

Anemias hemolíticas:

Hemoglobinopatias

Enzimopatias

Anomalias de membrana

Profa. Alessandra Barone

Prof. Archangelo Fernandes

www.profbio.com.br

Anemia hemolítica

- Anemia regenerativa ou hemolítica
- Causa periférica
- Hiperplasia da MO
- Reticulocitose
- Hemólise intravascular
 - Aumento da hemoglobina plasmática
 - Saturação da haptoglobina
- Hemólise extravascular
 - Aumento da bilirrubina e urobilinogênio

Anemia hemolítica

- Pode ser dividida em :
- Intraglobulares ou intrínsecas
 - Alterações no eritrócito – alterações de membrana ou no conteúdo celular.
- Extraglobulares ou extrínsecas
 - Adquiridas
 - Destruição do eritrócito: substâncias tóxicas, parasitismo, anticorpos, trauma mecânico.

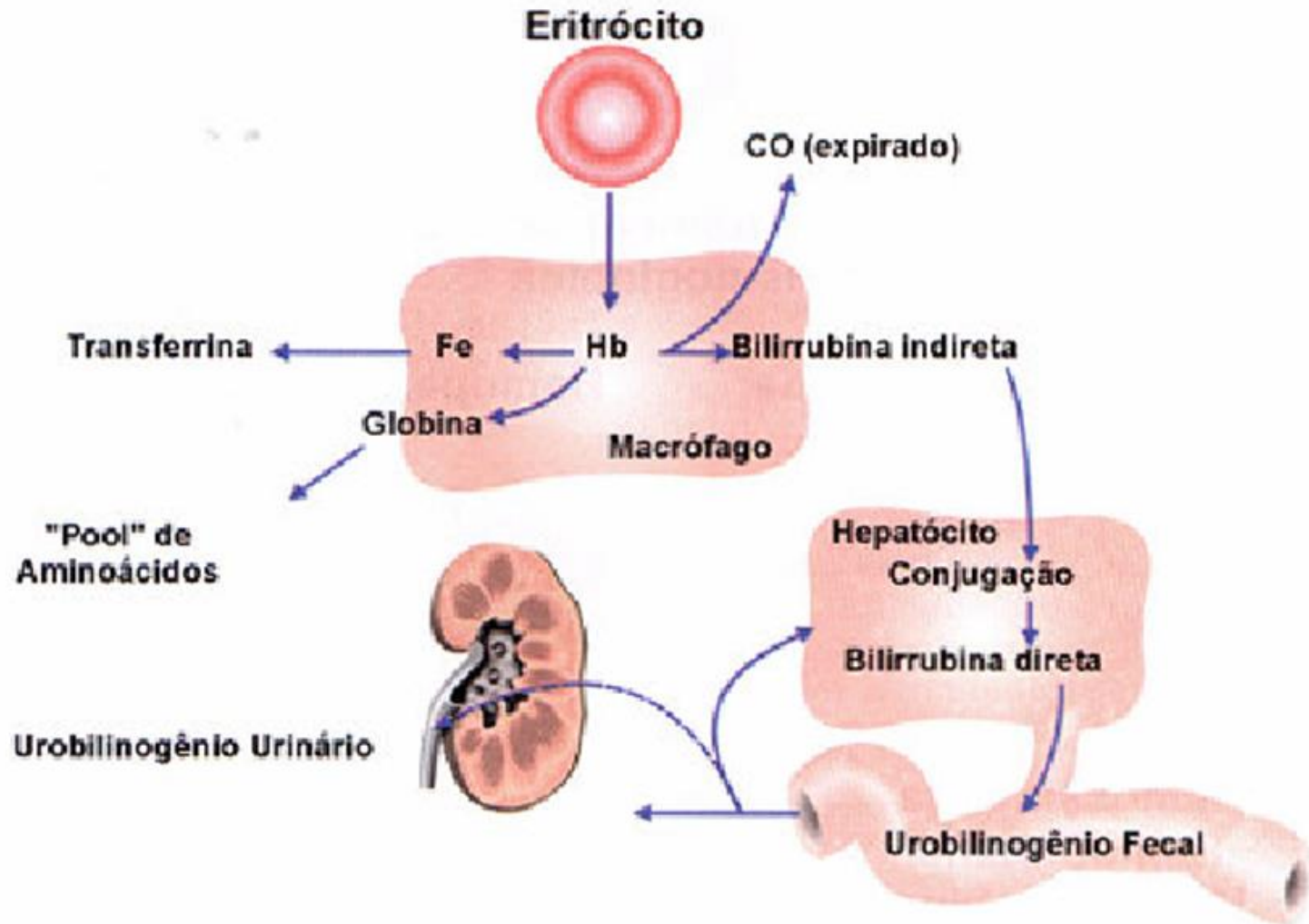
Anemia hemolítica intraglobular

- Hemoglobinopatias
 - Anemia falciforme
 - Talassemia
- Anomalias de membrana
 - Esferocitose hereditária
 - Hemoglobinúria paroxística noturna
 - Acanitocitose
- Enzimopatias
 - Deficiência de G6PD
 - Deficiência de PK

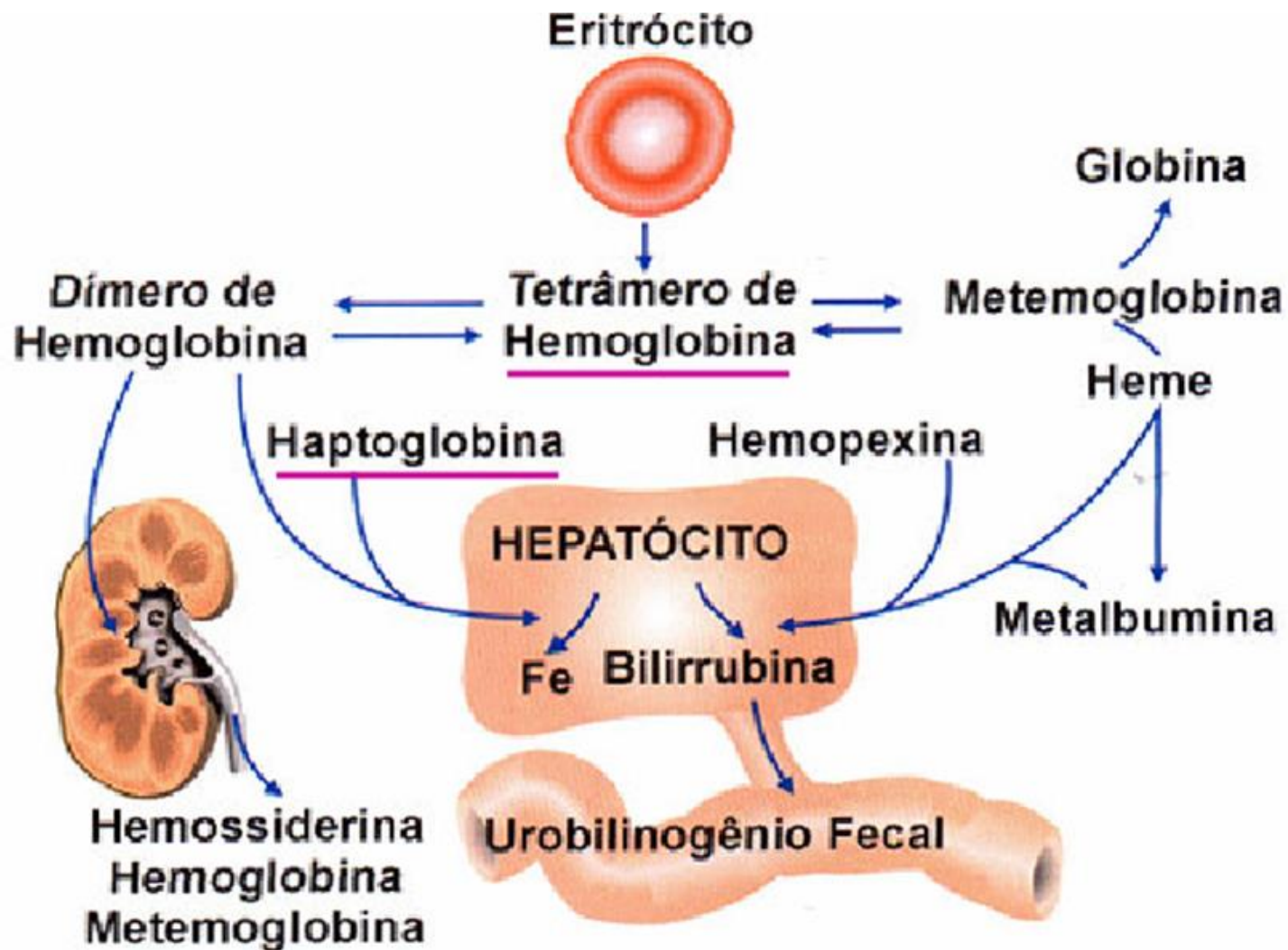
Anemia hemolítica extraglobular

- Anemia hemolítica autoimune
 - Por anticorpos frios
 - Por anticorpos quentes

Hemólise extravascular



Hemólise intravascular



Hemólise intravascular

- A hemoglobina plasmática que não está ligada à haptoglobina, nem é eliminada pelos rins, também é oxidada à metemoglobina.
- O heme oxidado (hemina) é ligado à hemopexina e removido pelo fígado.
- Se houver depleção de hemopexina, os grupos de hemina ligam-se à albumina, formando metemalbumina

Hemólise intravascular

- Parte da hemoglobina é reabsorvida pelas células dos túbulos proximais onde o ferro da Hb é convertido em hemossiderina.
- Quando essas células tubulares se desprendem e passam para a urina, o paciente desenvolve hemossiderinúria.

Hemólise intravascular

- $> \text{Hb na luz tubular} < \text{a capacidade da célula tubular de absorção} \rightarrow \text{excreção hemoglobina na urina} \rightarrow \text{hemoglobinúria}.$
- Durante o processo, a hemoglobina pode ser oxidada a metemoglobina.

ANEMIA FALCIFORME

Anemia falciforme

- β hemoglobinopatia hereditária – HbS
- Mutação genética no cromossomo 11 que codifica cadeia beta da globina
- Substituição de uma base nitrogenada no códon GAC para GTC no mRNA
- Troca do ácido glutâmico pela valina
- Presença de HbS ($\alpha_2\beta_2$ ^{6 glu-val})

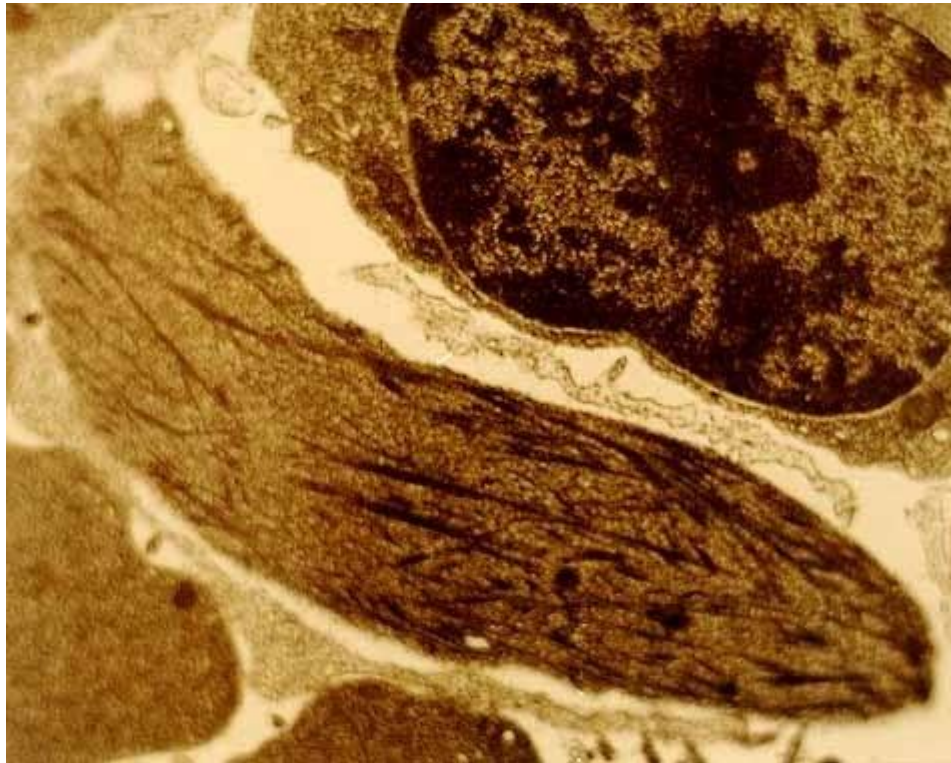
Anemia falciforme

- Presença do ácido glutâmico:
 - Eletronegatividade
 - Afastamento das moléculas de Hb deoxigenadas
- Presença da valina:
 - Neutralidade
 - Favorece a polimerização e formação de tactóides

Anemia falciforme

- Polimerização:
 - A porção hidrofóbica da cadeia beta na posição 6 da valina projeta-se formando uma ligação com a fenilalanina ou leucina de outra cadeia globínica.
 - Agregação de 30 tetrâmeros formam um núcleo onde outros tetrâmeros poderão se aderir formando um polímero.
 - Agregação de fibras aos polímeros formados e produção de feixes paralelos chamados tactóides

Célula falciforme



Microscopia eletrônica da célula falciforme com grande número de fibras se dispondo no sentido longitudinal da célula.

Anemia falciforme

- Alteração genética transmitida por gene semi-dominante
- Manifestação:
 - Homozigose: HbS/HbS – doença
 - Heterozigose: HbA/HbS – estigma ou traço falcêmico .

Anemia falciforme

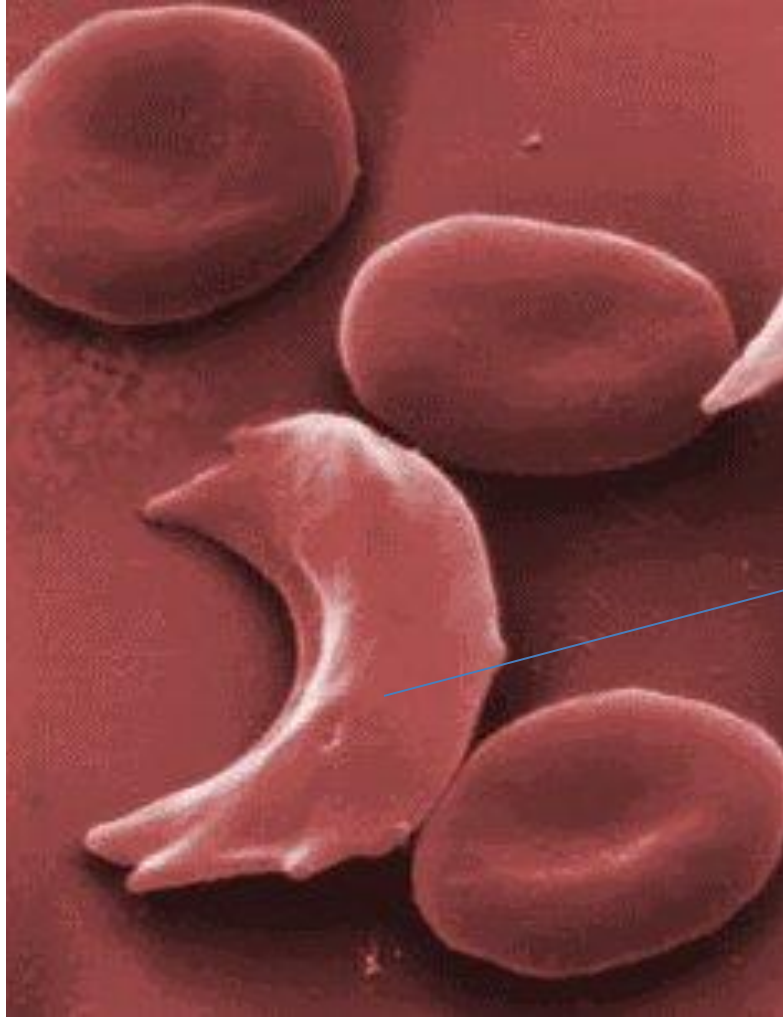
- Traço falcêmico:
 - Sem manifestações clínicas e hematológicas evidentes – ausência de anemia
 - < 50% HbS eritrócito – sem cristalização
 - Crise presente em condições baixas de O₂
 - Pacientes não indicados para doação de sangue

Incidência

- Região central da África
- Países do mediterrâneo
- Índia

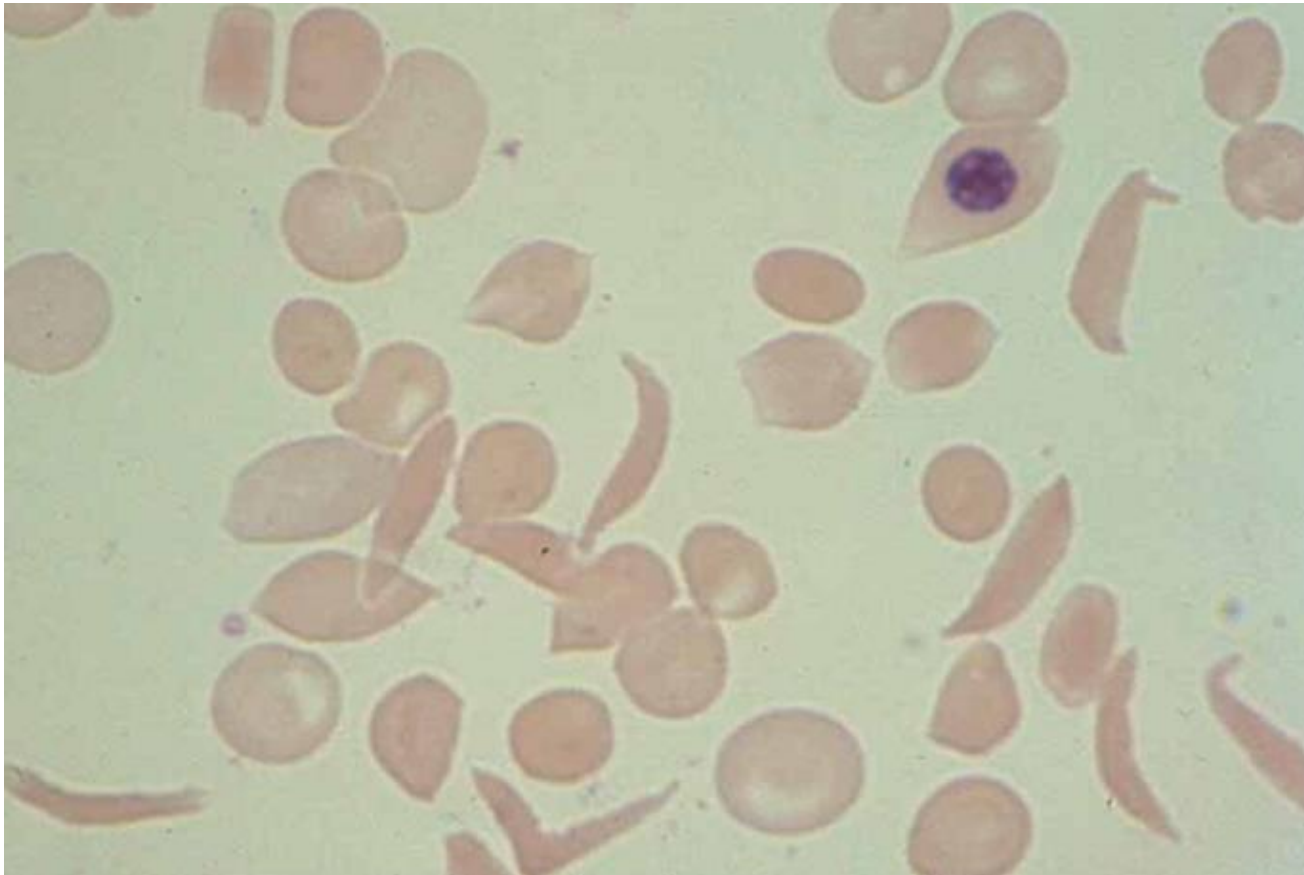
Anemia falciforme

- Patogenia:
 - Polimerização e formação de tactóides sob
 - $<$ de O_2 ou $<$ pH
 - desidratação
 - $>$ níveis de 2,3DPG
 - Alta concentração de HbS dentro da célula
 - Formação da estrutura de foice
 - Hemólise
 - Falcização : processo reversível com a reoxigenação.



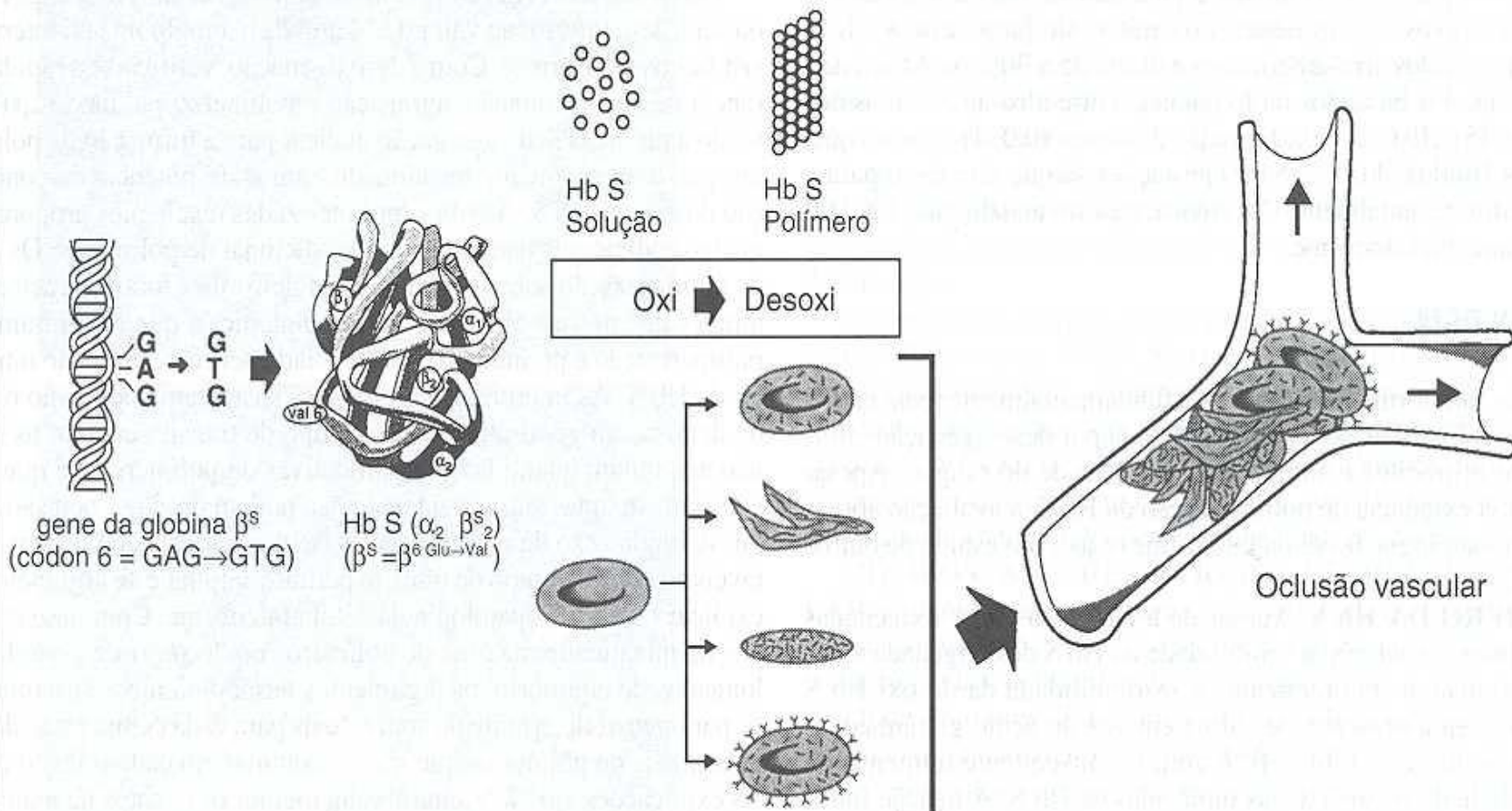
Célula falcizada

Extensão sanguínea com presença de drepanócitos



Fisiopatologia

- Desoxigenação rápida→pequenos polímeros → não altera formato da hemácia.
- Desoxigenação lenta e/ou parcial→ formação de longos polímeros → alinhamento de fibras→célula em foice.
- Células falcizadas
 - Aumentam a viscosidade do sangue
 - Diminuem o fluxo sanguíneo
 - Aumentam o grau de falcização
 - Promovem alterações na membrana eritrocitária



Característica fisiopatológica

- Crise vaso-oclusiva
 - Obstrução vascular ocasionada pelo acúmulo de eritrócitos falcizados causando lesão tecidual por hipóxia
 - priapismo
 - síndrome torácica aguda
 - acidentes vasculares cerebrais,
 - úlceras crônicas

Característica fisiopatológica

- Crise hemolítica
 - Alterações na membrana levam ao acúmulo de IgG e complemento na superfície das hemácias
 - Anemia decorrente de hemólise extravascular – baço
 - Crise de sequestro esplênico agudo.
 - Aumento súbito do baço e redução intensa da Hb, podendo evoluir para choque hipovolêmico

Manifestações clínicas

- Proteção até os seis meses de vida – presença da hemoglobina fetal
- Anemia
- Febre
- Acidente vascular cerebral: isquêmico e hemorrágico
- Alterações neurológicas

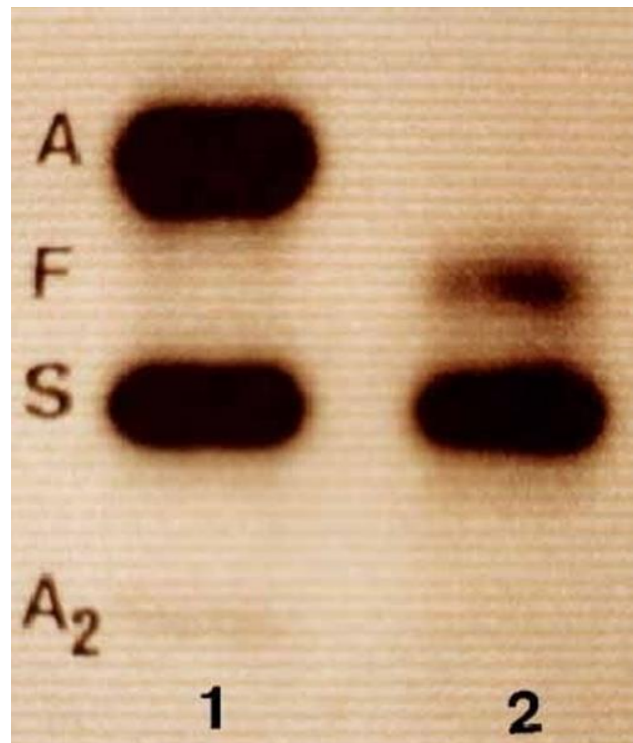
Manifestações clínicas

- Dor nas articulações e dactilite
- Suscetibilidade à infecções bacterianas causadas principalmente pela disfunção esplênica secundária múltiplos infartos com ocorrência de asplenia funcional.



Diagnóstico laboratorial

- Eletroforese de Hb em pH alcalino para detectar HbS



Prova de falcização

- Uma pequena gota de sangue colhido com anticoagulante é colocada sobre uma lâmina de vidro e misturada com uma gota de solução a 0,5% de metabissulfito de sódio, preparada no momento do uso.
- Sobre a mistura, coloca-se uma lamínula de vidro, retira-se o excesso de sangue das bordas e vedam-se as bordas para impedir a entrada de ar.
- A vedação pode ser feita com parafina, esmalte de unha, etc.
- As leituras são realizadas após 1, 2, 6, 12, 24 e 48 horas (pode-se omitir as leituras intermediárias). As hemácias falciformes são reconhecidas por se apresentarem recurvadas e com “espículas” (ou prolongamento) nas extremidades.

Exames laboratoriais

- Hemograma
 - Ht: 23%
 - Hb entre 7 e 8 g/dL
 - RDW alto
 - Anemia normocítica e normocrômica com anisocitose;
 - Reticulócitos > 15%;
 - Eritroblastos
 - Fragmentos eritrocitários
- Dosagem de bilirrubina indireta: elevada

Tratamento

- Exsanguineo transfusão parcial
- Transfusões de hemocomponentes
- Antiinflamatórios
- Analgésicos
- Hidroxiuréia via oral - > HbF
 - A HbF: influencia a concentração intracelular de hemoglobina S e inibe a polimerização devido a um resíduo glutamínico Y 87 que impede um contato lateral da dupla fita da fibra de hemoglobina.

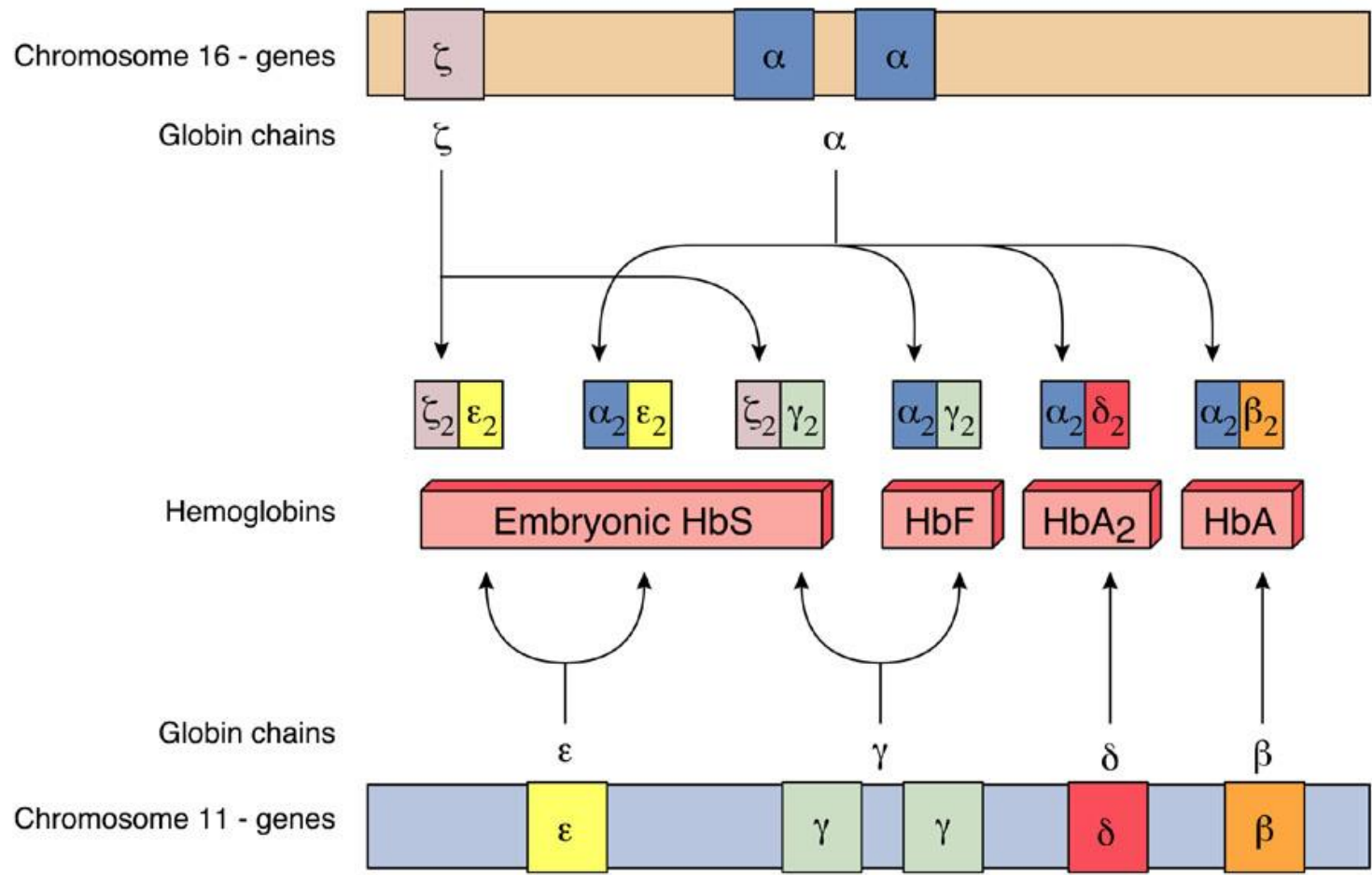
Tratamento

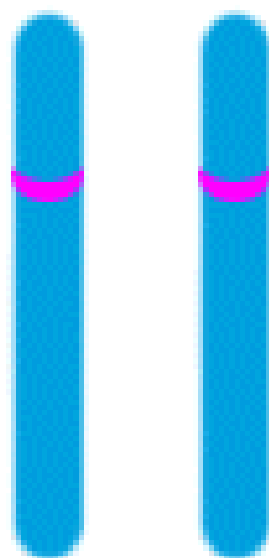
- Transplante de MO
- Antibioticoterapia profilática com penicilina, nos cinco primeiros anos de vida
- Imunização contra microrganismos encapsulados
- Quelantes do ferro.

TALASSEMIA

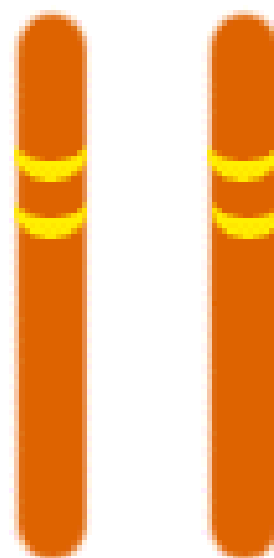
Talassemia

- Thalassa – mar.
- Origem doença – Mar Mediterrâneo – Sul da Itália e Grécia
- Hemoglobinopatia hereditária
- ↓ ou ausência da síntese das cadeias polipeptídicas da globina
- Classificadas quanto a cadeia globínica envolvida – α ou β talassemia





Chromosome 11
 β globin gene



Chromosome 16
 α globin gene

Talassemia

- Defeito quantitativo: qualidade da Hb está perfeita
- Causas: mutações
 - Intron
 - Promotora
 - Crossing over
 - Região terminal
- A maior parte das mutações causam diminuição na produção de mRNA ou formação de mRNA não funcionais

Talassemia - Fisiopatologia

- Diminuição da síntese de uma das cadeias globínicas
- Cadeias de síntese normal não encontram seus pares
- Formação de tetrâmeros instáveis
- Precipitação no interior da célula
- Formação dos Corpúsculos de Heinz

Talassemia - Fisiopatologia

- Fixação dos Corpúsculos na membrana celular
 - Hemólise na MO
 - Hemólise extravascular
- Anemia microcítica e hipocrômica
- Hiperplasia medular
 - Presença de eritroblastos e deformações ósseas.

β Talassemia maior

- Homozigótica ou Maior (Anemia de Cooley)
 - Homozigóticas
 - Alteração no cromossomo 11
 - Deficiência acentuada da cadeia beta – presença HbF ($\alpha_2\gamma_2$)
 - Ausência de produção da cadeia ~~β - HbA ($\alpha_2\beta_2$)~~
 - Ambas induzem formação de tetrâmeros instáveis
 - Precipitação
 - Indução de hemólise

Fisiopatologia

- Hepato e esplenomegalia
 - hiperplasia do SMF e hematopoiese extramedular.
 - Icterícia
 - Excesso de ferro nos órgãos: miocárdio e glândulas endócrinas
- **Alterações ósseas**
 - Osteoporose
 - Protuberâncias do crânio causada pela expansão medular. Eritropoese 10 vx maior do que o normal



Diagnóstico laboratorial

β talassemia maior

- GV, Ht, Hb, VCM, HCM ↓

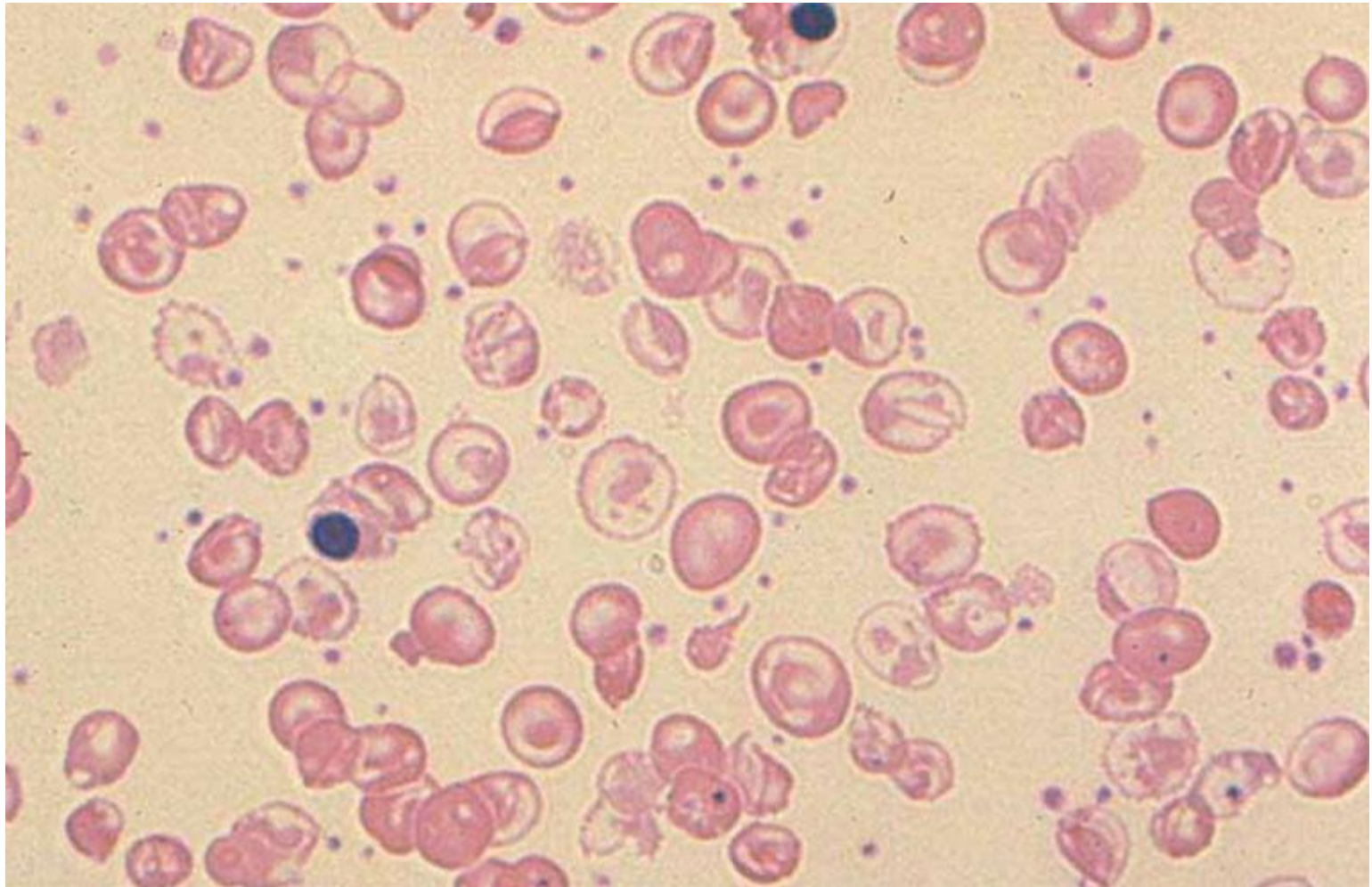
- HbA1 ↓ e HbA2 ↑

- HbF ↑

	Normal	β^+	β^0
Hb A (%)	97.5	73	0
Hb F (%)	0.8	24	97.5
Hb A ₂ (%)	1.6	3	2.5

- Policromasia
- Células em alvo
- Eritroblastos

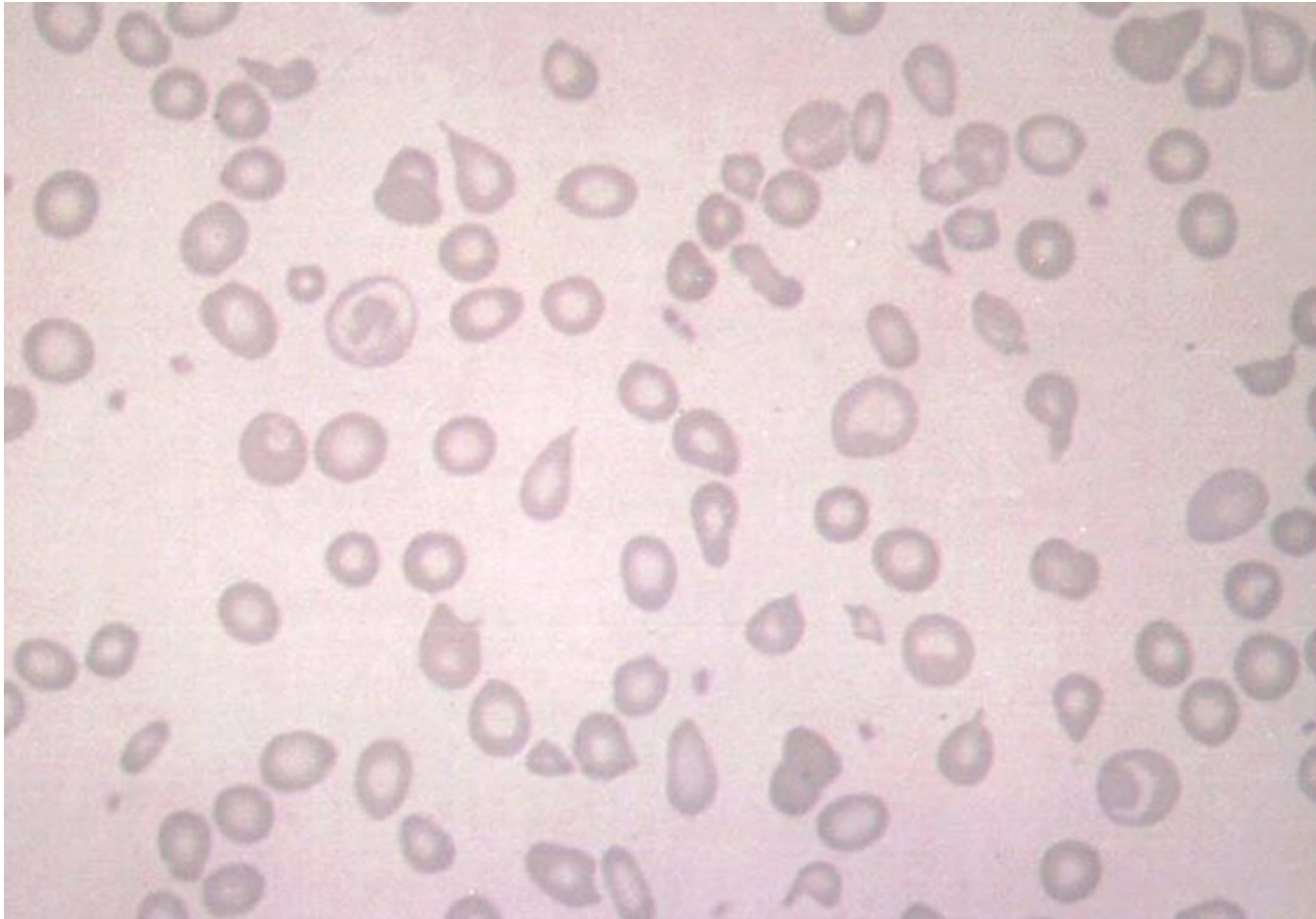
β thalassemia maior



β Talassemia menor

- Heterozigótica: deleção parcial
- Pacientes geralmente assintomáticos
- Diagnóstico confundido com anemia ferropriva
- Pontilhado basófilo encontrado principalmente na talassemia minor e dosagem de ferro utilizados como diferencial

β thalassemia minor



Diagnóstico laboratorial

- RDW normal com microcitose
- Hipocromia
- Pontilhados basófilos
- Bilirrubina indireta ↑
- HbA2 ↑ - 3 a 7%
- Discreto aumento de HbF

Tratamento

- Terapias transfusionais para manutenção dos níveis de Hb
- Utilização de quelantes de ferro com deferoxamina para evitar hemossiderose
- Possibilidade de esplenectomia ao hiperesplenismo

α - talassemia

- Comuns no sul da África e região do mediterrâneo
- Produção da cadeia alfa da globina realizada por 4 genes localizados no cromossomo 16
- Deleção de um ou mais genes podem produzir quatro variedades de alfa talassemia.
 - α talassemia 1 ($__\alpha / \alpha\alpha$)
 - α talassemia 2 ($____ / \alpha\alpha$)
 - α talassemia 3 ou H ($____ / __\alpha$)
 - α talassemia 4 ($____ / ____$)

α - talassemia

- α talassemia 1 ($__\alpha / \alpha\alpha$)
 - Portadores assintomáticos
 - Níveis normais de HbA1 e Hb A2
- α talassemia 1 ($____ / \alpha\alpha$)
 - HbA1 normal ou levemente 
 - Manifestação de anemia leve

α - talassemia

- α talassemia 3 (___ ___ / ___ α)
 - Deleção de 3 genes da cadeia α : HbH
 - Instalação de anemia hemolítica pela precipitação de Hb
 - Baço pode ser palpado em até 75% dos casos
 - Investigação da Hb Bart no cordão umbilical do recém nascido.
 - Hb Bart é substituída pela Hb H (tetrâmeros de Beta) – precipitação da Hb – lise.

α - talassemia

- α talassemia 4 (___ ___ / ___ ___)
 - Formação de tetrâmeros de γ produz Hb Bart - hidropsia fetal –natimorto

α - talassemia

- Homozigótica –Doença HbH
 - Deleção de 3 genes da cadeia α produz HbH – tetrâmeros de β
 - Formação de tetrâmeros de γ produz Hb Bart - hidropsia fetal –natimorto
- Heterozigótica:
 - Diminuição cadeia alfa
 - Discreta anemia
 - Sem necessidade de tratamento



Hb BART

Tetrâmetros de γ



Hb H

Tetrâmeros de β

Padrão Normal

Formas de Talassemias Alfa

Cromossomo 16
proveniente do

Pai

Mãe



Um gene
afetado



Dois genes
afetados



Três genes
afetados



Quatro genes
afetados



Representação
Genética:

$(\alpha\alpha/\alpha\alpha)$

$(\alpha\alpha/\alpha-)$

$(\alpha\alpha/--)$

$(\alpha-/--)$

$(---/---)$

Portador assintomático
de talassemia alfa

Doença
de HbH

Hidropsia
fetal

Hidropsia Fetal



Figura 1 - Feto hidrópico

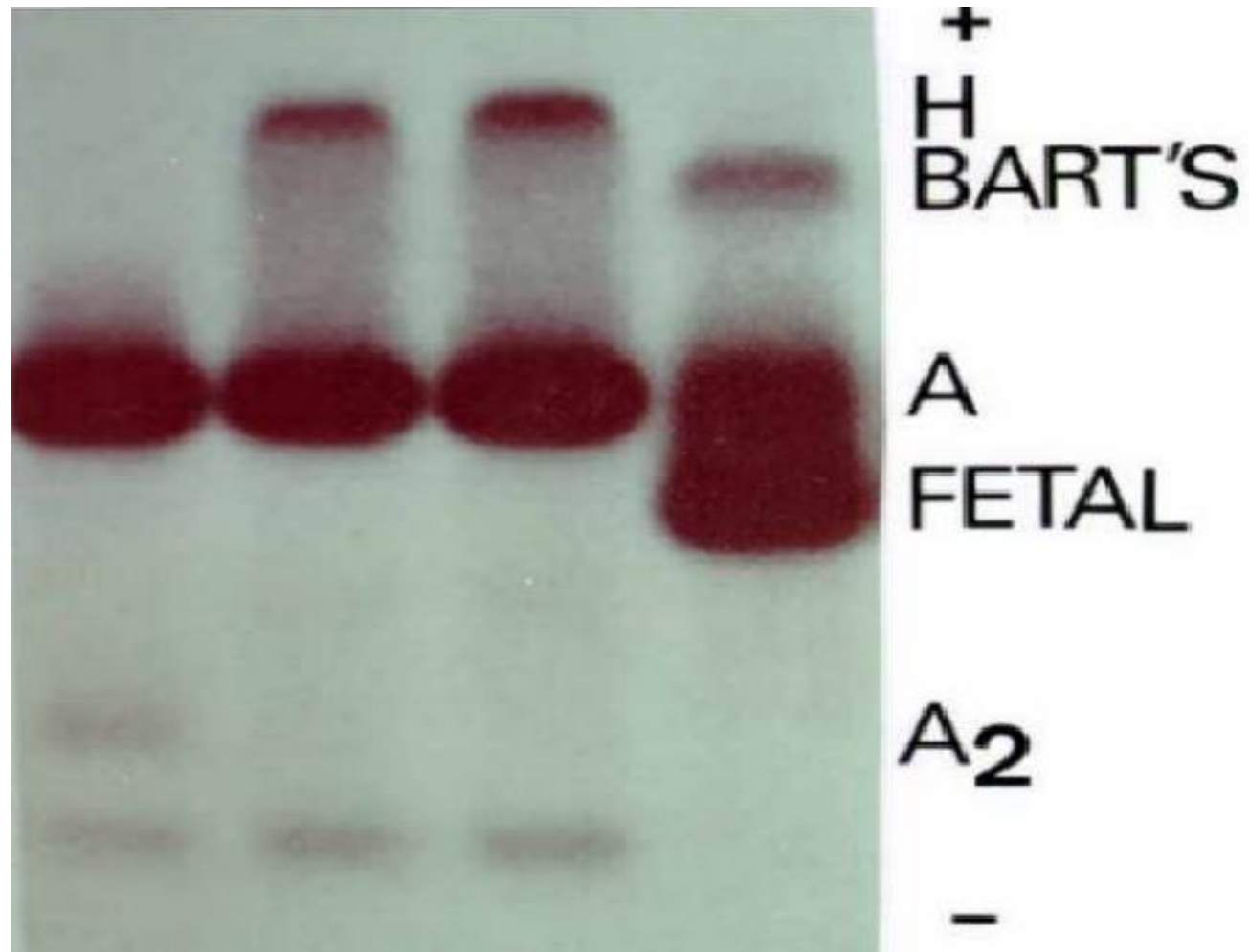
Foto extraída do site :

http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-59072006000200013&lng=pt&nrm=iss

Diagnóstico laboratorial

- GV, Ht, Hb, VCM, HCM ↓
- HbA1c ↓
- Eletroforese de Hb em pH alcalino:
 - HbH (crianças e adultos)
 - HbBart (recém-natos)
- Anisocitose : microcitose
- Hipocromia
- Policromasia

Eletroforese



Diagnóstico laboratorial

- RDW normal
- Corpúsculos de Heinz
- Bilirrubina indireta ↑
- Pontilhado basófilo e hemácias em alvo – heterozigótica
- Curva de fragilidade osmótica desviada para esquerda
- Ferro sérico e ferritina ↑

Talassemia delta-beta

- Homozigoto: ausência das cadeias beta e delta, portanto HbA e HbA₂ estão ausentes.
- A produção de cadeias gama (HbF) embora aumentada, não é suficiente para balancear totalmente a falta da delta e beta, resultando um quadro clínico de talassemia intermedia.
- Os heterozigotos têm talassemia minor com 5 a 20% de HbF e HbA₂ normal.

ENZIMOPATIAS

Deficiência de G6PD

- Deficiência de Glicose 6 P desidrogenase
- Sintomas podem se apresentar nas primeiras 24 horas de vida
- Desencadeada por infecções graves ou ingestão de agentes oxidantes: antimaláricos, AAS
- Alterações no gene localizado no cromossomo X
- Expressão completa em homem ou mulher homozigota

Tabela 1 - Drogas com possibilidade de desencadear hemólise na deficiência de G6PD (*modificado de Sackey, 1999*)

Antimaláricos

Primaquina

Pamaquina

Cloroquina

Sulfonamidas e sulfonas

Sulfapiridina

Sulfasalazina

Sulfoniluréia

Sulfonamidas

Sulfacetamida

Sulfisoxazole

Difenilsufona

Sulfametoxazol

Sulfadimidina

Analgésicos

Aspirina

Anti-helmínticos

Niridazol

Estibofen

Beta-Naftol

Miscelânea

Vitamina K e análogos

Naftalina

Probenecid

Dimercaprol

Azul de metilenol

Ácido ascórbico

Antibacterianos

Ciprofloxacina

Cloranfenicol

Ácido nalidíxico

Nitrofurantoina (*nitrofurantoina*,
furazolidona, nitrofurazona)

Deficiência de G6PD

- G6PD- via das pentoses e produção de NADPH a partir de NADP
-  NADPH – acúmulo de H_2O_2 – oxidação Hb e diminuição da sobrevivência do eritrócito
- Desnaturalização Hb- Corpúsculo de Heinz- hemólise extravascular

Diagnóstico

- Dosagem de G6PD
- Pode ser realizada pelo teste do pezinho
- Pacientes com deficiência de G6PD apresenta resistência natural ao *Plasmodium falciparum*
- Tratamento baseado na presença das crises hemolíticas

Deficiência de PK

- PK: cataliza a formação do piruvato a partir do **fosfoenol-piruvato** com liberação de ATP
- < ATP para funcionamento da bomba de Na e K
- < K e H₂O intracelular a alteração da conformação eritrocítica e formação de espículos
- Perda da capacidade de deformabilidade

Deficiência de PK

- Produção de esferócitos com resistência globular osmótica diminuída
- Hemólise extravascular
- Indicação de esplenectomia
- Anisocitose
- Eritroblastos circulantes
- Níveis de Hb entre 6,0 e 12,0 mg/dl

Deficiência de PK

- Deficiência de piruvato quinase é muito variável.
- Doença geralmente identificada na infância, porém ocorrem casos cujas manifestações acontecem na fase adulta.
- Os sinais e sintomas são associados à hemólise crônica: icterícia, anemia, esplenomegalia e coletitíase.

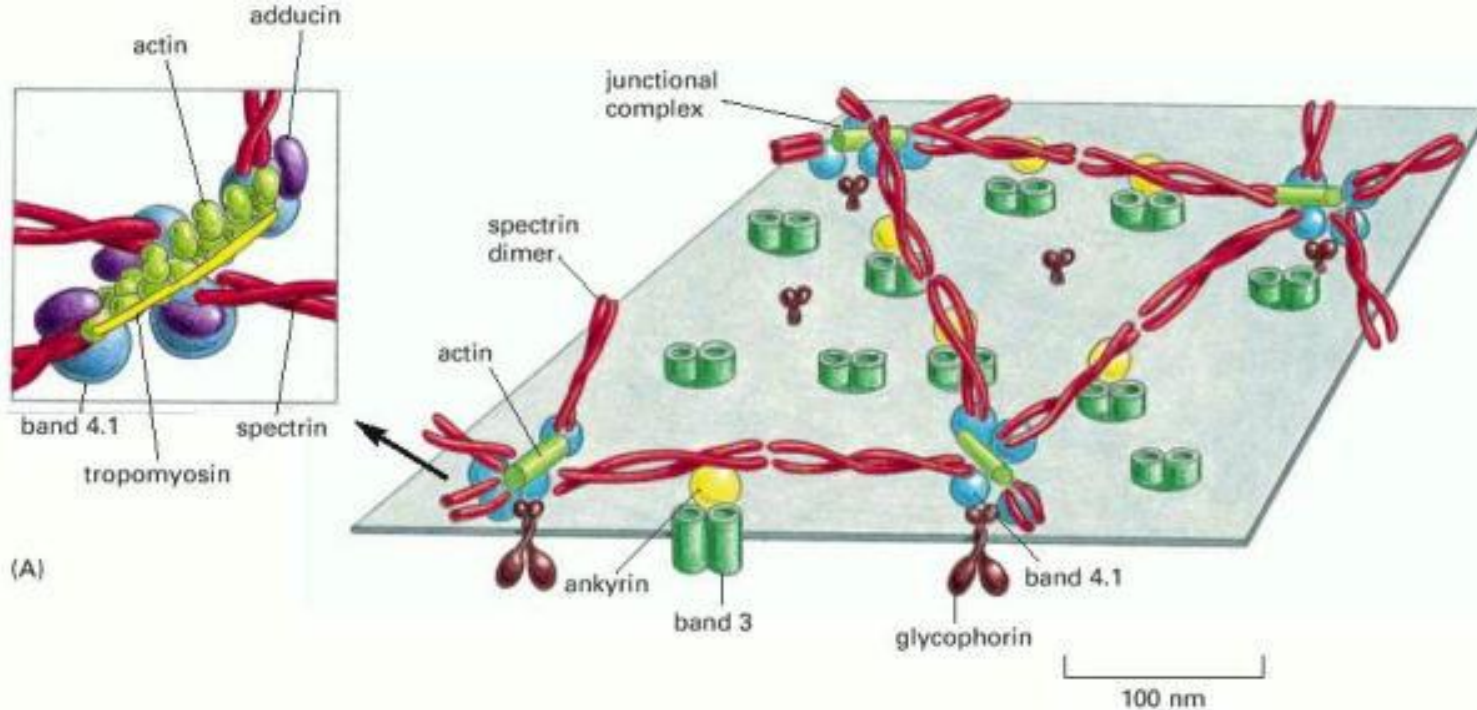
Diagnóstico

- Eritrócitos geralmente normocíticos e normocrômicos
- Reticulocitose entre 2,5 a 15%
- Pesquisa de Corpúsculos de Heinz
- Dosagem de PK

Anomalias de membrana

Esferocitose hereditária

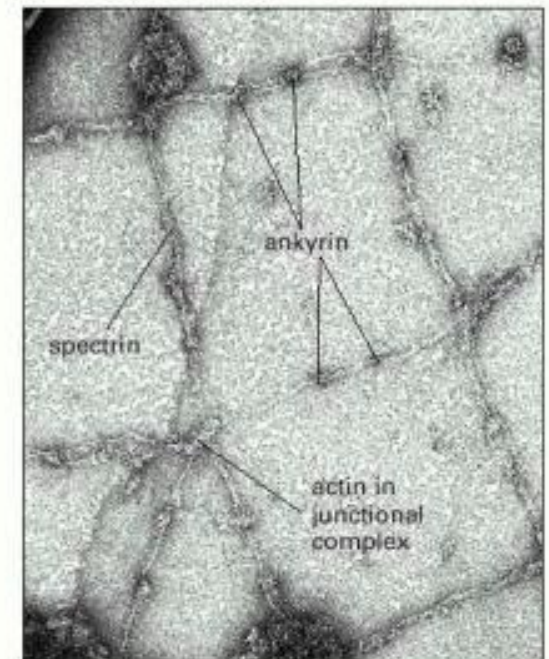
- Prevalência caucasiana com maior frequência nos EUA e Europa, pouco comum em negros e asiáticos.
- 4 tipos de defeitos:
 - deficiência de espectrina
 - deficiência combinada de espectrina e anquirina
 - deficiência isolada de banda 3
 - deficiência isolada da proteína 4.1



Espectrina: confere flexibilidade

Actina: responsável pela forma hexagonal do citoesqueleto

Anquirina: Interage com a espectrina



Esferocitose hereditária

- Alteração autossômica dominante – 75%
- Principal alteração na expressão do gene da espectrina
- Perda de membrana e  área de superfície
- Desequilíbrio osmótico com influxo de Na^+
- Célula perde biconcavidade pelo acúmulo de água – esferócitos
- Crises hemolíticas esplênica

Esferocitose hereditária

- Pode ser assintomática
- Esplenomegalia
- Icterícia
- Colelitíase pelo turnover de hemoglobina

Diagnóstico laboratorial

- Hb: entre 7 a 12 mg/dl
- VCM: Normal ou ↓
- CHCM ↑
- Reticulócitos ↑
- Bilirrubina
- Presença de esferócitos

Diagnóstico laboratorial

- Células “hipercoradas” com ausência de halo central
- Curva de fragilidade osmótica aumentada em solução salina hipotônica
- Ectacitometria – avalia o índice de deformidade eritrocitária pelo ectacitômetro (pesquisa)

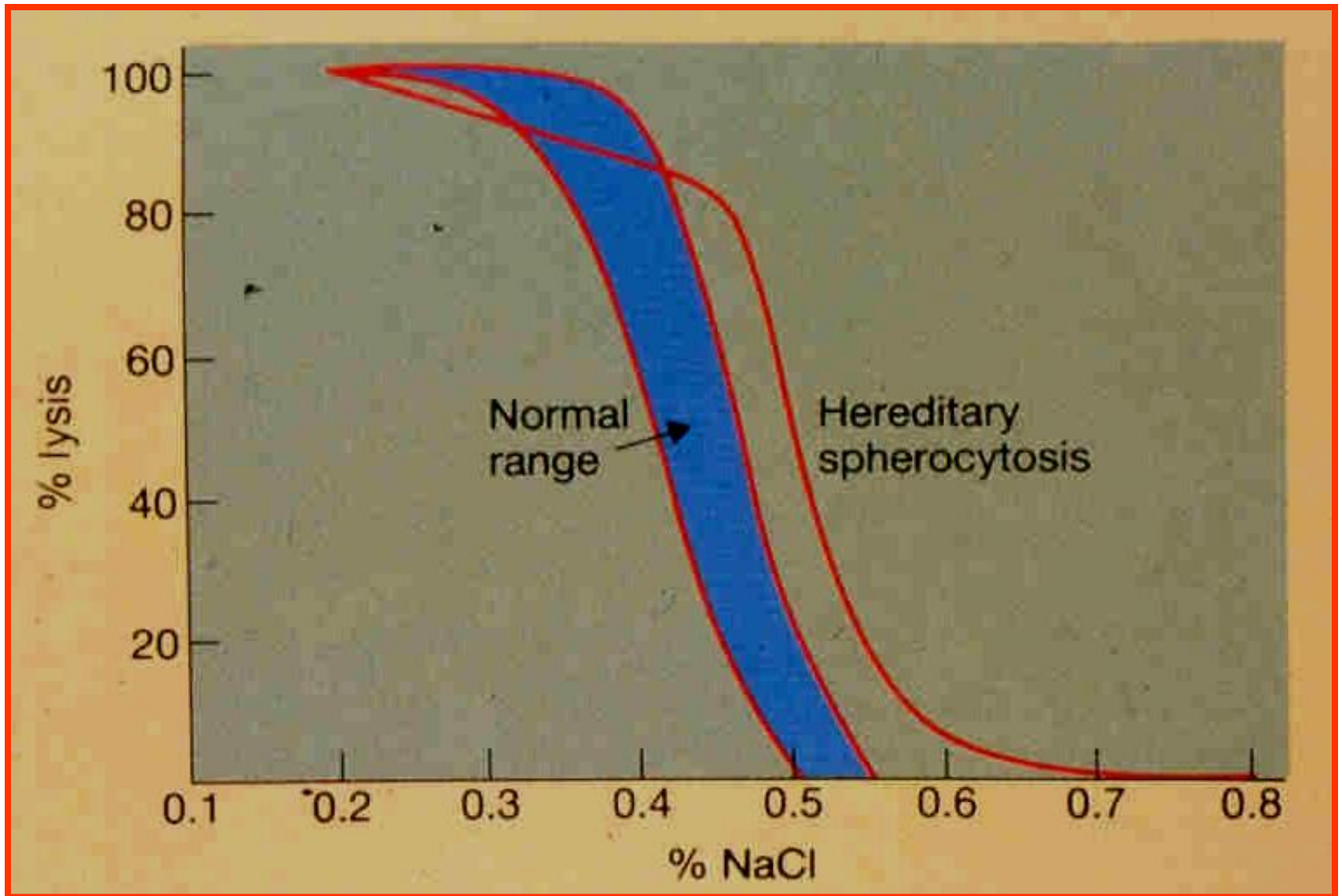
Curva de fragilidade osmótica

tubos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
NaCl 1%	1,5	1,8	2,1	2,4	2,7	3,0	3,3	3,6	3,9	4,2	6,0	-
H2Od	4,5	4,2	3,9	3,6	3,3	3,0	2,7	2,4	2,1	1,8	-	6,0
Título Sol NaCl	0,25	0,3	0,35	0,4	0,45	0,5	0,55	0,6	0,65	0,7	1,0	-

Curva de fragilidade osmótica

- Interpretação:
- % hemólise = $\frac{\text{DO amostra}}{\text{DO tubo 11}} \times 100$

VR: hemólise inicial: 0,50%
 hemólise final : 0,30%



Talassemia : Hemolise inicial: 0,4. Hemolise total: 0,2

HPN – Hemoglobinúria Paroxística noturna

- Mutação somática no gene PIG-A no cromossomo X
- Déficit na produção da proteína GPI - glicosil-fosfatidil-inositol
- Alterações nas proteínas reguladoras de membrana (CD55 e CD59) ancoradas na ptn GPI que acarretam uma sensibilidade anormal ao complemento

HPN – Hemoglobinúria Paroxística noturna

- Alterações membranaais com deficiência de proteínas responsáveis pela proteção contra lise pelo complemento
- Levam a hemólise intravascular
 - Hemoglobinúria, hemossiderinúria, anemia, trombocitopenia e tendência a fenômenos trombóticos.
 - Insuficiência renal aguda pode ocorrer em associação às crises hemolíticas

HPN – Hemoglobinúria Paroxística noturna

- “Episódio noturnos: “
 - ↑ hipoventilação fisiológica
 - ↑ acidose
 - ↑ aumento de sensibilidade à lise pelo complemento
- Granulócitos e plaquetas compartilham da alteração membranal.

Manifestações clínicas

- Cansaço excessivo
- Icterícia
- Trombose
- Aplasia medular
- Propensão a infecções

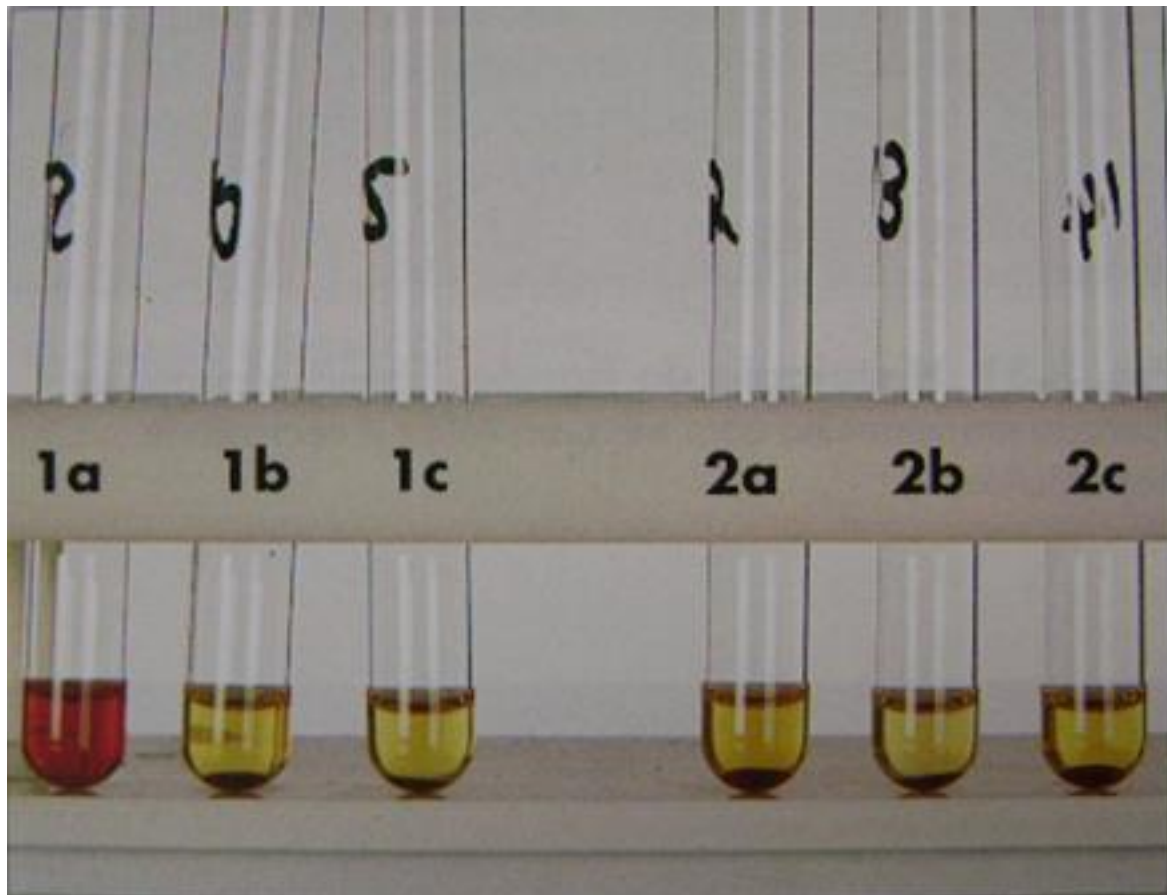
Quadro laboratorial

- Sangue periférico
 - Anemia
 - Leucopenia, granulocitopenia
 - Deficiência de ferro
 - Hb: perto de 6 mg/dL
 - Dosagem de LDH alta
- Urina
 - Hemoglobinúria
 - Hemossiderinúria

Diagnóstico laboratorial

- Citometria de fluxo com ac monoclonais contra ag CD55 e CD59- granulócitos e eritrócitos.
- Teste de hemólise em sacarose:
 - avalia a sensibilidade das hemácias ao complemento em meio de baixa força iônica, que favorece a fixação de complemento na superfície das hemácias.
- Teste de HAM
 - Verifica a sensibilidade das hemácias ao complemento em soro acidificado

Teste de HAM



Tratamento

- Estratégias terapêuticas com utilização de anticorpos monoclonais humanizados (eculizumab) contra frações protéicas do complemento
- Transfusão
- Transplante de células tronco hematopoéticas

Acantocitose

- Autossômico recessivo
- Deficiência de β lipoproteína
- Hipolipidemia e distúrbio de síntese da membrana dos eritrócitos dando origem à acantocitos
- Quadro neurológico
- A hemólise pode ser controlada com a ingestão de vitamina E, que atua como antioxidante

Acantocitose

