Service 4.1 of Beatriz Ângelo Hospital.

*Hemolytic anemia, Hereditary Hemolytic Anemia, Acquired Hemolytic Anemia*

Trabalho Final é da exclusiva responsabilidade do seu autor, não cabendo qualquer responsabilidade à FMUL pelos conteúdos nele apresentados

## ÍNDICE

Introdução .....	9
Caso Clínico 1 .....	11
Caso clínico 2 .....	12
Caso Clínico 3 .....	14
Caso Clínico 4 .....	15
Discussão .....	17
1. Anemia hemolítica autoimune.....	19
1.1. Abordagem Diagnóstica.....	19
1.2. Abordagem Terapêutica .....	23
2. Enzimopatias.....	27
2.1. Défice de G6PD .....	27
2.2. Défice de Piruvato Cinase (PK).....	30
3. Defeitos de Membrana Hereditários .....	33
3.1. Esferocitose Hereditária (EH) .....	33
4. Defeitos de Membrana Adquiridos.....	36
4.1. Hemoglobinúria Paroxística Noturna (HPN) .....	36
5. Hemoglobinopatias.....	40
5.1. Anemia de Células Falciformes.....	40
5.2. $\beta$ -Talassemia.....	41
6. Microangiopatia Trombótica .....	44
6.1. Púrpura trombocitopénica trombótica (PTT) .....	45
6.2. Síndrome hemolítico urémico (SHU) .....	48
Conclusão e Proposta de um Algoritmo de Diagnóstico.....	50
Agradecimentos.....	51
Anexo 1 .....	52
Anexo 2 .....	53

Anexo 3 .....	54
Bibliografia .....	56

## Índice de Abreviaturas

$\beta$  - Beta

$\beta$ -TI -  $\beta$ -Talassemia intermédia

$\beta$ -TM -  $\beta$ -Talassemia *major*

$\beta$ -Tm -  $\beta$ -Talassemia *minor*

2,3-DPG – 2,3-Difosfoglicerato

AGLT - *Acidified glycerol lysis test*

AH – Anemia Hemolítica

AHAI – Anemia Hemolítica Autoimune

ANA – Anticorpos antinucleares

Anti-TPO – anti-tireoperoxidase

aPTT – Tempo de tromboplastina parcial ativado

AST – Aspartato aminotransferase

ATP – Adenosina trifosfato

AVC – Acidente vascular cerebral

CAD – Doença das aglutininas frias

CAS – Síndrome das aglutininas frias

CE – Concentrado eritrocitário

CID – Coagulação intravascular disseminada

CMV - Citomegalovírus

EBV – Vírus Epstein-Barr

EDA – Endoscopia digestiva alta

EH – Esferocitose hereditária

EMA - *European Medicines Agency*

EMABT – *Eosin-5'-maleimide binding test*

ERO – Espécies reativas de oxigênio

ESP – Esfregaço de sangue periférico

FDA - *Food and Drug Administration*

FWV – Fator de Von Willebrand

G6PD – Glicose-6-fosfato-desidrogenase

Gb3 – Globotriaosilceramida

GGT – Gamaglutamil transferase

Hb – Hemoglobina

HBPM – Heparina de baixo peso molecular

HGM – Hemoglobina globular média

HIV – Vírus da imunodeficiência humana

HPN – Hemoglobinúria paroxística noturna

Ig – Imunoglobulina

LDH – Lactato desidrogenase

LES – Lúpus Eritematoso Sistémico

MCHC – Hemoglobina corpuscular média

MCV – Volume corpuscular médio

MRV – volume médio dos reticulócitos

MSCV – Volume celular esférico médio

NADP - nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

NADPH - a nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidase

NO – Óxido Nítrico

PCR – Proteína C reativa

PIGA – Fosfatidilinositol glicano A

PK – Piruvato cinase

PTT – Púrpura trombocitopénica trombótica

RC – Resposta complete

RP – Resposta parcial

SHU – Síndrome hemolítico urémico

STEC - Escherichia coli enterohemorrágica

TAC – Tomografia axial computadorizada

TDT – Talassemia dependente de transfusão

TFO – Teste de fragilidade osmótica

TNDT – Talassemia não dependente de transfusão

TP – Tempo de protrombina

TSH – Hormona estimulante da tiroide

VGM – Volume globular médio

VS – Velocidade de sedimentação

wAHAI – Anemia hemolítica mediada por anticorpos quentes

## Introdução

A anemia hemolítica (AH) representa 5% de todas as anemias (Brites et al., 2018) e é caracterizada pela destruição precoce dos eritrócitos não compensada pela eritropoiese. Pode ser classificada em hereditária ou adquirida, de acordo com a sua etiologia primária, aguda ou crónica e de ligeira a severa, de um ponto de vista clínico, intrínseca ou extrínseca ao eritrócito, no que diz respeito ao mecanismo, e intravascular ou extravascular, de acordo com o local predominante de hemólise. (Loscalzo et al., 2022)

Os defeitos intrínsecos ao eritrócito, com exceção da hemoglobinúria paroxística noturna (HPN), compreendem causas hereditárias e correspondem a hemoglobinopatias, enzimopatias e defeitos da membrana. Na HPN, o defeito intracorpúscular deve-se a uma mutação somática adquirida. Geralmente, com exceção do síndrome hemolítico urémico (SHU) familiar/atípico, os fatores extrínsecos ao eritrócito são causas adquiridas uma vez que a maioria destes fatores são exógenos, nomeadamente microangiopatias, causas autoimunes e determinados agentes tóxicos, fármacos e infeções. No SHU familiar, o fator extrínseco corresponde a um trigger que, devido a uma mutação da linha germinativa, ativa o complemento de forma excessiva. (Loscalzo et al., 2022)

Os sinais e sintomas que resultam diretamente da hemólise diferenciam a AH de outros tipos de anemia e, portanto, para além da apresentação clássica de anemia, que pode incluir palidez, fadiga, dispneia, hipotensão e taquicardia, indivíduos com AH podem apresentar icterícia como principal sinal clínico, hematúria, linfadenopatias, hepatoesplenomegália, colestase ou coledocolitíase. (Phillips & Henderson, 2018) Em formas congénitas severas pode também ocorrer alterações esqueléticas devido à elevada atividade medular. (Loscalzo et al., 2022)

Uma investigação inicial pode sugerir a hemólise como causa da anemia, que neste caso pode ser normocítica ou macrocítica. (A. Hill & Hill, 2018) As alterações laboratoriais da AH são explicadas pela própria hemólise, mas também pela resposta eritropoética da medula óssea, sendo a reticulocitose o principal sinal desta resposta. (Loscalzo et al., 2022) O aumento da contagem de reticulócitos suporta a presença de

hemólise, mas também pode estar normal ou diminuída. (Berentsen & Barcellini, 2021)

As alterações sugestivas de hemólise incluem aumento sérico da bilirrubina indireta e da aspartato aminotransferase (AST) e aumento do urobilinogéneo na urina e nas fezes, se a hemólise for extravascular; hemoglobinúria frequentemente associada a hemossiderinúria, aumento da hemoglobina plasmática, aumento sérico da lactato desidrogenase (LDH) e diminuição dos níveis de haptoglobina, se a hemólise for intravascular. A hemoglobinúria está presente apenas em doentes com hemólise intravascular severa. O esfregaço de sangue periférico (ESP) pode mostrar policromasia, macrocitose, esferócitos, eliptócitos, eritrócitos aglutinados, esquizócitos, *bite cells*, *hemighosts*, células falciformes, células em alvo e microcitose. (Loscalzo et al., 2022)

Apesar de haver um padrão típico de apresentação, nenhuma destas avaliações anteriores é completamente sensível ou específica para hemólise. (A. Hill & Hill, 2018)

Perante um exame objetivo sugestivo de anemia e de hemólise, a avaliação laboratorial de primeira linha deve incluir um hemograma com ESP, contagem de reticulócitos, doseamento sérico de bilirrubina indireta, LDH e haptoglobina. (Jamwal et al., 2020)

Uma vez estabelecido o diagnóstico de AH, investigações subsequentes são necessárias para identificar a etiologia, numa abordagem organizada e com base no contexto de cada indivíduo. (A. Hill & Hill, 2018)

O teste direto da antiglobulina simples ou teste de Coombs direto simples permite diferenciar causas de AH imunes de causas não imunes. (Phillips & Henderson, 2018)

## Caso Clínico 1

MS, mulher de 68 anos e autônoma nas atividades de vida diária, com hipertensão arterial e dislipidemia, medicada e controlada. G5P4, um aborto espontâneo e quatro filhos vivos e saudáveis, sem antecedentes familiares relevantes conhecidos. Medicada habitualmente com indapamida 2,5mg e sinvastatina 20mg.

Avaliada em consulta por alteração da coloração da pele e das escleróticas. Negava outras queixas ou sintomas, alteração recente da medicação habitual, consumo de suplementos ou chás e quadro infeccioso prévio.

Ao exame objetivo destacou-se palidez e icterícia, adenopatias incharacterísticas nas cadeias cervicais anteriores, bilateralmente, com cerca de 0,5 cm de maior eixo e consistência elástica, obesidade de predomínio central com difícil avaliação de massas ou organomegalias. Sem outras alterações relevantes.

Nas análises laboratoriais verificou-se presença de anemia normocítica e normocrômica, com Hb de 7.7 g/dL, VGM 83 fL e HGM 31 pg; reticulopénia com valor absoluto de reticulócitos de 4 000/mm<sup>3</sup> (0.2%); bilirrubina total de 8.85 mg/dL e bilirrubina conjugada de 0.67 mg/dL; haptoglobina inferior a 8 e LDH aumentada (575 UI/L); disfunção renal ligeira (ureia de 56 mg/dL e creatinina de 1.11 mg/dL).

O ESP revelou microcitose, anisocitose e anisocromia ligeiras. O teste de Coombs foi positivo para Imunoglobulina (Ig) G.

Foi admitida AH autoimune mediada por anticorpos quentes. Do estudo posterior, destacou-se eletroforese sérica e imunofixação sem alterações, anticorpos antinucleares (ANA) presentes em título 1:320, anticorpo anti-tireoperoxidase (anti-TPO) e anti-tiroglobulina positivos com hormona estimulante da tiroide (TSH) normal. Serologias para vírus da imunodeficiência humana (HIV), vírus Epstein-Barr (EBV), Citomegalovírus (CMV) e Parvovírus negativas. Radiografia de tórax com acentuação para-hilar bilateral. Ecografia abdominal com fígado muito esteatósico. TAC toraco-abdomino-pélvica com pequenas formações ganglionares mediastínicas para-traqueais direitas de curto eixo infra-centimétrico. Ecografia mamária e mamografia sem alterações sugestivas de neoplasia. Ecografia da tiroide com padrão sugestivo de

tiroidite. Endoscopia digestiva alta (EDA) com aspeto de candidíase esofágica, cicatriz no estômago sugestiva de úlcera prévia e biópsia sem alterações sugestivas de neoplasia.

Foi admitida AHAi idiopática.

Cumpriu pulsos de metilprednisolona durante 5 dias, passando para prednisolona 1mg/kg/dia, sem resposta clínica, mantendo valores de Hb 6 g/dL e evidência de hemólise, pelo que progrediu para 1.5 mg/kg/dia e imunoglobulina humana 5 dias. Resposta medular sob suplementação em franca reticulocitose e subida de Hb.

## Caso Clínico 2

CJ, mulher de 40 anos e autónoma nas atividades de vida diária com hipotireoidismo por tiroidite autoimune, infertilidade não esclarecida e colecistectomia aos 29 anos. Medicada habitualmente com levotiroxina 0,1mg. Tem antecedentes familiares de um pai com acidente vascular cerebral (AVC) e mãe com neoplasia intestinal.

Iniciou queixas, com agravamento progressivo, desde há 1 mês, de rinorreia mucosa, tosse produtiva com expectoração mucosa, cansaço, palpitações, anorexia e perda ponderal (11%). Referiu ainda sensação febril não quantificada e mialgias nas últimas 2 semanas.

Ao exame objetivo, destacou-se palidez, desidratação, taquicardia e crepitações na metade inferior do hemitórax, bilateralmente. Restante exame objetivo sem alterações.

Nas análises laboratoriais verificou-se aumento dos parâmetros inflamatórios com leucócitos de 17350/uL, neutrófilos de 84.2% e proteína C reativa (PCR) de 4.03 mg/dL; anemia normocítica e normocrômica com Hb de 9.5 g/dL; e LDH aumentada (424 UI/L).

A radiografia de tórax revelou hipotransparência do 1/3 inferior esquerdo e reforço da base direita.

Foi admitida pneumonia adquirida na comunidade, tendo alta para ambulatório medicada com amoxicilina/ácido clavulânico e azitromicina.

Uma semana depois é reavaliada em consulta, referindo cansaço de agravamento progressivo com incapacidade funcional. Mantinha tosse produtiva.

Ao exame objetivo, destacou-se palidez mucocutânea. A doente encontrava-se anictérica e o abdómen era mole e depressível, indolor, sem defesa, sem massas ou organomegalias. Restante exame objetivo sem alterações.

Da avaliação complementar destacou-se anemia macrocítica com Hb de 8.3 g/dL; discreta hiperbilirrubinemia (total - 1.89 mg/dL e direta - 0.49 mg/dL); LDH aumentada (552 UI/L); haptoglobina indoseável (< 8 mg/dL); e reticulocitose.

O ESP revelou anisocitose muito acentuada com presença de macrocitose e microcitose, e muitos policromatófilos. O teste de Coombs direto foi positivo para IgG.

Foi admitida anemia hemolítica autoimune por anticorpos quentes.

Do estudo etiológico destacou-se análises com ANA positivos com padrão homogêneo, com título 1:280; anticorpo anti-dsDNA positivo; complemento normal; anticorpo anti-cardiolipina IgG e IgM positivos; anticoagulante lúpico negativo. Para além disso, tinha anticorpo anti-TPO aumentado (72 IU/ml); déficit de folato (1,7 ng/mL); proteinograma com pico policlonal na região gama, com cicatriz imunológica para CMV, EBV e parvovírus B19.

Exame sumário de urina sem alterações de relevo. Ecografia abdominal com formação hepática nodular direita, hiperecogénica, bem delimitada, com 6mm, sugestiva de hemangioma e milimétrica calcificação no lobo direito; sem esplenomegália. TAC torácica com extensas alterações da permeabilidade do parênquima pulmonar, com padrão em “vidro despolido” envolvendo praticamente todo o hemitórax esquerdo, com discretas áreas poupadas no segmento apical dos lobos superior e inferior. No hemitórax direito envolve a vertente justamediastínica do lobo superior e o lobo médio, com aspetos de fibrose pulmonar, com espessamento dos septos interlobulares, a que se associam bronquiectasias cilíndricas e quísticas.

Foi admitido lúpus eritematoso sistémico com manifestação hematológica e pulmonar, iniciando hidroxicloroquina. Cumprir pulsos de metilprednisolona durante 5 dias, passando para prednisolona 1mg/kg/dia, com evolução favorável, destacando-se subida da Hb (10,9 g/dL) e diminuição dos parâmetros de hemólise (LDH 342 UI/L e bilirrubina total 0,69 mg/dL).

Por estabilidade clínica, teve alta para domicílio.

### Caso Clínico 3

MD, mulher de 54 anos, de raça negra, empregada de limpeza e autónoma nas atividades de vida diária, com antecedentes pessoais de neoplasia da mama (último tratamento com letrozol em março de 2019), cirurgia abdominal não especificada e anemia não especificada. Negou história familiar de doenças hematológicas e viagens recentes.

Iniciou cefaleias, tonturas, astenia intensa, prostração e mialgias generalizadas. Refere ainda “urina escura” (sic) sem disúria. Negou tosse, dispneia e anosmia. Tem história de infeção por SARS-CoV-2, 2 semanas antes.

Ao exame objetivo destacou-se pele e mucosas descoradas e ictéricas. O abdómen era mole e depressível, sem palpação de massas ou organomegalias e sem dor ou irritação peritoneal. O Murphy renal foi negativo bilateralmente. Restante exame objetivo sem alterações.

Analiticamente destacou-se Hb de 5.0 g/dL, volume globular médio (VGM) de 108 fL, hemoglobina corpuscular média (HGM) de 35 pg; valor absoluto de reticulócitos de 131 000 /mm<sup>3</sup> (9.4%); LDH de 2056 UI/L; AST de 125 UI/L; bilirrubina total de 10.06 mg/dL e direta de 0.62 mg/dL; haptoglobina de 15 mg/dL; leucócitos de 20.01 x 10<sup>9</sup>/L; neutrófilos de 15.45 x 10<sup>9</sup>/L; plaquetas de 363 x 10<sup>9</sup>/L; ferro de 315 ug/dL e ferritina de 10477 ug/dL; vitamina B12 de 462 ng/L e ácido fólico de 5.8 ng/mL; PCR de 5.96 mg/dL; tempo de protrombina (TP) de 12.6 seg. e tempo de tromboplastina parcial ativado (aPTT) de 21.8 seg.; urina II com urina de cor vermelha e hemoglobinúria ++, sem outras alterações.

O ESP revelou anisocitose moderada e alguns fragmentos eritrocitários. O teste de Coombs foi negativo.

Do estudo etiológico, verificou-se uma radiografia de tórax sem alterações valorizáveis; as hemoculturas e uroculturas, assim como as serologias para HIV e hepatites virais, foram negativas. Foi pedido doseamento da glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD), que foi baixo (18 de junho – 6.3 UI/g Hb; 24 de junho – 5.2 UI/g Hb). Foi admitido o diagnóstico de anemia hemolítica por déficit de G6PD.

Por estabilidade clínica teve alta para domicílio. Foi explicado à doente que deveria evitar ingestão de favas e manuseamento de hidrocarbonetos de aromáticos (naftalina).

#### Caso Clínico 4

LP, homem de 54 anos e autónomo nas atividades de vida diária, com fibrilhação auricular, epilepsia, hiperuricemia, dislipidemia e tabagismo crónico não ativo. Tem antecedentes familiares de neoplasia colorretal (mãe) e neoplasia do pâncreas (tia paterna). Tem como medicação habitual bisoprolol 5mg, rivaroxabano 5mg, levetiracetam 1500 mg e atorvastatina 20mg.

Iniciou cansaço fácil para pequenos esforços, anorexia, distensão abdominal e lombalgia bilateral de características mecânicas. Negou alterações do trânsito gastrointestinal, perda de peso, suores noturnos, febre e perdas hemáticas visíveis.

Ao exame objetivo observou-se mucosas descoradas e ictéricas. Sem outras alterações de relevo.

Nas análises laboratoriais destacou-se Hb 6.2 g/dL, VGM 101 fL, HGM 31 pg; valor absoluto de reticulócitos de 247 000 / mm<sup>3</sup> (15.4%); LDH de 851 UI/L; haptoglobina de 2 mg/dL; bilirrubina total de 1.71 mg/dL; bilirrubina direta de 0.74 mg/dL. Para além disso, tinha plaquetas de 112 x 10<sup>9</sup> /L; PT de 13 segundos e aPTT de 27.9 segundos; PCR de 14.45 mg/dL; fosfatase alcalina de 389 UI/L; Gamagluamil transferase (GGT) de 851 UI/L; creatinina de 1.04 mg/dL e ureia de 39 mg/dL. Urina II sem alterações e uroculturas negativas.

O ESP revelou anisocitose acentuada, de predomínio macrocítico; policromatofilia e poiquilocitose acentuada. Observaram-se muitos esquizócitos. O teste de Coombs foi negativo.

Admitiu-se microangiopatia trombótica.

Realizou TAC toraco-abdómino-pélvica, que revelou adenomegalias mediastino-hilares, as maiores em localização pré-traqueal com cerca de 16 mm de curto eixo; ligeiro derrame pleural esquerdo, e moderada ascite multirecessual, de sugestão livre; formações ganglionares adenopáticas perigástricas, no hilo hepático, mesentéricas, celíacas, latero-aórticas bilaterais e íliaca comum direita, apresentando características de suspeição, não permitindo excluir doença linfoproliferativa / depósitos secundários. Sugestão de espessamento da parede gástrica ao nível do antro.

EDA com úlcera gástrica hemorrágica, gastropatia hipertrófica e mucosa duodenal granulosa. Foram realizadas biópsias que revelaram neoplasia gástrica de células em anel de sinete. O aspirado de medula óssea demonstrou infiltração medular.

Foi confirmada microangiopatia trombótica em contexto de neoplasia.

## Discussão

Os quatro casos clínicos anteriores representam situações clínicas distintas, mas que têm em comum o diagnóstico de AH. Verificamos anemia normocítica e normocrômica, hiperbilirrubinemia à custa da indireta, aumento da LDH, diminuição dos níveis de haptoglobina e reticulocitose. O caso clínico 1 distingue-se por apresentar reticulopénia transitória.

A reticulopénia pode estar presente na anemia hemolítica autoimune (AHAI). Pode ser secundária a infiltração da medula óssea por doença linfoproliferativa ou infecção por parvovírus B19 e pode estar presente numa minoria significativa de doentes devido à atividade dos autoanticorpos contra os precursores eritroides ou representar um atraso na resposta medular eritropoiética (A. Hill & Hill, 2018) A resposta compensatória da medula óssea é um importante determinante da gravidade clínica (Fattizzo & Barcellini, 2022) e se este atraso persistir, prediz um curso clínico mais severo (A. Hill & Hill, 2018) No caso clínico 1, em resposta à suplementação, os reticulócitos aumentaram.

Após confirmação de anemia hemolítica, devemos procurar a etiologia da mesma, o que pode começar com a procura de eritrócitos anormais no ESP periférico típicos das diferentes etiologias (Phillips & Henderson, 2018)

Os achados típicos da AHAI são esferocitose na AHAI por anticorpos quentes (Jäger et al., 2020) e eritrócitos aglutinados na AHAI por anticorpos frios. Apesar disto, e usando como exemplo os casos clínicos 1 e 2, achados normais não excluem AIAH (Berentsen & Barcellini, 2021). A esferocitose por si só também não faz o diagnóstico uma vez que pode estar presente tanto na esferocitose hereditária (EH) como nas etiologias imunes (Phillips & Henderson, 2018) e no défice de glicose-6-fosfato (G6PD). (Loscalzo et al., 2022)

A presença de *bite cells* e de *hemighosts* são típicos do défice de G6PD, uma das enzimopatias mais comuns neste contexto. (Loscalzo et al., 2022) A coloração com violeta de metila pode mostrar corpos de Heinz, mas atualmente é raramente realizada. (Luzzatto & Arese, 2018) O ESP do caso clínico 3 também não revelou alterações típicas.

A presença de esquizócitos, como apresenta o ESP do doente do caso clínico 4, é uma emergência hematológica que requer investigação para microangiopatia trombótica, mas não é específica desta entidade. Pode também estar presente em situações que causam fragmentação por dano mecânico, como é exemplo de doentes com válvulas mecânicas cardíacas ou a fazer diálise. (Schapkaitz & Mezgebe, 2017)

Em adição às entidades dos casos clínicos apresentados anteriormente, existem outras causas de anemia hemolítica que podem mostrar alterações típicas no ESP, como é o caso dos defeitos de membrana e dos distúrbios da hemoglobina. Esferócitos podem estar presentes na esferocitose hereditária, eliptócitos na eliptocitose hereditária, e estomatócitos na estomatocitose hereditária. (Narla & Mohandas, 2017) A drepanocitose e a  $\beta$ -talassémia, apresentam alterações típicas no ESP, nomeadamente células falciformes e células em alvo, respetivamente. (Loscalzo et al., 2022)

Para além do défice de G6PD, o défice de piruvato cinase (PK) é também das enzimopatias mais frequentes que se pode manifestar por AH. Contrariamente aos defeitos de membrana hereditários, o ESP não apresenta alterações específicas. (Bianchi et al., 2019) O mesmo acontece na HPN, um defeito de membrana adquirido. (Loscalzo et al., 2022)

Relativamente ao resultado do teste de Coombs, os casos clínicos 1 e 2 apresentaram um teste positivo, enquanto os casos 3 e 4 apresentaram um teste negativo.

Os diagnósticos diferenciais serão discutidos de forma individualizada.

## 1. Anemia hemolítica autoimune

A anemia hemolítica autoimune (AIAH) é uma hemólise adquirida, não compensada, intravascular ou extravascular, que ocorre por mecanismos autoimunes (A. Hill & Hill, 2018), principalmente por autoanticorpos contra antígenos da superfície eritrocitária, resultando em fagocitose ou destruição mediada pelo complemento (Phillips & Henderson, 2018). É uma condição rara e heterogênea, com uma incidência estimada de 1-3/100 000 pessoas por ano e uma prevalência de 17/100 000 (Barcellini & Fattizzo, 2023). Pode ser crônica ou recorrente e raramente é episódica. Tem uma mortalidade estimada de cerca de 10% (Michalak et al., 2020)

A AHAI é um termo comum que representa várias doenças, que se distinguem nas suas causas, fisiopatologia e apresentação clínica, sendo que cada doente deve ser avaliado de acordo com estas diferenças (Berentsen & Barcellini, 2021). Inclui a AHAI mediada por anticorpos quentes (wAIAH), a doença das aglutininas frias (CAD), a síndrome das aglutininas frias (CAS), a AIAH mista, a hemoglobinúria paroxística fria e a AIAH atípica. (Jäger et al., 2020)

### 1.1. Abordagem Diagnóstica

O teste de Coombs direto é o teste mais útil para o diagnóstico de AIAH, que demonstra a presença de imunoglobulina (IgG) e/ou complemento (geralmente C3d) ligado à superfície do eritrócito. (Jamwal et al., 2020) Apesar disso, por si só, não faz o diagnóstico de AIAH uma vez que pode ser negativo em cerca de 10% dos doentes com AIAH, e pode ser positivo em alguns indivíduos saudáveis e sem evidência de hemólise. (Jäger et al., 2020)

Se o teste de Coombs direto for negativo, devem ser consideradas causas não imunes de hemólise. Um resultado falso negativo pode ocorrer devido a uma densidade baixa de imunoglobulinas e/ou complemento no eritrócito. (Berentsen & Barcellini, 2021). Assim, após exclusão de alternativas, deve ser realizado um teste de Coombs direto utilizando métodos mais sensíveis e, se estes testes não estiverem disponíveis, pode-se considerar terapêutica com esteroides com avaliação da sua resposta. (Jäger et al., 2020)

Perante uma anemia hemolítica com um teste de Coombs direto positivo, é importante excluir algumas causas como hemólise aloimune em transplante de órgão sólido, transplante alogénico de células estaminais ou reações tardias a uma transfusão sanguínea. O teste de Coombs também pode ser falsamente positivo após determinadas terapêuticas como imunoglobulinas intravenosas, imunoglobulinas anti-Rh e globulinas antitimocíticas, e devido a doenças com paraproteínas ou globulinas séricas elevadas. (Jäger et al., 2020) Recentemente, também se tem verificado um resultado falso positivo após terapêutica com daratumumab (anticorpo anti-CD38) no tratamento do mieloma múltiplo. (Barcellini et al., 2020)

Um teste de Coombs simples/poliespecífico positivo deve ser seguido de um teste de Coombs monoespecífico (Berentsen & Barcellini, 2021), permitindo a distinção entre os tipos de AIAH, o que é essencial uma vez que a abordagem terapêutica difere (A. Hill & Hill, 2018).

#### 1.1.1. Anemia Hemolítica Autoimune Mediada por Anticorpos Quentes

A anemia wAHAI representa cerca de 65% dos doentes com AHAI (A. Hill & Hill, 2018). A incidência anual é de 5-10 casos por 1 000 000 de pessoas e pode ocorrer em qualquer idade, mas é mais frequente na população idosa (Berentsen & Barcellini, 2021), com uma idade média de 67(5-94) anos ao diagnóstico (Barcellini et al., 2020)

Ocorre devido à presença de autoanticorpos, quase sempre anticorpos IgG, que têm maior afinidade para antígenos da superfície dos eritrócitos a temperaturas iguais ou superiores a 37°C. Em casos raros, também podem estar envolvidos anticorpos IgM ou IgA. (Jamwal et al., 2020; Berentsen & Barcellini, 2021) Os autoanticorpos, se em título elevado, podem ativar o complemento (Barcellini & Fattizzo, 2021), o que acontece em aproximadamente metade dos casos (Berentsen & Barcellini, 2021). Apesar desta ativação ser menor do que aquela que acontece na AHAI mediada por anticorpos frios, é uma situação cada vez mais valorizada uma vez que contribui para a gravidade da anemia e refratariedade dos tratamentos disponíveis (Fattizzo & Barcellini, 2022). Assim, o diagnóstico de wAIAH é feito em doentes sem sintomas característicos de doença mediada por anticorpos frios, com um teste de Coombs positivo para IgG

(raramente IgA) com ou sem Cd3, e com aglutininas frias negativas (Michalak et al., 2020)

Quase 50% dos casos são primários ou idiopáticos, isto é, não se consegue identificar uma causa associada, e mais de 50% dos casos são secundários a várias condições como doenças autoimunes, doenças linfoproliferativas, infecções (incluindo a infecção por SARS-CoV-2), tumores sólidos, imunodeficiências primárias e fármacos (causas detalhadas na tabela 1). Assim, todos os doentes com wAIAH devem ser investigados para causas secundária com marcadores serológicos para doenças autoimunes, serologias virais relevantes, citometria de fluxo de sangue periférico, tomografia computadorizada toraco-abdómino-pélvica e eletroforese de proteínas séricas com imunofixação (Berentsen & Barcellini, 2021; Jäger et al., 2020) O mielograma para avaliação da medula óssea, com morfologia, citometria, citogenética e biópsia, não é geralmente aconselhado como avaliação inicial. Recentemente, tem sido recomendado na wAIAH refratária ao tratamento de primeira linha ou quando há recidiva, com o objetivo de excluir uma doença linfoproliferativa secundária ou falência da medula óssea. (Berentsen & Barcellini, 2022)

Doenças como tiroidite autoimune, como apresenta a doente do caso clínico 2, anemia perniciosa e miastenia gravis são entidades que podem estar associadas por partilharem um fundo genético comum, mas não são causas específicas de wAIAH secundária. (Jäger et al., 2020)

No caso clínico 1 admitiu-se wAHAI primária e no caso clínico 2 a wAHAI é secundária a Lúpus Eritematoso Sistémico (LES).

### 1.1.2. Anemia Hemolítica Autoimune Mediada por Anticorpos Frios

A anemia hemolítica autoimune mediada por anticorpos frios representa cerca de 25-30% dos doentes com AHAI. (Berentsen, 2020) Este tipo de anemia é mediada por autoanticorpos que se ligam ao antigénio a temperaturas entre os 0 e os 4°C. Inclui a doença das aglutininas frias, a síndrome das aglutininas frias e a hemoglobinúria paroxística fria. A doença das aglutininas frias é a mais frequente entre as três, com uma incidência anual de 0.45-1.9 casos por 1 000 000 de pessoas e ocorre principalmente na população idosa. A síndrome das aglutininas frias é rara e pode ocorrer em qualquer

idade e a hemoglobinúria paroxística fria ocorre raramente e quase exclusivamente como complicação de infecções virais em crianças (Berentsen & Barcellini, 2021), pelo que esta última não será abordada neste trabalho.

A doença das aglutininas frias e a síndrome de aglutininas frias são mediadas por crioaglutininas, isto é, autoanticorpos monoclonais IgM que têm a capacidade de aglutinar os eritrócitos ao se ligarem ao seu antígeno de superfície nos eritrócitos. Ambas são caracterizadas por um teste de Coombs mono específico fortemente positivo para C3d, negativo ou fracamente positivo para IgG (em cerca de 20% dos casos) e um título de aglutininas frias igual ou superior a 64 a uma temperatura de 4°C. (Jäger et al., 2020)

Para distinguirmos estas duas entidades é importante ter em consideração que, de acordo com a definição atual modificada, os doentes com a doença das aglutininas frias apresentam uma doença linfoproliferativa de células B detetada no sangue ou medula óssea, mas sem evidência clínica ou imagiológica da mesma. Já na síndrome das aglutininas frias, estes doentes têm uma condição de base associada como infecções, doenças autoimunes ou evidência clínica ou imagiológica de linfoma de células B ou de outras neoplasias. (Jäger et al., 2020) Assim, a avaliação da medula é recomendada ao diagnóstico. (Barcellini & Fattizzo, 2023)

In vivo, a aglutinação causada pela ligação crioaglutinina-eritrócito ocorre na circulação periférica, uma vez que está a menor temperatura, podendo causar acrocianose e fenómeno de Raynaud em alguns doentes. (A. Hill & Hill, 2018)

### 1.1.3. AHAI Mista

A AHAI mista representa cerca de 8-10% de todas as AHAI e é mediada por anticorpos quentes e por anticorpos frios. O diagnóstico é feito com um teste de Coombs positivo para IgG e Cd3 e com um título de crioaglutininas superior a 40. (Jäger et al., 2020) Esta forma tem um prognóstico mais reservado e apresenta, frequentemente, níveis de hemoglobina baixos (Berentsen & Barcellini, 2021) – 2/3 dos casos com Hb < 6 g/dL e ¼ dos casos com Hb entre 6 e 8 g/dL. (Jäger et al., 2020) Cerca de 50% dos casos são idiopáticos. Os casos secundários estão frequentemente associados a LES. (Q. A. Hill et al., 2017)

## 1.2. Abordagem Terapêutica

O tratamento da AHAI requer uma abordagem individual e depende do tipo de AHAI, da presença e gravidade da sintomatologia, da etiologia de base e da presença de comorbidades. Doentes idosos apresentam menor tolerância à anemia, pelo que requerem tratamento mais frequentemente, com maior risco de reações adversas, interações medicamentosas e toxicidade. (Michalak et al., 2020)

Para as formas primárias, em doentes com anemia leve ou hemólise compensada e ausência de sintomas, deve ser adotada uma abordagem *watch and wait*. (Berentsen, 2020; Jäger et al., 2020)

### 1.2.1. Anemia Hemolítica Autoimune Mediada por Anticorpos Quentes

#### 1.2.1.1. Primária

As terapêuticas utilizadas no tratamento da wAHAI é baseada em evidência limitada e num pequeno número de estudos prospetivos. (Barcellini & Fattizzo, 2021).

Atualmente, os corticosteroides são a primeira opção de tratamento, numa dose de 1-1,5 mg/kg/dia de prednisolona oral durante 2 a 3 semanas, com uma taxa de resposta de 80-90% num tempo médio de 7 a 25 dias. Doses mais elevadas não alcançam uma taxa de resposta superior. (Jäger et al., 2020) Perante uma resposta completa, é necessário um acompanhamento regular uma vez que apenas 30-40% dos doentes permanece em remissão clínica após 1 ano. (Barcellini et al., 2020; Berentsen & Barcellini, 2021; Barcellini & Fattizzo, 2021)

Uma vez que os efeitos adversos destes fármacos são cumulativos e a maior parte dos doentes apresenta sintomas com esta dose às 4 semanas, estes fármacos devem ser gradualmente reduzidos em doentes com resposta à terapêutica a partir das 2-3 semanas, durante cerca de 3 a 6 meses, com avaliação frequente do hemograma e parâmetros de hemólise. Não existem estudos comparativos de regimes de descontinuação de corticosteroides na wAIAH, mas há um estudo que demonstrou que a recidiva foi mais frequente quando a dose atingiu 10mg/dia ou menos em menos de 2 meses e quando a terapêutica foi descontinuada em menos de 6 meses. (Jäger et al., 2020); (Dussadee et al., 2010)

Existem outros glicocorticoides com efeito terapêutico, como a dexametasona, mas não há estudos comparativos com a prednisolona (Jäger et al., 2020)

O rituximab foi a primeira terapêutica a ser estudada para a AIAH em ensaios clínicos. (Fattizzo & Barcellini, 2022) É um anticorpo monoclonal cujo alvo é o CD20 expresso nas células B, diminuindo assim a produção de autoanticorpos. (Zeerleder, 2011) Dois estudos prospetivos randomizados estudaram a adição de rituximab à terapêutica de primeira linha (Berentsen & Barcellini, 2021), demonstrando, no grupo que recebeu os dois fármacos, uma maior taxa e duração de resposta. (Barcellini & Fattizzo, 2021) No entanto, o rituximab não está licenciado para o tratamento da wAHAI e os estudos realizados não têm um seguimento suficiente para concluir melhoria na remissão a longo prazo ou redução da necessidade de outros tratamentos. Assim, o Primeiro Grupo de Consenso Internacional para o diagnóstico e tratamento da AIAH em adultos, recomenda considerar a adição de rituximab à primeira linha na doença grave (isto é, hemoglobina inferior a 8g/dL, AIAH atípica e síndrome de Evans) ou em doentes idosos com várias comorbilidades. (Berentsen & Barcellini, 2021)

Se o doente não responder à terapêutica de primeira linha, se tiver uma recidiva precoce ou se necessitar de altas doses de prednisolona a longo prazo (acima de 10-15 mg/dia), é indicada uma terapêutica de segunda linha e aconselhada uma reavaliação diagnóstica uma vez que as wAIAH secundárias são mais frequentemente refratárias aos esteroides. (Barcellini et al., 2020). A segunda linha atualmente recomendada é o rituximab, se não tiver sido adicionada à primeira linha. Se utilizado como primeira linha, pode ser utilizado como segunda linha se tiver tido uma duração de resposta igual ou superior a 1 ano. (Jäger et al., 2020) Têm sido usadas várias posologias, com eficácia semelhante. A dose convencional é de 375 mg/m<sup>2</sup> de superfície corporal, administrado semanalmente durante 4 ciclos. Também pode ser usada uma dose de 1g nos dias 1 e 15, particularmente em doentes com wAHAI associada a outra doença autoimune. Tem uma taxa de resposta de 70 a 80%, um tempo médio de resposta de 3 a 6 semanas e recidiva de 30% em 3 anos. (Berentsen & Barcellini, 2021); (Barcellini & Fattizzo, 2023)

A terceira linha inclui esplenectomia ou imunossupressores como a azatioprina, a ciclosporina e o micofenolato. A escolha deve ser baseada nas características individuais do doente, com ponderação risco-benefício. A evidência sobre esta

imunossupressão alternativa baseia-se em pequenos estudos retrospectivos que mostram que estes fármacos podem ser eficazes. No entanto, carecem de informações mais detalhadas, como as doses a serem utilizadas ou a duração da resposta, sendo que existe uma necessidade de mais estudos comparativos e revisões sistemáticas (Jäger et al., 2020)

A esplenectomia tem uma taxa de resposta de cerca de 70%, 1/3 recidivam e 40% atingem uma remissão completa, mas a remissão a longo prazo é desconhecida. (Jäger et al., 2020) Após a esplenectomia, o risco de tromboembolismo venoso é maior em doentes com anemia hemolítica, devendo ser considerado um período maior de tromboprolifaxia pós-cirúrgica. (Jäger et al., 2020)

Tratamentos subsequentes têm pouca evidência ou uma elevada toxicidade. Assim, doentes com wAHAI refratária a três linhas terapêuticas devem ser referenciados para centros especializados e incluídos em ensaios clínicos. (Jäger et al., 2020)

Os casos de instalação aguda e com anemia severa representam um desafio uma vez que não há tempo para testar a eficácia de diferentes terapêuticas, levando a uma sobrecarga de terapêuticas sobrepostas. Nestes casos tem sido reportado uma taxa de mortalidade de até 57%, mesmo com terapêutica de resgate para situações de emergência, isto é, transfusões, bólus de corticosteroides, imunoglobulinas endovenosas, eritropoietina recombinante e plasmaferese. (Barcellini & Fatizzo, 2021).

#### 1.2.1.2. Secundária

Em algumas situações, a wAIAH é secundária a uma determinada patologia, mas noutras situações, as duas condições partilham um fundo genético, pelo que o tratamento da patologia associada nem sempre origina uma consequente melhoria da wAIAH. Assim, uma boa estratégia poderá incluir a otimização do tratamento da doença associada, em conjunto com uma terapêutica dirigida à wAIAH secundária semelhante à descrita para a wAIAH primária, sempre de forma individualizada. (Jäger et al., 2020)

### 1.2.2. Anemia hemolítica mediada por anticorpos frios

#### 1.2.2.1. Doença das aglutininas frias

A proteção térmica das porções distais do corpo é aconselhada a todos os doentes (Michalak et al., 2020) e é importante ter em consideração que é uma medida que visa melhorar a hemólise e não apenas controlar os sintomas isquémicos. (Berentsen, 2020) O objetivo do tratamento é aumentar os níveis de Hb em doentes com sintomas de anemia e, em alguns doentes, melhorar os sintomas circulatórios induzidos pela temperatura ou atingir independência transfusional. Doentes com síndrome de Raynaud severa podem necessitar de tratamento se a proteção térmica falhar e, apesar da acrocianose ser uma manifestação comum, geralmente não requer intervenção terapêutica. Ainda não é claro se o risco trombótico justifica tratamento farmacológica. (Jäger et al., 2020)

Contrariamente à wAHAI, os glicocorticoides não são recomendados na doença das aglutininas frias devido às baixas taxas de resposta e necessidade de doses elevadas inaceitáveis para manter a remissão. (Berentsen & Barcellini, 2021)

Apesar de não estar aprovado para esta indicação pela *European Medicines Agency* (EMA) ou pela *Food and Drug Administration* (FDA) e não estar disponível em todos os países, a terapêutica com rituximab em monoterapia é a mais aceite como primeira linha. (Berentsen, 2020) É utilizado na dose de 375 mg/m<sup>2</sup> de superfície durante 4 semanas em intervalos de 7 dias. (Jäger et al., 2020) Estudos prospetivos e retrospectivos mostraram uma taxa de resposta de 45 a 60% e a remissão completa foi rara. (Berentsen & Barcellini, 2021) O aumento da Hb foi, em média, 4.0 g/dL e a duração média da resposta foi inferior a 1 ano. (Jäger et al., 2020) A combinação de rituximab com bendamustina também pode ser utilizada como primeira linha em doentes *fit*. (Berentsen, 2020)

A adição de bendamustina ao rituximab constitui a segunda linha, se não tiver sido adicionado à primeira. Um estudo prospetivo demonstrou que 71% dos doentes atingiram resposta, sendo que 40% foram respostas completas (RC) e 31%, respostas parciais (RP). Nos doentes com RC, o nível de Hb aumentou, em média, 4.4 g/dL e, nos doentes com RP, aumentou, em média, 3.9 g/dL. Mais de 90% dos doentes ainda se encontraram em remissão após 32 meses. (Berentsen, 2020) Em alternativa, o rituximab em monoterapia pode ser repetido em doentes que responderam previamente à mesma terapêutica durante pelo menos 1 ano. A combinação de rituximab com

bendamustina também pode ser repetida em doentes que responderam previamente à mesma terapêutica pelo menos durante 2 anos. (Jäger et al., 2020)

Não existe evidência de terapêutica disponível para a terceira linha, pelo que os doentes devem ser incluídos em ensaios clínicos. Ensaios clínicos atuais baseiam-se no uso de inibidores do complemento a vários níveis. (Jäger et al., 2020)

Em situações de emergência, devido a hemólise e anemia severas, pode-se recorrer a transfusões sanguíneas, preferencialmente com sangue aquecido, ao Eculizumab, que bloqueia a via terminal do complemento e a hemólise intravascular, e a plasmaferese. Estas opções representam uma ponte para os tratamentos a longo prazo. (Jäger et al., 2020)

#### 1.2.2.2. Síndrome das Aglutininas Frias

Não existe terapêutica baseada na evidência disponível para a síndrome das aglutininas frias, com exceção do tratamento da causa de base. (Jäger et al., 2020)

#### 1.2.2.3. AHAI Mista

O tratamento inclui corticosteroides e rituximab. Uma vez que esta forma é caracterizada por um início severo e é frequentemente refratária ou apresenta recidivas frequentes às diversas terapêuticas, deve-se considerar incluir estes doentes em ensaios clínicos. A esplenectomia não parece ser eficaz e, por isso, não é aconselhada. (Jäger et al., 2020)

## 2. Enzimopatias

### 2.1. Défice de G6PD

O défice da glicose-6-fosfato (G6PD) é a deficiência enzimática mais comum a nível mundial (Jennifer E. Frank, 2005), estando presente em cerca de 400 milhões de pessoas. (Harcke et al., 2019) Em Portugal apresenta uma prevalência baixa, estimada em 0,51% (Dias et al., 2013) e é mais frequente em África, Ásia, Mediterrâneo, Médio Oriente e América Latina. (Harcke et al., 2019) A prevalência deste défice correlaciona-se com a distribuição geográfica da malária, sendo que o mesmo poderá conferir

proteção parcial para esta infeção, apesar de ainda não estar estabelecida uma ligação clara entre os dois. (Jennifer E. Frank, 2005)

É uma doença genética hereditária recessiva ligada ao cromossoma X e resulta de mutações no gene da G6PD, que se localiza na porção distal do braço longo do cromossoma X. Assim, a expressão da doença é mais comum em homens (hemizigóticos) devido ao processo de ionização do cromossoma X nas mulheres heterozigóticas. Este último é o genótipo mais comum, sendo raro o genótipo de mulheres homozigóticas. Inativações completas desta enzima não são compatíveis com a vida. (Harcke et al., 2019) No caso clínico 3, temos o exemplo da expressão da doença no sexo feminino.

A G6PD é uma enzima importante para o metabolismo *redox* de todas as células aeróbicas (Loscalzo et al., 2022), catalizando a nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP) na sua forma reduzida, a nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidase (NADPH), através da via dos fosfatos de pentose (Jennifer E. Frank, 2005). No eritrócito, esta enzima é crítica uma vez que é a única fonte de NADPH. A conversão de NADP em NADPH é essencial na formação de glutathione, um antioxidante importante que ajuda a proteger os eritrócitos do stress oxidativo. Assim, se há um défice de G6PD, os eritrócitos estão mais vulneráveis a hemólise causada por radicais livres e espécies reativas de oxigénio (ERO) geradas por stressores. (Harcke et al., 2019)

A grande maioria dos doentes com défice de G6PD mantém-se assintomática ao longo da sua vida, mas com um risco aumentado de desenvolver AH aguda, quando expostos a determinados *triggers*, nomeadamente infeções, determinados fármacos e determinados alimentos (como favas). (Loscalzo et al., 2022)

Tipicamente, a anemia é normocítica e normocrómica, e pode variar de moderada a muito severa. Os sintomas típicos incluem astenia e dor abdominal ou lombar, seguindo-se, dentro de horas a 2/3 dias, de icterícia e urina escura. A hemólise é essencialmente intravascular, que se traduz por hemoglobinúria, aumento da LDH e diminuição da haptoglobina, mas também existe um componente extravascular significativo, que leva ao aumento da bilirrubina total à custa da não conjugada. (Loscalzo et al., 2022)

No ESP podemos observar anisocitose, policromasia e esferócitos, sendo típico desta deficiência a presença de *bite cells* e *hemighosts*. (Loscalzo et al., 2022). A coloração com violeta de metila pode mostrar corpos de Heinz, mas atualmente é raramente realizada. (Luzzatto & Arese, 2018)

Em doentes com déficit de G6PD, as infeções são uma causa importante de AH aguda (Jennifer E. Frank, 2005), que pode ser muito severa neste contexto. A resposta inflamatória à infeção gera ERO, às quais as células com este déficit são vulneráveis. (Harcke et al., 2019) Se o quadro melhorar quando a infeção é controlada, podemos estar confiantes de que este foi o *trigger*. (Luzzatto et al., 2020). Foram reportados casos de pneumonia, brucelose, rickettsiose, abscessos maxilares por *Streptococcus spp.* ou *Staphylococcus spp.*, infeção por *Clostridium difficile* (Luzzatto et al., 2020), *Salmonella* e *Escherichia coli* (Jennifer E. Frank, 2005), hepatites virais (A, B e E), infeção por CMV e Influenza A. (Luzzatto et al., 2020)

Uma vez que determinados fármacos também constituem um *trigger* comum, estão organizados segundo o seu risco relativo de anemia hemolítica, como podemos consultar na tabela 2. (Harcke et al., 2019)

As favas contêm altas concentrações de dois  $\beta$ -glicosídeos. Após ingestão sofrem hidrólise pelas  $\beta$ -glicosidasases presentes no trato gastrointestinal, libertando divicina e isouramil, compostos *redox* altamente reativos. Na corrente sanguínea, produzem espécies reativas de oxigénio, como o ião superóxido e o peróxido de hidrogénio. Em eritrócitos normais, o peróxido de hidrogénio é convertido em água e oxigénio por reações enzimáticas dependentes de NADPH. Como já vimos anteriormente, num eritrócito com déficit de G6PD, como o NADPH está diminuído, a célula está sujeita a um dano oxidativo severo. (Luzzatto & Arese, 2018)

Para além das favas, outros alimentos e produtos podem constituir *triggers* de hemólise no déficit de G6PD, como é o caso de outros tipos de leguminosas, água tónica, mentol, naftalina, cânfora e *henna*. (Harcke et al., 2019)

O diagnóstico é feito pelo doseamento do nível de atividade da G6PD no sangue (Dias et al., 2013). Na hemólise aguda este resultado pode ser falso negativo, uma vez que os eritrócitos mais velhos, que apresentam maiores défices, são os primeiros a ser

hemolisados e os novos eritrócitos e os reticulócitos, aumentados pela resposta compensatória, apresentam níveis próximos do normal da atividade desta enzima. (Jennifer E. Frank, 2005)

O tratamento da AH neste contexto depende do nível de anemia, sendo que, por vezes, apenas a evicção do *trigger*, quando este corresponde a um fármaco ou a um alimento, ou o tratamento da infeção de base, podem ser suficientes. Em determinados casos pode ser necessário realizar fluidoterapia endovenosa ou transfusões sanguíneas (Harcke et al., 2019), como foi o caso da doente do caso clínico 3.

Na abordagem do défice de G6PD subsequente, a melhor estratégia é a evicção da exposição aos agentes oxidativos stressores. (Jennifer E. Frank, 2005) Assim, a educação do doente para evicção de *triggers* e para o reconhecimento dos sinais e sintomas da anemia hemolítica é essencial, particularmente em casos mais severos. Os hábitos alcoólicos e tabágicos, a inatividade física e uma dieta pouco equilibrada podem contribuir para aumentar o stress oxidativo, pelo que manter estilo de vida saudável pode também prevenir complicações. (Harcke et al., 2019)

## 2.2. Défice de Piruvato Cinase (PK)

O défice de PK, apesar de raro, é o défice enzimático mais comum da via glicolítica e também o mais comum associado a anemia hemolítica crónica. Apresenta uma prevalência estimada de 3-8 casos por 1 000 000 de pessoas. (Grace & Barcellini, 2020) Tem mostrado ter um efeito protetor contra a replicação do *Plasmodium falciparum* em células *ex vivo* de doentes com défice de PK (Grace et al., 2019), apesar de ainda não ser claro se os alelos PKLR mutantes são mais prevalentes em áreas endémicas de malária (Bianchi et al., 2019)

O défice de PK é uma doença hereditária autossómica recessiva e, portanto, a história familiar geralmente não é reveladora, com exceção de história de abortos ou de irmãos afetados. (Grace et al., 2019) A mutação está localizada no gene PKLR, localizado no cromossoma 1q21. (Grace & Barcellini, 2020)

A PK catalisa a conversão de fosfoenolpiruvato a piruvato, com produção de uma molécula de adenosina trifosfato (ATP), uma reação irreversível que constitui o último

passo da via glicolítica. O eritrócito maduro é completamente dependente da glicólise para a produção de ATP uma vez que não apresenta atividade mitocondrial. Assim, o déficit de PK e a consequente depleção de ATP contribui para a inviabilidade das células (Bianchi et al., 2019), com perda de plasticidade da membrana, desidratação e destruição precoce do eritrócito no baço ou fígado. (Grace & Barcellini, 2020)

Existem quatro isoenzimas da PK, codificados por dois genes, o PKLR, que codifica as isoenzimas PK-R e PK-L, e o PKM, que codifica as isoenzimas PK-M1 e PK-M2. A PK-M2 é a isoenzima predominante dos precursores eritroides. Durante a diferenciação eritroide, é progressivamente substituído pela PK-R. Assim, como os eritrócitos são dependentes da glicólise e apenas têm PK-R, são afetados pela doença. Já no fígado, por exemplo, a isoenzima major dos hepatócitos maduros é a PK-L, mas este geralmente não é afetado por este déficit uma vez que tem capacidade de síntese proteica e atividade residual de PK-M2. (Grace & Barcellini, 2020)

A apresentação é muito variável e varia desde hemólise totalmente compensada até AH sintomática com necessidade de transfusões regulares. (Bianchi et al., 2019) Casos severos são diagnosticados em idades precoces devido a complicações intrauterinas, icterícia neonatal (59-90%) e necessidade de transfusões sanguíneas. Alguns indivíduos com formas mais ligeiras podem ser apenas diagnosticados na idade adulta. (Fattizzo et al., 2022) Neste trabalho, esta doença será abordada nesta idade.

Manifestações comuns incluem AH (90-95% dos casos), esplenomegalia (80%), icterícia (40-70%) e litíase biliar (30-45%). Manifestações mais raras incluem crises aplásticas (2-14%), deformações ósseas (9%), eritropoiese extramedular (9%), atraso pubertário (8%), hiperpigmentação cutânea (6%), úlceras dos membros inferiores e hipertensão pulmonar (2-3%). A ferritina está frequentemente aumentada, independentemente da dependência transfusional. (Fattizzo et al., 2022)

Em adultos, o nível de anemia é relativamente constante, com risco de exacerbações perante infeções agudas ou gravidez. (Bianchi et al., 2019)

Os achados laboratoriais, incluindo o ESP, não são específicos pelo que o déficit de PK deve ser considerado em todos os doentes com AH crónica após excluir outras causas de AH. (Bianchi et al., 2019) Após descartar alternativas, o diagnóstico é feito

com a demonstração da atividade de PK reduzida e detecção de mutações no gene PKLR. (Grace & Barcellini, 2020)

Não existe uma correlação clara entre a gravidade do fenótipo clínico e os níveis de atividade da PK em ensaios *in vitro*, sendo que doentes com apresentação clínica leve e indivíduos portadores heterozigóticos podem apresentar níveis significativamente reduzidos desta enzima. Para além disso, há indivíduos com níveis normais de atividade enzimática que são homozigóticos ou heterozigóticos compostos para mutações do gene PKLR. É também importante ter em consideração que uma diminuição dos níveis de PK pode ser também observada na leucemia mieloide aguda e síndromes mielodisplásicas. Por estas razões anteriores, mesmo quando se verifica baixa atividade enzimática, a genotipagem do gene PKLR é recomendada para confirmação do diagnóstico. (Grace et al., 2019)

A abordagem terapêutica baseia-se em tratamento de suporte com transfusões de concentrado eritrocitário (CE) e na esplenectomia. (Grace et al., 2019)

No défice de PK não existe um valor definido de hemoglobina a partir do qual se deve realizar uma transfusão. Esta decisão baseia-se na tolerância individual e impacto na qualidade de vida, sendo que a anemia pode ser bem tolerada por alguns indivíduos devido ao aumento do nível de 2,3-Difosfoglicerato (2,3-DPG) no eritrócito – um produto a montante da via glicolítica que se acumula devido ao défice de PK e provoca um desvio direito na curva de dissociação hemoglobina-oxigénio. Com a idade, os níveis de hemoglobina anteriormente tolerados podem começar a causar sintomatologia significativa com necessidade de transfusão. No entanto, estas tornam-se menos frequentes na idade adulta quando comparado com a infância, provavelmente relacionado com a diminuição da frequência de infeções virais e com o *timing* da esplenectomia. (Grace et al., 2019)

Apesar do melhor *timing* para esplenectomia ser entre os 5-18 anos, pode ser considerada em adultos entre os 18-65 anos que recebam transfusões frequentes e que apresentem sintomatologia diária. (Grace & Barcellini, 2020) Esta abordagem está associada um aumento médio de Hb de 1.6 g/dL e redução da necessidade de transfusões, mas deve ser ponderada tendo em conta o benefício vs o aumento do risco

de infecções e eventos trombóticos associados à esplenectomia, com necessidade de otimização vacinal, antibioterapia profilática e tromboprolifaxia. (Fattizzo et al., 2022)

Existem terapêuticas em desenvolvimento clínico com o potencial de atuar diretamente na expressão e atividade da PK e alterar o fenótipo destes doentes, nomeadamente a terapêutica génica e um ativador de PK oral, o mitapivat. (Fattizzo et al., 2022)

### 3. Defeitos de Membrana Hereditários

Têm sido identificados vários tipos de distúrbios eritrocitários devido a alterações da membrana hereditários e a esferocitose hereditária (EH), também conhecida por doença de Minkowski Chauffard, é a anemia hemolítica hereditária mais comum causada por este tipo de defeito, sendo abordada ao longo deste trabalho. (Costa et al., 2013)

#### 3.1. Esferocitose Hereditária (EH)

A EH tem uma prevalência de 1 : 2000-3000, que é provavelmente mais elevada devido a casos ligeiros que não são diagnosticados. É mais frequentemente diagnosticada na Europa e América do Norte, e cerca de 75% dos casos são transmitidos de forma autossómica dominante. (L. Da Costa et al., 2013)

Resulta de mutações em genes que codificam proteínas da membrana eritrocitária. As proteínas mais comuns incluem a anquirina, banda 3, proteína 4.2, espectrina  $\alpha$  e espectrina  $\beta$ , resultando numa membrana intrinsecamente instável, que perde as ligações entre a bicamada fosfolipídica e a membrana celular. Isto leva a uma célula de forma mais esférica e menos bicôncava, com menor deformabilidade celular. Os esferócitos pouco deformáveis ficam sequestrados no baço e são fagocitados pelos macrófagos, originando anemia e esplenomegália. A gravidade da doença está diretamente relacionada com a área de membrana afetada e a consequente gravidade da esferocitose. (L. Da Costa et al., 2013) As manifestações clínicas e gravidade da doença dependem do tipo de proteína envolvida. Por exemplo, defeitos na espectrina  $\alpha$  estão mais associados a anemia severa, enquanto que doentes com defeitos nas

proteínas anquirina, banda 3 e proteína 4.2 têm geralmente anemia ligeira a moderada. (Wu et al., 2021)

Os sintomas típicos incluem anemia, icterícia e esplenomegália. Complicações comuns incluem a litíase biliar e crises aplásticas após infeção por parvovírus B19, que leva à perda do mecanismo de compensação de hemólise, com consequente anemia grave. (Manciu et al., 2017)

Tendo em conta o nível de Hb e a contagem de reticulócitos, pode ser classificada em ligeira, moderada e grave. Para além destas formas, temos ainda os portadores assintomáticos, com níveis de Hb e contagem de reticulócitos (<3%) normais. A forma ligeira manifesta-se por hemólise bem compensada, com níveis de Hb normais ou próximos do normal (110-150 g/L) e um ligeiro aumento de reticulócitos (< a 6%). Indivíduos com EH ligeira são, muitas vezes, apenas diagnosticados na idade adulta devido às complicações de hemólise crónica, como é o exemplo da litíase biliar. A forma moderada (60% dos casos) apresenta níveis de Hb entre 80 e 120 g/L e um aumento da contagem de reticulócitos superior a 6%. Apresenta esplenomegália palpável em cerca de 50% das crianças e 75-95% dos adultos. A forma grave (10% dos casos) apresenta níveis de Hb entre 60 e 80 g/dL e reticulocitose superior a 10%, com necessidade de transfusões intermitentes de CE para controlo da anemia. A maioria dos casos graves tem um padrão de hereditariedade recessivo. (Narla & Mohandas, 2017)(Wu et al., 2021)

Segundo as guidelines desenvolvidas por Bolton-Maggs et al. (2012), doentes com história familiar positiva de EH, manifestações clínicas características e achados laboratoriais com esferocitose, concentração de hemoglobina corpuscular média (MCHC) aumentada e contagem de reticulócitos aumentada, não necessitam de mais investigação e o diagnóstico pode ser estabelecido. Se estes critérios não forem cumpridos, e após excluir outras causas de hemólise, investigações subsequentes são necessárias. (Bolton-Maggs et al., 2012)

Wu et al (2021) propõe um novo protocolo prático para o diagnóstico desta membranopatia. Perante manifestações clínicas típicas e resultados laboratoriais compatíveis com anemia hemolítica, alguns testes laboratoriais sugestivos desta

patologia devem ser avaliados. Acrescenta aos parâmetros hematológicos, testes como o volume celular esférico médio (MSCV), volume corpuscular médio (MCV) e volume médio dos reticulócitos (MRV). Um doente com um número de esferócitos aumentado no ESP, MRV diminuído ( $\leq$  a 95.77 fL) e MSCV inferior ao MCV, pode ser diagnosticado inicialmente com EH. O nível de MCHC pode estar normal ou aumentado. O diagnóstico pode ser confirmado se houver história familiar positiva ou se a investigação familiar revelar resultados semelhantes. À semelhança das guidelines de Bolton-Maggs et al. (2012), se os critérios não forem cumpridos, é necessário considerar o diagnóstico diferencial e, após excluir alternativas (teste de Coombs e determinação do défice de G6PD), realizar outros testes.

O diagnóstico desta patologia pode apresentar algumas dificuldades, com consequente falta ou erros de diagnóstico associados: a história familiar é muito importante neste contexto, mas quando os pais são portadores assintomáticos ou apresentam doença ligeira sem sintomas óbvios, esta pode ser reportada como negativa; os sintomas típicos incluem anemia, icterícia e esplenomegália, e uma complicação comum inclui a litíase biliar, o que é semelhante a outros tipos de anemia hemolítica; a esferocitose no ESP não é específica nem sensível, podendo também estar presente, por exemplo, no défice de G6PD e na AHAI, e cerca de 20% dos doentes com EH não apresentam este achado; testes laboratoriais, como o MCHC, não são suficientemente específicos ou sensíveis. (Wu et al., 2021)

Em situações em que o diagnóstico é difícil, testes genéticos e outros testes de rastreio (teste de fragilidade osmótica (TFO), *Eosin-5'-maleimide (EMA) binding test* (EMABT) e *Acidified glycerol lysis test* (AGLT), teste de Coombs, determinação de G6PD) podem confirmar o diagnóstico. O EMABT apresenta uma maior sensibilidade (90-95%) e especificidade (95-99%). (Wu et al., 2021) As guidelines do International Council for Standardization in Hematology (ICSH) sugerem combinar os diferentes testes. (King et al., 2015) A combinação preferencial varia entre os autores.

A esplenectomia é considerada o tratamento cirúrgico *standard* em formas moderadas e severas. É indicada, particularmente em crianças, com crises hemolíticas recorrentes, esplenomegália significativa, crises aplásticas severas, colelitíase e atraso

no desenvolvimento mental. Devido ao risco de infeções potencialmente fatais ao longo de toda a vida pós-esplenectomia total, uma alternativa viável nesta patologia é a esplenectomia parcial, que procura manter a função imunológica do baço e diminuir simultaneamente a taxa de hemólise, com diminuição consequente dos sinais e sintomas associados (exceto nas formas autossómicas recessivas). Apesar disso, esta abordagem não corrige o defeito da membrana. Em crianças com idade inferior a 5 anos, o risco de sepsis pós-esplenectomia aumenta de 60 a 100 vezes quando comparado com crianças sem esplenectomia, pelo que, se possível esta intervenção deve ser adiada até aos 6 anos. Os *outcomes* a longo prazo não são claros, mas a maior parte dos estudos mostrou redução da taxa de transfusões. (Manciu et al., 2017)

#### 4. Defeitos de Membrana Adquiridos

##### 4.1. Hemoglobinúria Paroxística Noturna (HPN)

A HPN é uma anemia hemolítica crónica que se caracteriza por hemólise intravascular persistente, com exacerbações ocasionais ou recorrentes. Apresenta uma tríade que inclui hemólise, insuficiência medular e trombose venosa, nem todas sempre presentes. (Loscalzo et al., 2022)

Apesar de rara, está presente em todo o mundo, com a mesma frequência entre homens e mulheres, e uma prevalência estimada de cerca de 5 : 1 000 000. (Loscalzo et al., 2022) Apenas 5-10% dos doentes são pediátricos (Bravo-Perez et al., 2023) e a maioria dos doentes são jovens adultos, podendo apresentar-se também em crianças pequenas ou em idosos. (Loscalzo et al., 2022)

É uma condição rara e adquirida, que tem origem numa mutação esporádica no gene PIGA (fosfatidilinositol glicano A). Ocorre numa única célula estaminal hematopoiética, que se multiplica e origina clones de eritrócitos anormais que não apresentam as proteínas reguladoras do complemento CD59 e CD55, cuja função é proteger os eritrócitos da lise mediada pelo complemento. Esta hemólise pode resultar em complicações ameaçadoras de vida, como a anemia e a trombose venosa. (Bektas et al., 2020)

Nem todos os doentes afetados exibem sintomas (Wing & Schiffman, 2022) e a HPN apresenta-se, frequentemente, apenas como uma hipótese no diagnóstico diferencial de anemia hemolítica, sintomática ou como achado incidental. (Loscalzo et al., 2022) Apesar da hemólise contínua, os doentes podem experienciar exacerbações agudas (os paroxismos) durante períodos de infeção, trauma e stress. (Wing & Schiffman, 2022)

Os sintomas clássicos observados nesta doença ocorrem principalmente devido à hemólise crónica, predominantemente intravascular. Assim, os doentes apresentam sintomas típicos de anemia, sendo a fadiga o sintoma mais comum, que ocorre em cerca de 80.9% dos doentes. Outros sintomas comuns incluem a hemoglobinúria (45%), dispneia (45.3%), disfunção renal (42.8%), dor abdominal (35.2%), disfunção erétil (24.2%), disfagia (16.5%) e trombose (13.3%). (Bektas et al., 2020)

A hemólise intravascular liberta Hb livre na corrente sanguínea, originando hemoglobinúria e AH. (Waheed et al., 2024) A observação da urina escura, ocorre mais frequentemente durante a noite ou de madrugada, devido ao aumento da concentração da urina durante o sono. (Wing & Schiffman, 2022) A Hb livre, liga-se de forma irreversível ao óxido nítrico (NO) e reduz a sua síntese, ocorrendo uma depleção local que leva a dispneia, distonia do músculo liso e trombose por ativação de plaquetas, citocinas inflamatórias e disfunção endotelial. A sobreativação do complemento também pode levar a trombose uma vez que aumenta a produção de citocinas inflamatórias e causa ativação da trombina. (Waheed et al., 2024) Assim, o risco de trombose está relacionado com a gravidade da hemólise intravascular e com a proporção de clones de eritrócitos anormais. Esta é uma causa significativa de morbidade e mortalidade, sendo a principal causa de morte, responsável por cerca de 50% de mortalidade em doentes não tratados. (Bektas et al., 2020)

Os locais mais comuns de trombose incluem o fígado (veia porta), abdómen (veias porta, mesentérica e esplénica) e cérebro (seios cavernoso e sagital). (Bektas et al., 2020) Quando a trombose ocorre na veia hepática, pode originar hepatomegalia aguda e ascite, ou seja, uma síndrome de Budd-Chiari. Assim, deve-se suspeitar de HPN perante esta síndrome na ausência de doença hepática. (Loscalzo et al., 2022)

A HPN também pode originar déficit de ferro e lesão de órgão-alvo, incluindo doença renal crônica e hipertensão pulmonar. A doença renal crônica corresponde à segunda causa de morte em doentes não tratados, representando cerca de 8-18% das mortes. (Waheed et al., 2024)

Laboratorialmente, o achado mais consistente corresponde à anemia, que pode variar desde ligeira a muito severa. A anemia é, geralmente, normocítica e normocrômica, mas pode tornar-se microcítica se ocorrer um déficit de ferro secundário à perda crônica através da hemoglobinúria. A bilirrubina não conjugada está elevada de forma ligeira ou moderada, a haptoglobina é indoseável e a LDH está tipicamente muito aumentada (Loscalzo et al., 2022), até 10 vezes o limite superior da normalidade. (Bektas et al., 2020) A hemoglobinúria pode variar de dia para dia ou mesmo de hora para hora, pelo que pode ser necessário obter várias amostras de urina seriadas. O ESP não apresenta alterações típicas. (Loscalzo et al., 2022)

Os sintomas inespecíficos e variáveis causam frequentemente atrasos no diagnóstico. O diagnóstico definitivo baseia-se na demonstração de que uma proporção substancial de eritrócitos apresenta suscetibilidade aumentada ao complemento devido ao déficit de CD59 e CD55. O goldstandard é a citometria de fluxo, que apresenta elevada sensibilidade e especificidade. (Shah and Bhatt, 2023) O diagnóstico é feito quando se verifica a alteração em pelo menos 5% do total de eritrócitos e pelo menos 20% do total de granulócitos. (Loscalzo et al., 2022)

As terapêuticas atuais baseiam-se na inibição da via do complemento para prevenir a hemólise e os eventos tromboembólicos. Atualmente estão aprovados, pela FDA, dois inibidores de C5, o eculizumab e o ravulizumab, e um inibidor de C3, o pegcetaclopan. (Waheed et al., 2024)

Antes da aprovação do Eculizumab, as opções de tratamento limitavam-se ao tratamento de suporte e transplante alogénico de células estaminais. (Waheed et al., 2024)

O Eculizumab, aprovado para o tratamento da HPN pela FDA em 2007 (Bektas et al., 2020), é um anticorpo monoclonal contra C5, que bloqueia a sinalização terminal do complemento. Assim, reduz a hemólise intravascular, levando a uma menor incidência

de anemia, tromboembolismo e necessidade de transfusões. É um fármaco bem tolerado e administrado por via endovenosa. O esquema utilizado inclui a indução, com uma dose de 600 mg por semana durante 4 semanas, seguindo-se de uma dose de manutenção de 900 mg a cada  $14\pm 2$  dias, que se inicia na semana 5. (Waheed et al., 2024)

O Ravulizumab é uma versão modificada do Eculizumab, aprovado pela FDA para o tratamento da HPN em 2018. Demonstrou não ser inferior ao Eculizumab, com efeitos e segurança semelhantes. Pode ser administrado por via endovenosa e tem uma semivida maior, que permite um maior intervalo de tempo entre infusões. O esquema endovenoso utilizado depende do peso corporal: inclui uma dose de carga de 2400 mg (doentes com menos de 60 kg), 2700 mg (entre os 60 e os 100kg) ou 3000 mg (mais de 100kg); é seguida de uma dose de manutenção duas semanas depois e a cada 8 semanas, que corresponde a uma dose de 3000 mg (menos de 60 kg), 3300 mg (entre os 60 e os 100 kg) ou 3600 (mais de 100kg). Recentemente surgiu uma formulação subcutânea que pode ser utilizada por indivíduos com mais de 40 kg e administrada pelo próprio, numa dose semanal de 490 mg. (Waheed et al., 2024)

Avanços no tratamento da HPN contribuíram para a melhoria da qualidade de vida destes doentes, mas cerca de 25-50% não experienciam controlo hematológico ou sintomático. Apesar da terapêutica com inibidores de C5 reduzir a hemólise intravascular, a hemólise extravascular continua a ocorrer uma vez que estes fármacos não impedem a opsonização e fagocitose dos eritrócitos, contribuindo para a persistência de anemia residual, fadiga e dependência transfusional em alguns doentes. Neste contexto, surgiu o Pegcetaclopan, aprovado no tratamento da HPN pela FDA em 2021. (Waheed et al., 2024)

O Pegcetaclopan é um inibidor de C3, isto é, um inibidor proximal da via do complemento, permitindo o controlo da hemólise intravascular e extravascular ao impedir a ativação terminal do complemento e a opsonização dos eritrócitos com déficit. É administrado duas vezes por semana numa dose de 1080 mg subcutânea, que pode ser administrada pelo próprio. Mostrou ser superior ao Eculizumab na melhoria dos níveis de Hb e no aumento da independência transfusional, e apresenta o mesmo perfil de segurança que os inibidores de C5. (Waheed et al., 2024)

É difícil determinar o *burden* da HPN uma vez que os dados a longo prazo das terapêuticas aprovadas recentemente são limitados. No caso do pegcetaclopan, apesar desta terapêutica ter mostrado melhoria nos *outcomes*, as consequências a longo prazo da inibição completa do complemento ainda não estão bem esclarecidas. (Waheed et al., 2024)

## 5. Hemoglobinopatias

As hemoglobinopatias representam as doenças hereditárias mais comuns em todo o mundo. Têm uma transmissão autossômica recessiva e resultam de mutações em genes responsáveis pela síntese das cadeias de globina. (Costa et al., 2016) São classificadas em duas categorias: qualitativas, quando há síntese de uma globina estruturalmente anormal (Hb variantes); ou quantitativas, quando há desequilíbrio da produção de globinas estruturalmente normais. (Forget & Bunn, 2013) As hemoglobinopatias mais comuns em Portugal, com maior incidência no centro e sul do país, são a drepanocitose e a  $\beta$ -talassémia (Martins et al., 1993), pelo que serão os distúrbios da Hb abordados neste trabalho. Tal como o défice de G6PD, têm origem em áreas endémicas de malária (Wing & Schiffman, 2022), com uma distribuição atual heterogênea devido a fenómenos migratórios. (Costa et al., 2016)

### 5.1. Anemia de Células Falciformes

O síndrome falciforme mais comum corresponde à anemia de células falciformes ou drepanocitose, que é definida pela homozigotia para o alelo HbS. Resulta de uma mutação no gene que codifica a globina- $\beta$ , com substituição do ácido glutâmico, hidrofílico, por uma valina, hidrofóbica, na posição 6. Esta alteração origina a Hb S, que é menos solúvel e mais suscetível a polimerização e precipitação, levando a um afoçamento/falciformação dos eritrócitos e originando as células falciformes. Este afoçamento é mais suscetível em situações de desidratação, hipoxia, acidose e grandes altitudes. É um processo reversível inicialmente, com dano permanente perante ciclos repetidos. As células falciformes, com alterações de adesão da membrana, interagem com as células do endotélio e outras células sanguíneas, levando a oclusão de pequenos

e grandes vasos. (Wing & Schiffman, 2022) Estas têm também um tempo de vida inferior a 20 dias, sofrendo hemólise intra e extravascular. (Loscalzo et al., 2022)

A drepanocitose deve ser suspeitada perante anemia hemolítica e ESP com eritrócitos alongados em forma de crescente. O *goldstandard* para o diagnóstico definitivo inclui a eletroforese de hemoglobinas. (Loscalzo et al., 2022)

As complicações agudas estão associadas aos fenómenos vaso-oclusivos. As mais comuns incluem crises dolorosas, síndrome torácica aguda, eventos cerebrovasculares (causa *major* de morbidade), crises aplásicas, enfartes microvasculares esplênicos com aumento da suscetibilidade a infeções por organismos capsulados, particularmente osteomielite por *Salmonella spp.*. Uma vez que cada vez mais doentes sobrevivem até à idade adulta, episódios vaso-oclusivos repetidos originam complicações crónicas. A insuficiência renal e pulmonar são as principais causas de morte em adultos com drepanocitose. Outras manifestações crónicas incluem úlceras crónicas da pele, retinopatia, disfunção hepática e litíase vesicular. (Wing & Schiffman, 2022)

A hidroxiureia, aprovada pela FDA para adultos em 1998 e para crianças em 2017, continua a representar o pilar da terapêutica modificadora da doença das células falciformes, ao induzir a produção de Hb fetal. Recentemente foram aprovados três novos tratamentos: L-glutamina e crizanlizumab para reduzir as complicações agudas; e o voxelotor para melhorar a anemia. (Brandow & Liem, 2022)

O transplante de células estaminais hematopoiéticas mostrou uma taxa de sobrevivência a 5 anos livre de eventos e uma sobrevivência global de 91% e 93% respetivamente. Apesar disto, a disponibilidade de dadores compatíveis é limitada. (Brandow & Liem, 2022)

## 5.2. $\beta$ -Talassemia

A talassemia é causada por mutações que levam a uma diminuição da globina  $\alpha$  ou  $\beta$ , originando um excesso relativo da cadeia não afetada. Tem um amplo espetro de gravidade clínica, pelo que foi anteriormente classificada em talassemia *minor*, talassemia intermédia e talassemia *major*. Em 2012, foi adotada uma nova terminologia

pela Federação Internacional da Talassémia, que organiza a classificação em talassémia dependente de transfusão (TDT) e talassémia não dependente de transfusão (TNDT). (Viprakasit & Ekwattanakit, 2018)

A  $\beta$ -talassémia ocorre geralmente devido a uma mutação pontual no gene da globina  $\beta$ , que leva à diminuição ( $\beta^+$ ) ou ausência ( $\beta^0$ ) da síntese de globina  $\beta$ , gerando um desequilíbrio de proporção entre as globinas. Deste modo, a produção de tetrâmeros de HbA ( $\alpha_2\beta_2$ ) fica comprometida, manifestando-se por hipocromia, microcitose e células em alvo. Para além disso, a globina  $\alpha$ , em excesso, não emparelhada, é instável e precipita no eritroblasto em desenvolvimento, causando oxidação da membrana e dano. Assim, a principal causa de anemia é a eritropoiese ineficaz. Alguns eritrócitos, menos deformáveis, entram na circulação periférica, sofrendo hemólise intra e extravascular. A anemia severa leva ao aumento da eritropoietina pelo rim e da atividade eritropoiética extramedular, originando deformidades ósseas e massas extramedulares. (Loscalzo et al., 2022) A hematopoiese ineficaz estimula o aumento da absorção de ferro intestinal, com possível acumulação em órgãos como o fígado e o coração. (Wing & Schiffman, 2022)

Estão descritas mais de 100 mutações associadas à  $\beta$ -talassémia, que se reflete na variabilidade do espectro clínico da doença. Pode ser classificada em  $\beta$ -talassémia *minor* ( $\beta$ -Tm), intermedia ( $\beta$ -Ti) e *major* ( $\beta$ -TM). A hipocromia e microcitose caracterizam todas as formas de  $\beta$ -talassémia. Por esta razão, é importante excluir défice de ferro nestes doentes. (Loscalzo et al., 2022). Níveis séricos de ferritina normais ou aumentados favorecem o diagnóstico de talassémia (Figura 1) e o restante estudo do ferro deve ser realizado. (Baird et al., 2022)

A  $\beta$ -TM, diagnosticada na infância entre os 6 e os 24 meses (Baird et al., 2022), resulta da homozigotia  $\beta^0$ , originando AH grave e eritropoiese ineficaz com consequente hiperabsorção de ferro, sendo os doentes dependentes de transfusão desde o nascimento. (Wing & Schiffman, 2022) Os achados clínicos clássicos são apenas encontrados em países em desenvolvimento, onde programas de transfusões sanguíneas a longo prazo não estão disponíveis. As crianças que não são corretamente

tratadas podem manifestar atrasos no crescimento, icterícia, palidez, hepatoesplenomegália, úlceras nas pernas, massas extramedulares e alterações esqueléticas. Sem tratamento, estes indivíduos morrem na primeira ou segunda década de vida. (Origa, 2017)

A  $\beta$ -TI tem dois alelos  $\beta$ -talassémicos, mas pelo menos um deles corresponde a uma mutação  $\beta^+$  leve. Apresenta-se mais tarde do que a  $\beta$ -TM (Origa, 2017), manifesta-se por AH crónica (Wing & Schiffman, 2022), mas mais leve do que na  $\beta$ -TM (Origa, 2017), e por eritropoiese ineficaz com conseqüente hiperabsorção de ferro. (Wing & Schiffman, 2022) Por definição, estes doentes não são dependentes de transfusões, podendo necessitar apenas ocasionalmente das mesmas. Por vezes, estes indivíduos são completamente assintomáticos até à idade adulta. Os achados clínicos incluem palidez, icterícia leve a moderada, colelitíase, hepato e esplenomegalia, alterações ósseas moderadas a severas, úlceras nas pernas, massas extramedulares, tendência para desenvolver osteopenia, osteoporose e complicações trombóticas. A siderose miocárdica é rara. Sem tratamento apropriado, a incidência de comorbilidades associadas aumenta com a idade. Apesar do aumento do ferro ser mais lento na  $\beta$ -TI do que na  $\beta$ -TM, estes doentes podem desenvolver complicações hepáticas, endócrinas e cardíacas semelhantes. (Origa, 2017)

A  $\beta$ -Tm ou traço  $\beta$ -talassémico é causada por heterozigotia  $\beta^+$ . Estes doentes são assintomáticos e podem apresentar, por vezes, anemia microcítica hipocrómica ligeira. (Origa, 2017)

Relativamente à abordagem diagnóstica das talassémias, a avaliação inicial inclui um hemograma completo, ESP, parâmetros de hemólise e estudo da cinética do ferro. O ESP mostra, tipicamente, microcitose, hipocromia, poiquilócitos e células em alvo. É também importante realizar eletroforese de hemoglobinas com quantificação de HbA, HbA<sub>2</sub> e HbF. O teste genético permite confirmar o diagnóstico e identificar as mutações relacionadas com a gravidade da doença. (Baird et al., 2022)

O tratamento depende da classificação da talassémia em TDT ou TNDT. Os objetivos incluem manter os níveis de Hb entre 9 e 10.5 g/dL, promover um desenvolvimento

normal nas crianças, suprimir a eritropoiese ineficaz e a hematopoiese medular, e controlar o excesso de ferro. Os subtipos assintomáticos não requerem terapêutica. (Baird et al., 2022)

Doentes com TDT requerem transfusões sanguíneas, geralmente a cada duas a cinco semanas. Doentes com NTDT podem necessitar, ocasionalmente, de transfusões para anemia sintomática, durante a gravidez, antes de uma cirurgia, ou perante infeções. Estes doentes podem desenvolver complicações e passar a necessitar de transfusões crónicas. (Baird et al., 2022)

Estudos observacionais retrospectivos mostraram uma diminuição da mortalidade com a terapêutica com quelantes de ferro. Esta corrige o excesso de ferro causado pela anemia hemolítica, aumento da absorção intestinal de ferro e transfusões repetidas. É recomendada em doentes TDT quando a ferritina é superior a 1000 ng/mL, e em doentes NTDT quando a ferritina é superior a 800 ng/mL. (Baird et al., 2022)

Em estudos prospetivos, o transplante de células estaminais hematopoiéticas mostrou uma sobrevida global livre de talassémica superior a 80% (Baird et al., 2022), sendo que a qualidade de vida em doentes transplantados com sucesso excede a dos doentes com transfusões e quelação de ferro. (Loscalzo et al., 2022) Os candidatos ideais são menores de 12 anos. (Baird et al., 2022) Apesar disto, apenas 1/3 dos doentes têm um dador compatível. (Loscalzo et al., 2022)

Recentemente, o luspatercept, um agente de maturação eritroide foi aprovado para o tratamento de doentes TDT. Um estudo randomizado em adultos com  $\beta$ -talassémia demonstrou uma redução de 33% na necessidade de transfusão. (Wing & Schiffman, 2022).

## 6. Microangiopatia Trombótica

A microangiopatia trombótica é um termo geral usado para se referir a condições caracterizadas por trombocitopenia e AH microangiopática, independentemente de outras alterações clínicas ou laboratoriais. (Arnold et al., 2017) A AH microangiopática ocorre por fragmentação dos eritrócitos na microvasculatura, originando esquizócitos

visíveis no ESP. (Thompson & Kavanagh, 2022) Assim, o conjunto de trombocitopenia, anemia hemolítica e presença de esquizócitos no ESP faz o diagnóstico. (Arnold et al., 2017)

O teste de Coombs é negativo e os testes de coagulação estão normais, nomeadamente o tempo de protrombina (PT) e o tempo de tromboplastina parcial ativada (aPTT). Em doentes com doença severa associada a coagulação intravascular disseminada (CID), estes testes (PT e aPTT) podem tornar-se elevados. (Arnold et al., 2017)

As microangiopatias trombóticas podem ser divididas em primárias, se não estiverem associadas a nenhuma causa de base, e secundárias, se ocorrerem no contexto de gravidez, doenças autoimunes, neoplasias, transplante de medula óssea e determinados fármacos e infeções. As formas primárias incluem a púrpura trombocitopénica trombótica (PTT) e o síndrome hemolítico urémico (SHU). (Arnold et al., 2017)

O caso clínico 4 é o exemplo de uma microangiopatia trombótica secundária a uma neoplasia gástrica. Nesta situação, a abordagem terapêutica inclui tratamento de suporte e da patologia de base. (Thompson & Kavanagh, 2022)

### 6.1. Púrpura trombocitopénica trombótica (PTT)

A púrpura trombocitopénica trombótica (PTT) é rara, apresentando uma prevalência de 10 : 1 000 000 e uma incidência de 1-2 : 1 000 000. É a microangiopatia trombótica mais prevalente em adultos, sendo que em aproximadamente 90% dos casos o primeiro episódio ocorre na idade adulta. Pode ser congénita (cerca de 5%) devido a mutações no gene da ADAMTS13, ou adquirida (cerca de 95%) devido à presença de autoanticorpos contra a ADAMTS13. (Joly et al., 2019)

A PTT é definida pelo défice severo (< a 10%) da enzima ADAMTS13. Esta enzima é responsável por clivar o Fator de Von Willebrand (FWV) e, portanto, o seu défice levará a múltiplos muito grandes deste fator no endotélio, com posterior adesão plaquetar, agregação e formação de trombos microvasculares. (Thompson & Kavanagh, 2022)

Estes trombos podem causar oclusão capilar com consequente isquemia em diferentes órgãos. (Tellez-Hinojosa et al., 2015)

Assim, esta forma primária de microangiopatia trombótica pode apresentar, para além da trombocitopenia e AH microangiopática, febre e disfunção de órgão alvo. (Arnold et al., 2017) Alterações renais são pouco frequentes. Manifestações neurológicas com cefaleia, confusão, acidente vascular cerebral (AVC) e convulsões, e ainda isquemia cardíaca e/ou mesentérica, são alterações comuns nesta patologia. (Thompson & Kavanagh, 2022)

O diagnóstico é feito pelo teste para a atividade da ADAMTS13 e o seu défice (<10%) é patognomónico de PTT. (Joly et al., 2019) Como a PTT é uma emergência médica com uma taxa de mortalidade de 90% sem tratamento e 50% das mortes a ocorrer nas primeiras 24 horas (Arnold et al., 2017), este deve ser iniciado perante uma suspeita clínica alta, mesmo sem os resultados de atividade da enzima. (Thompson & Kavanagh, 2022) A trombocitopenia e AH microangiopática são suficientes para iniciar o tratamento (Arnold et al., 2017) uma vez que o risco da rápida deterioração associado à PTT é muito superior ao risco da terapêutica. (Cândido et al., 2015)

Segundo as recomendações do ISTH (*International Society on Thrombosis and Haemostasis*), o tratamento da PTT baseia-se na plasmaferese, tratamento imunossupressor e prevenção da adesão plaquetar ao FVW. (Zheng et al., 2020)

A primeira linha de tratamento é a plasmaferese e, se não houver acesso à mesma, pode-se recorrer a infusão de plasma (20-30 ml/kg/dia) como ponte até estar disponível, não constituindo uma terapêutica alternativa. (Tellez-Hinojosa et al., 2015)

A plasmaferese deve ser realizada no primeiro episódio agudo até obter uma resposta clínica durante um mínimo de 2 dias, isto é, contagem de plaquetas igual ou superior a  $150 \times 10^9/L$ , LDH inferior a 1.5 vezes o limite superior da normalidade e ausência de agravamento de lesão de órgão (Thompson & Kavanagh, 2022). Deve ser iniciado com 1.5 vezes o volume de plasma durante 3 dias, com reavaliação diária do doente. A duração do tratamento é altamente variável entre doentes e depende do título de autoanticorpos e da atividade da ADAMTS13. (Tellez-Hinojosa et al., 2015) Os estudos realizados não demonstraram benefício na redução gradual do volume

plasmático após resposta e alguns autores sugerem uma taxa maior de complicações nos doentes a cumprir este regime. (Thompson & Kavanagh, 2022)

Apesar da pouca evidência existente, a adição de glicocorticoides à plasmaferese está fortemente recomendada pelo ISTH tanto no primeiro episódio agudo como numa recidiva, com atenção à relação risco/benefício para cada doente. (Zheng et al., 2020) O esquema de glicocorticoides mais utilizado é a prednisolona 2.5 mg/kg/dia ou metilprednisolona 1g/dia durante 3 dias, seguido de prednisolona 1 mg/kg/dia. Quando a contagem de plaquetas atinge valores normais, deve ser reduzido gradualmente 5-7 dias depois e durante 3 semanas. (Castellano et al., 2022)

Segundo as recomendações, o rituximab e o caplacizumab também podem ser considerados em adição à primeira linha. Esta decisão depende da probabilidade pré-teste de PTT, da previsão do tempo para obter os resultados da ADAMTS13, das características individuais do doente e da decisão partilhada. É importante ter em conta que estas recomendações são condicionais e baseadas em fraca evidência. (Zheng et al., 2020)

O esquema de rituximab mais utilizado é na dose de 375 mg/m<sup>2</sup>/semana (em 2 tomas, por exemplo) e imediatamente após plasmaferese. (Castellano et al., 2022)

O caplacizumab tem sido recentemente introduzido para a abordagem da PTT e é o primeiro fármaco a receber uma aprovação regulamentada para esta doença. (Zheng et al., 2020) No entanto, este é um fármaco com elevados custos associados e, por isso, métodos para individualizar o tratamento têm sido investigados. (Thompson & Kavanagh, 2022) É um nanocorpo anti-FVW que reduz a ligação dos multímeros do FVW às plaquetas (Thompson & Kavanagh, 2022), mas não corrige o défice de ADAMTS13 de base nem elimina os autoanticorpos. Assim, a terapêutica imunossupressora, como os corticoides ou o rituximab, é necessária em adição para controlar o processo de base. (Zheng et al., 2020) Dois ensaios clínicos (HERCULES e TITAN) demonstraram que este fármaco em adição à plasmaferese reduz o tempo que as plaquetas demoram a atingir valores normais, o tempo necessário para plasmaferese e a probabilidade de recorrência. (Thompson & Kavanagh, 2022) O esquema recomendado atualmente inclui a administração de 10 mg intravenoso antes de iniciar a plasmaferese apenas no

primeiro dia, e 10 mg subcutâneo ao finalizar todos os dias, incluindo o primeiro. Após terminar o tratamento com plasmaferese utiliza-se uma dose diária de 10 mg subcutâneo durante 30 dias. (Castellano et al., 2022).

Doentes com PTT podem ser refratários à terapêutica ou ter várias recidivas a longo prazo. (Arnold et al., 2017) Aos 10 anos, 36% dos doentes experienciam pelo menos uma recidiva. (Joly et al., 2019) Estes casos podem ser geridos ao aumentar a intensidade ou frequência da plasmaferese e ao adicionar ou aumentar a dose da terapêutica imunossupressora, como os corticoides e o rituximab. (Arnold et al., 2017) A esplenectomia e outros fármacos como o caplacizumab, vincristine, bortezomib e azatioprina também podem ser utilizados. (Thompson & Kavanagh, 2022).

Não existe evidência suficiente que permita comparar as diferentes abordagens terapêuticas, sendo necessário novos estudos de alta qualidade. (Zheng et al., 2020)

## 6.2. Síndrome hemolítico urémico (SHU)

É a microangiopatia trombótica mais prevalente na infância, mas pode ocorrer em qualquer idade. Cerca de 90% dos casos correspondem ao SHU típico, que ocorre devido a infeção por bactérias produtoras de toxina Shiga, isto é, *Escherichia coli* enterohemorrágica (STEC) ou *Shigella dysenteriae*, associando-se a diarreia sanguinolenta. (Sheerin & Glover, 2019) Os restantes casos correspondem ao SHU atípico, que corresponde aos casos que não são causados por uma bactéria produtora de toxina shiga. (Thompson & Kavanagh, 2022).

A incidência anual de SHU associado a STEC é de aproximadamente 0.7 casos por 100 000 pessoas, com a maior incidência no verão. A *E. coli* O157 é o serotipo mais comum associado a esta microangiopatia na Europa. (Sheerin & Glover, 2019) Apesar da incidência ser muito mais inferior na idade adulta do que na infância, a maioria das mortes causadas por SHU associado a STEC ocorre em pessoas acima dos 60 anos de idade. (Travert et al., 2021)

A STEC pode ser ingerida na alimentação humana através de carne ou outros produtos infetados. Na mucosa gastrointestinal, a toxina transloca-se através do epitélio até à circulação, onde se liga aos eritrócitos e leucócitos circulantes. Liga-se à

globotriaosilceramida (Gb3) na superfície de células alvo e é endocitada e transportada para o retículo endoplasmático, onde inibe a síntese proteica, comprometendo a função celular e originando a consequente morte celular. A toxina também gera uma resposta inflamatória, com consequente estado pró-trombótico na microvasculatura. A concentração de Gb3 é muito elevada no rim, tanto no endotélio como nos podócitos e epitélio tubular, o que pode explicar a suscetibilidade do rim nesta patologia. (Sheerin & Glover, 2019)

As manifestações clínicas iniciam-se 3 dias após a ingestão da bactéria e incluem dor abdominal, vômitos e diarreia, que é sanguinolenta em cerca de 60% dos casos. Cerca de 10% dos doentes expostos à bactéria desenvolvem SHU. Há envolvimento renal e o envolvimento neurológico é a manifestação extra-renal mais frequente. (Sheerin & Glover, 2019)

O diagnóstico de SHU típico requer a coexistência de trombocitopenia, anemia hemolítica microangiopática e lesão renal aguda. (Travert et al., 2021) Os níveis de ADAMTS13 são normais ou ligeiramente reduzidos. (Arnold et al., 2017) O diagnóstico também requer coproculturas para identificar o agente, mesmo sem a presença de diarreia na altura da apresentação, e pode ser realizado PCR para detetar a presença de genes da toxina Shiga. Uma serologia positiva de anticorpos contra STEC suporta o diagnóstico, mas não é feito por rotina. Cerca de 5-10% dos doentes com SHU associado a STEC não desenvolvem diarreia, pelo que esta investigação microbiológica é importante em todos os doentes com microangiopatia trombótica. (Sheerin & Glover, 2019)

Esta patologia é, geralmente, auto-limitada e resolve com tratamento de suporte, como fluidoterapia, diálise, suporte ventilatório e transfusões sanguíneas (Arnold et al., 2017) A plasmaferese não é recomendada e o uso de antibioterapia no SHU associado a STEC é controverso uma vez que pode levar a maior libertação de toxina Shiga e aumentar a probabilidade e gravidade do SHU. Assim, o uso de antibióticos não é recomendado, mas existe evidência que sugere que o risco varia consoante a classe de antibiótico e algumas podem até reduzir o risco, havendo necessidade de investigação futura neste aspecto. (Travert et al., 2021) Pelo contrário, o uso de antibióticos no SHU associado a Shigella aparenta ser seguro. (Sheerin & Glover, 2019)

## Conclusão e Proposta de um Algoritmo de Diagnóstico

O diagnóstico da entidade nosológica exata de uma AH é indispensável uma vez que diferentes etiologias exigem diferentes tratamentos. Para além disso, existem entidades que representam emergências médicas e cujo diagnóstico atempado contribui para melhores prognósticos.

O raciocínio diagnóstico representa um desafio, pois etiologias diferentes podem apresentar-se de forma muito semelhante, clínica e laboratorialmente, como verificamos com o exemplo dos casos clínicos apresentados. Em adição, cada entidade apresenta uma grande variabilidade fenotípica intrínseca. Assim, torna-se indispensável a colheita de uma história clínica pessoal e familiar detalhada, assim como um conhecimento fisiopatológico e epidemiológico que oriente o raciocínio clínico. Neste sentido, na figura 1 propõe-se um algoritmo orientador para a abordagem diagnóstica da AH.

Relativamente às diversas terapêuticas atuais, muitas delas são baseadas em fraca evidência devido à falta de ensaios clínicos randomizados disponíveis. Numa perspetiva futura, e tendo em conta a necessidade dos mesmos, vários ensaios clínicos estão em desenvolvimento e atualizações recentes importantes têm surgido.

## Agradecimentos

À Dra. Ana Grilo, a minha orientadora na realização deste trabalho, pela ajuda, disponibilidade, motivação e compreensão que demonstrou desde sempre.

À minha família, por acreditarem sempre em mim e pelo apoio, encorajamento e paciência que manifestaram ao longo deste percurso.

## Anexo 1

**Tabela 1**

Principais doenças associadas à anemia hemolítica autoimune por anticorpos quentes secundária

Doenças hematológicas e linfoproliferativas	Leucemia Linfocítica Crónica, Linfoma de Células B, Leucemia T-LGL, Linfoma de células T angioimunoblastico, Doença de Castleman, Linfoma de Hodgkin, Síndromes mielodisplásicos, Mielofibrose, Outras citopénias imunes (ex: Síndrome de Evan)
Tumores Sólidos	Timoma, Quisto dermoide ovárico, Carcinoma
Doenças autoimunes e inflamatórias	Lúpus Eritematoso Sistémico, Síndrome de Anticorpos Anti Fosfolipídicos , Artrite Reumatoide, Síndrome de Sjogren, Hepatite autoimune, Cirrose biliar primária, Colite Ulcerosa, Sarcoidose, Fasceíte Eosinofílica
Infeções	Vírus (HIV, EBV, CMV, VHC)  Bactérias (tuberculose, brucelose, babesiose)
Fármacos	Antibióticos (ceftriaxone, piperacilina), AINES (diclofenac), antineoplásicos, check-point inhibitors, entre outros.
Imunodeficiência Primária	Imunodeficiência Comum Variável

*Nota.* HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana), EBV (Vírus Epstein-Barr), CMV (Citomegalovírus), VHC (Vírus da Hepatite C), AINES (Anti-inflamatório não esteroide).  
Adaptado de Jäger *et al.* (2020)

## Anexo 2

**Tabela 2**

Substâncias a serem evitadas por indivíduos com déficit de G6PD

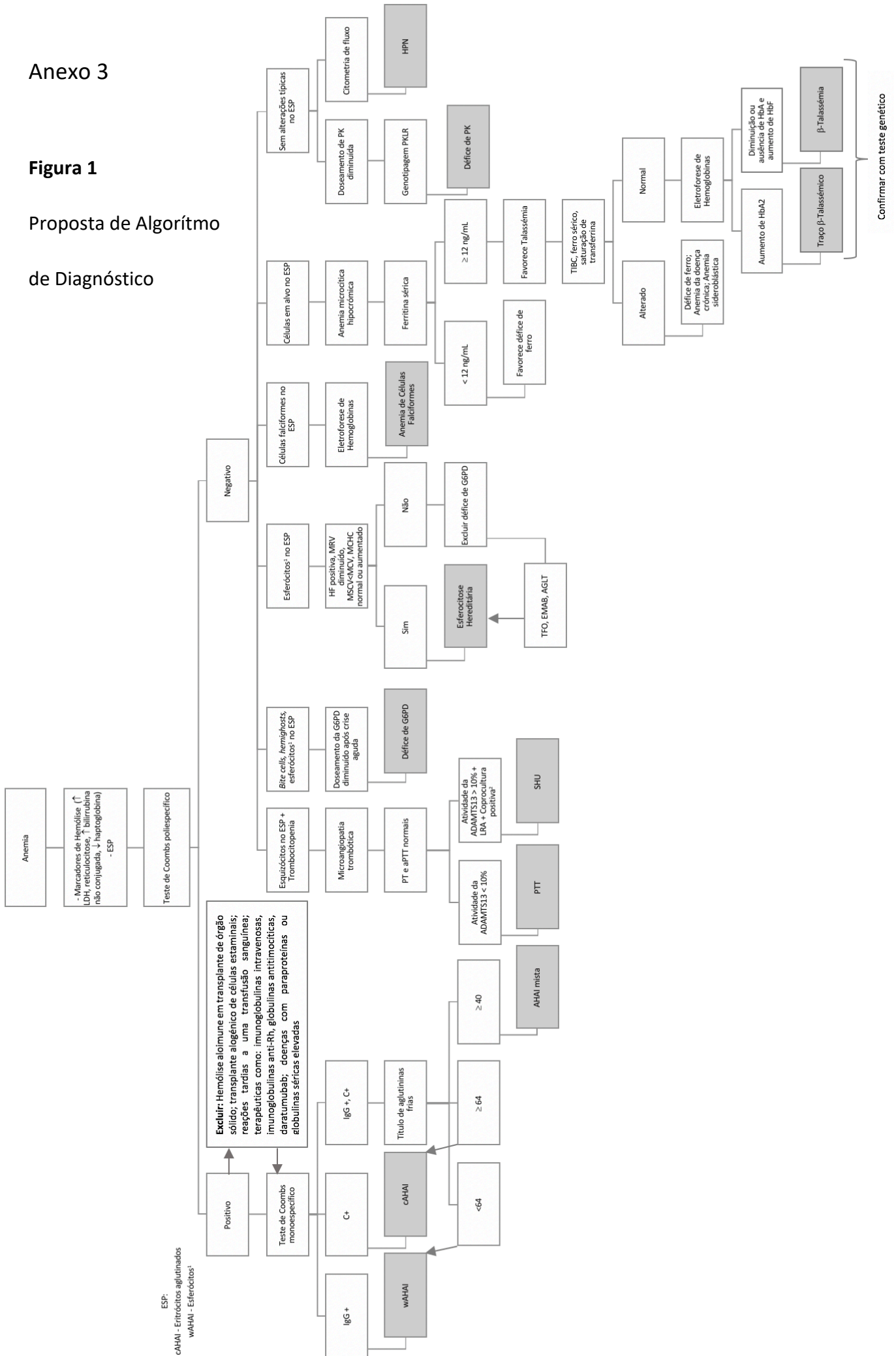
Risco definitivo	Risco possível	Risco duvidoso
Azul de metileno	Ácido acetilsalicílico (>3g/dia)	Acetaminofeno
Ácido nalidíxico	Ácido ascórbico > 1g/dia	Ácido acetilsalicílico (<3g/dia)
Cotrimoxazol	Análogos da vitamina K	Ácido p-aminosalicílico
Dapsona	Ciprofloxacina	Cloranfenicol
Fenazopiridina	Cloroquina	Fenacetina
Flutamina	Norfloxacina	Doxorrubicina
Nitrofurantoína	Rasburicase	Probenecide
Niridazol	Sulfamidina	Quinina
Naftaleno	Sulfassalazina	Sulfadiazina
Primaquina		Sulfisoxazol
Sulfacetamida		
Sulfametoxazol		
Sulfanilamida		

*Nota.* Adaptado de Dias *et al.* (2012)

# Anexo 3

## Figura 1

Proposta de Algoritmo de Diagnóstico



ESP: cAHAI - Eritrócitos aglutinados  
WAHAI - Esmectocitos

*Nota.*

<sup>1</sup>Esferócitos podem estar presentes no esfregaço de sangue periférico (ESP) de doentes com anemia hemolítica autoimune por anticorpos quentes (wAHAI), défice de Glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) e esferocitose hereditária (EH).

<sup>2</sup>Coprocultura positiva a *Escherichia coli* enterohemorrágica (STEC) ou *Shigella dysenteriae*

aPTT (Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado), LRA (Lesão Renal Aguda), C (Complemento), cAHAI (Anemia hemolítica autoimune por anticorpos frios), Hb (Hemoglobina), HbA (Hemoglobina do adulto), HbA<sub>2</sub> (Hemoglobina A2), HbF (Hemoglobina Fetal), HF (História Familiar), HPN (Hemoglobinúria Paroxítica Noturna), IgG (Imunoglobulina G), LDH (lactato desidrogenase), MCHC concentração de hemoglobina corpuscular média, MCV (volume corpuscular médio), MRV (volume médio dos reticulócitos), MSCV (volume celular esférico médio), PK (Piruvato Cinase), PT (Tempo de Protrombina), PTT (Púrpura Trombocitopénica Trombótica), SHU (Síndrome Hemolítico Urémico), TIBC (capacidade total de fixação do ferro).

Adaptado de Arnold *et al.* (2017), Baird *et al.* (2022), Barcellini and Fatizzo (2023), Dias *et al.* (2012), Grace & Barcellini (2020), Jäger *et al.* (2020), Joly *et al.* (2019), Loscalzo *et al.* (2022), Phillips and Henderson (2018), Shah & Bhatt (2023), Travert *et al.* (2021), Wu *et al.* (2021),

## Bibliografia

- Arnold, D. M., Patriquin, C. J., & Nazy, I. (2017). Thrombotic microangiopathies: A general approach to diagnosis and management. In *CMAJ* (Vol. 189, Issue 4, pp. E153–E159). Canadian Medical Association. <https://doi.org/10.1503/cmaj.160142>
- Baird, D., Batten, S., & Sparks, S. (2022). Alpha and Beta-thalassemia: Rapid Evidence Review. *American Family Physician*, 105(3). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35289581/>
- Barcellini, W., & Fattizzo, B. (2021). How I treat warm autoimmune hemolytic anemia. *Blood*, 137(10), 1283-1294. <https://doi.org/10.1182/blood.2019003808>
- Barcellini, W., & Fattizzo, B. (2023). Strategies to overcome the diagnostic challenges of autoimmune hemolytic anemias. In *Expert Review of Hematology* (Vol. 16, Issue 7, pp. 515–524). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/17474086.2023.2216930>
- Barcellini, W., Zaninoni, A., Giannotta, J. A., & Fattizzo, B. (2020). New insights in autoimmune hemolytic anemia: From pathogenesis to therapy stage 1. In *Journal of Clinical Medicine* (Vol. 9, Issue 12, pp. 1–19). MDPI. <https://doi.org/10.3390/jcm9123859>
- Bektas, M., Copley-Merriman, C., Khan, S., Sarda, S. P., & Shammo, J. M. (2020). Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: role of the complement system, pathogenesis, and pathophysiology. *Journal of Managed Care & Specialty Pharmacy*, 26(12-b Suppl), S3–S8. <https://doi.org/10.18553/jmcp.2020.26.12-b.s3>
- Berentsen, S. (2020). New Insights in the Pathogenesis and Therapy of Cold Agglutinin-Mediated Autoimmune Hemolytic Anemia. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 11). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00590>
- Berentsen, S., & Barcellini, W. (2021). Autoimmune Hemolytic Anemias. *New England Journal of Medicine*, 385(15), 1407–1419. <https://doi.org/10.1056/NEJMra2033982>

- Bianchi, P., Fermo, E., Glader, B., Kanno, H., Agarwal, A., Barcellini, W., Eber, S., Hoyer, J. D., Kuter, D. J., Maia, T. M., Mañu-Pereira, M. del M., Kalfa, T. A., Pissard, S., Segovia, J. C., van Beers, E., Gallagher, P. G., Rees, D. C., & van Wijk, R. (2019). Addressing the diagnostic gaps in pyruvate kinase deficiency: Consensus recommendations on the diagnosis of pyruvate kinase deficiency. *American Journal of Hematology*, 94(1), 149–161. <https://doi.org/10.1002/ajh.25325>
- Bolton-Maggs, P. H. B., Langer, J. C., Iolascon, A., Tittensor, P., & King, M. J. (2012). Guidelines for the diagnosis and management of hereditary spherocytosis - 2011 update. *British Journal of Haematology*, 156(1), 37–49. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2011.08921.x>
- Brandow, A. M., & Liem, R. I. (2022). Advances in the diagnosis and treatment of sickle cell disease. In *Journal of Hematology and Oncology* (Vol. 15, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13045-022-01237-z>
- Bravo-Perez, C., Guarnera, L., Williams, N. D., & Visconte, V. (2023). Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: Biology and Treatment. In *Medicina (Lithuania)* (Vol. 59, Issue 9). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/medicina59091612>
- Brites, L., Gonçalves, M., Gonçalves, T., Gaspar, E., Santos, L., & Carvalho, A. (2018). Anemia Hemolítica num Serviço De Medicina Interna: Caracterização da População. *Medicina Interna*, 25(2). <https://doi.org/10.24950/rspmi/original/223/2/2018>
- Cândido, C., Farinha, A., Pedroso, E., & Sousa, M. (2015). Púrpura Trombocitopénica Trombótica Como Causa de AVC no Jovem: A propósito de um Caso Clínico. *Revista Da Sociedade Portuguesa de Medicina Interna*, 22, 23–25. <https://doi.org/10.24950/rspmi.876>
- Costa, S. N., Madeira, S., Sobral, M. A., & Delgadinho, G. (2016). Hemoglobinopatias em Portugal e a intervenção do médico de família. *Revista Portuguesa de Clínica Geral*, 32(6), 416-424. <https://doi.org/10.32385/rpmgf.v32i6.11963>

- Da Costa, L., Galimand, J., Fenneteau, O., & Mohandas, N. (2013). Hereditary spherocytosis, elliptocytosis, and other red cell membrane disorders. *Blood Reviews*, 27(4), 167–178. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2013.04.003>
- Dias, C., Lélis, M., Barros, A., Jacinto, F., Lélis, C., & Brazão, M. da L. (2013). Quando os mau hábitos alimentares são protetores: déficit de glucose-6-fosfato-desidrogenase. *Medicina Interna*, 20(3), 124-127. <https://revista.spmi.pt/index.php/rpmi/article/view/1088>
- Dussadee, K., Taka, O., Thedsawad, A., & Wanachiwanawin, W. (2010). Incidence and risk factors of relapses in idiopathic autoimmune hemolytic anemia. *Journal of the Medical Association of Thailand*, 93 Suppl 1, S165-170 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20364571/>
- Fattizzo, B., & Barcellini, W. (2022). New Therapies for the Treatment of Warm Autoimmune Hemolytic Anemia. *Transfusion Medicine Reviews*, 36(4), 175–180. <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2022.08.001>
- Fattizzo, B., Cavallaro, F., Marcello, A. P. M. L., Vercellati, C., & Barcellini, W. (2022). Pyruvate Kinase Deficiency: Current Challenges and Future Prospects. *Journal of Blood Medicine*, 13, 461–471. <https://doi.org/10.2147/JBM.S353907>
- Forget, B. G., & Bunn, H. (2013). Classification of the disorders of hemoglobin. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 3(2). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a011684>
- Grace, R. F., & Barcellini, W. (2020). Management of pyruvate kinase deficiency in children and adults. *Blood*, 136(11). <https://doi.org/10.1182/blood.2019000945>
- Grace, R. F., Mark Layton, D., & Barcellini, W. (2019). How we manage patients with pyruvate kinase deficiency. In *British Journal of Haematology* (Vol. 184, Issue 5, pp. 721–734). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/bjh.15758>
- Harcke, S. J., Rizzolo, D., & Harcke, H. T. (2019). G6PD deficiency: An update. *Journal of the American Academy of Physician Assistants*, 32(11), 21–26. <https://doi.org/10.1097/01.JAA.0000586304.65429.a7>

- Hill, A., & Hill, Q. A. (2018). Autoimmune hemolytic anemia. *Hematology: The American Society of Hematology Education Program, 2018*(1), 382–389. <https://doi.org/10.1182%2Fasheducation-2018.1.382>
- Hill, Q. A., Stamps, R., Massey, E., Grainger, J. D., Provan, D., & Hill, A. (2017). The diagnosis and management of primary autoimmune haemolytic anaemia. In *British Journal of Haematology* (Vol. 176, Issue 3, pp. 395–411). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/bjh.14478>
- Jäger, U., Barcellini, W., Broome, C. M., Gertz, M. A., Hill, A., Hill, Q. A., Jilma, B., Kuter, D. J., Michel, M., Montillo, M., Röth, A., Zeerleder, S. S., & Berentsen, S. (2020). Diagnosis and treatment of autoimmune hemolytic anemia in adults: Recommendations from the First International Consensus Meeting. In *Blood Reviews* (Vol. 41). Churchill Livingstone. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2019.100648>
- Jamwal, M., Sharma, P., & Das, R. (2020). Laboratory Approach to Hemolytic Anemia. In *Indian Journal of Pediatrics* (Vol. 87, Issue 1, pp. 66–74). Springer. <https://doi.org/10.1007/s12098-019-03119-8>
- Jennifer E. Frank. (2005). Diagnosis and Management of G6PD Deficiency. *Am Fam Physician, 72*(7), 1277-1282. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16225031/>
- Joly, B. S., Coppo, P., & Veyradier, A. (2019). An update on pathogenesis and diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura. In *Expert Review of Hematology* (Vol. 12, Issue 6, pp. 383–395). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/17474086.2019.1611423>
- King, M. J., Garçon, L., Hoyer, J. D., Iolascon, A., Picard, V., Stewart, G., Bianchi, P., Lee, S. H., & Zanella, A. (2015). ICSH guidelines for the laboratory diagnosis of nonimmune hereditary red cell membrane disorders. *International Journal of Laboratory Hematology, 37*(3), 304–325. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12335>
- Loscalzo, J., Kasper, D., Longo, D., Fauci, A., Hauser, S., & Jameson, J. L. (2022). *Harrison's Principles of Internal Medicine: Vol. I* (21st ed.). Mc Graw Hill.

- Luzzatto, L., Ally, M., & Notaro, R. (2020). Glucose-6-phosphate Dehydrogenase Deficiency. *Blood*, *136*(11), 1225–1240.  
<https://doi.org/10.1182/blood.2019000944>
- Luzzatto, L., & Arese, P. (2018). Favism and Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. *New England Journal of Medicine*, *378*(1), 60–71.  
<https://doi.org/10.1056/NEJMra1708111>
- Manciu, S., Matei, E., & Trandafir, B. (2017). Hereditary spherocytosis - diagnosis, surgical treatment and outcomes. A literature review. In *Chirurgia (Romania)* (Vol. 112, Issue 2, pp. 110–116). Editura Celsius.  
<https://doi.org/10.21614/chirurgia.112.2.110>
- Martins, M. C., Olim, G., Melo, J., Magalhaes, H. A., & Rodrigues, M. O. (1993). Hereditary anaemias in Portugal: epidemiology, public health significance, and control. *Journal of Medical Genetics*, *30*(3), 235–239.  
<https://doi.org/10.1136/jmg.30.3.235>
- Michalak, S. S., Olewicz-Gawlik, A., Rupa-Matysek, J., Wolny-Rokicka, E., Nowakowska, E., & Gil, L. (2020). Autoimmune hemolytic anemia: current knowledge and perspectives. In *Immunity and Ageing* (Vol. 17, Issue 1). BioMed Central Ltd.  
<https://doi.org/10.1186/s12979-020-00208-7>
- Mingot Castellano, M. E., Pascual Izquierdo, C., González, A., Viejo Llorente, A., Valcarcel Ferreira, D., Sebastián, E., García Candel, F., Sarmiento Palao, H., Gómez Seguí, I., de la Rubia, J., Cid, J., Martínez Nieto, J., Hernández Mateo, L., Goterris Vicedo, R., Fidalgo, T., Salinas, R., & del Rio-Garma, J. (2022). Recommendations for the diagnosis and treatment of patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Medicina Clinica*, *158*(12), 630.e1-630.e14.  
<https://doi.org/10.1016/j.medcli.2021.03.040>
- Narla, J., & Mohandas, N. (2017, May 1). Red cell membrane disorders. *International Journal of Laboratory Hematology*, *39*, 47–52. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12657>
- Origa, R. (2017).  $\beta$ -Thalassemia. In *Genetics in Medicine* (Vol. 19, Issue 6, pp. 609–619). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/gim.2016.173>

- Phillips, J., & Henderson, A. C. (2018). Hemolytic Anemia: Evaluation and Differential Diagnosis. *American Family Physician*, 98(6), 354–361. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30215915/>
- Schapkaitz, E., & Mezgebe, M. H. (2017). Şistositlerin klinik önemi: Hematoloji standardizasyon uluslararası komitesi şistosit kılavuzlarının prospektif bir değerlendirmesi. *Turkish Journal of Hematology*, 34(1), 59–63. <https://doi.org/10.4274/tjh.2016.0359>
- Sheerin, N. S., & Glover, E. (2019). Haemolytic uremic syndrome: Diagnosis and management. In *F1000Research* (Vol. 8). F1000 Research Ltd. <https://doi.org/10.12688/f1000research.19957.1>
- Tellez-Hinojosa, C., Vazquez-Mellado, A., & Gómez-Almaguer, D. (2015). Thrombotic thrombocytopenic purpura. *Medicina Universitaria*, 17(69), 234–239. <https://doi.org/10.1016/j.rmu.2015.10.001>
- Thompson, G. L., & Kavanagh, D. (2022). Diagnosis and treatment of thrombotic microangiopathy. In *International Journal of Laboratory Hematology* (Vol. 44, Issue S1, pp. 101–113). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/ijlh.13954>
- Travert, B., Dossier, A., Jamme, M., Cointe, A., Delmas, Y., Malot, S., Wynckel, A., Seguin, A., Presne, C., Hie, M., Benhamou, Y., Ribes, D., Choukroun, G., Grangé, S., Hertig, A., Cornec-Le Gall, E., Galicier, L., Daugas, E., Bouadma, L., ... Coppo, P. (2021). Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome in adults, france, 2009-2017. In *Emerging Infectious Diseases* (Vol. 27, Issue 7, pp. 1876–1885). Centers for Disease Control and Prevention (CDC). <https://doi.org/10.3201/eid2707.204638>
- Viprakasit, V., & Ekwattanakit, S. (2018). Clinical Classification, Screening and Diagnosis for Thalassemia. In *Hematology/Oncology Clinics of North America* (Vol. 32, Issue 2, pp. 193–211). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2017.11.006>
- Waheed, A., Shammo, J., & Dingli, D. (2024). Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: Review of the patient experience and treatment landscape. In *Blood Reviews* (Vol. 64). Churchill Livingstone. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2023.101158>

- Wing, E., & Schiffman, F. (2022). *Cecil Essentials of Medicine* (10th ed.). Elsevier.
- Wu, Y., Liao, L., & Lin, F. (2021). The diagnostic protocol for hereditary spherocytosis-2021 update. In *Journal of Clinical Laboratory Analysis* (Vol. 35, Issue 12). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/jcla.24034>
- Zeerleder, S. (2011). Autoimmune haemolytic anaemia - a practical guide to cope with a diagnostic and therapeutic challenge. *The Netherlands Journal of Medicine*, 69(4), 177–184. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21527804/>
- Zheng, X. L., Vesely, S. K., Cataland, S. R., Coppo, P., Geldziler, B., Iorio, A., Matsumoto, M., Mustafa, R. A., Pai, M., Rock, G., Russell, L., Tarawneh, R., Valdes, J., & Peyvandi, F. (2020). ISTH guidelines for the diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 18(10), 2486–2495. <https://doi.org/10.1111/jth.15006>