



Centro Universitário de Brasília – CEUB
Faculdade de Ciências da Educação e Saúde

DANIELLY BEZERRA DA SILVA

MARIA EDUARDA HONDA

**AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES EM CÃES DIAGNÓSTICADOS
COM ANEMIA HEMOLÍTICA IMUNOMEDIADA**

BRASÍLIA

2022

DANIELLY BEZERRA DA SILVA

MARIA EDUARDA HONDA

**AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES EM CÃES DIAGNÓSTICADOS
COM ANEMIA HEMOLÍTICA IMUNOMEDIADA**

Monografia apresentada à Faculdade de Ciências da Educação e Saúde para obtenção do grau de bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador Prof^o Msc. Lucas Edel Donato.

BRASÍLIA

2022

DANIELLY BEZERRA DA SILVA

MARIA EDUARDA HONDA

**AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES EM CÃES DIAGNOSTICADOS
COM ANEMIA HEMOLÍTICA IMUNOMEDIADA**

Monografia apresentada à Faculdade de
Ciências da Educação e Saúde para obtenção do
grau de bacharel em Medicina Veterinária.

Brasília, 12 de Dezembro de 2022.

Banca Examinadora

Prof.º Msc. Lucas Edel Donato
Orientador

Marcel Batista dos Passos
Examinador

Marcella Adriene Sabino Pinho
Examinador

AGRADECIMENTOS

Os mais carinhosos, sinceros e gratos agradecimentos aos meus pais, Marcus Vinicius e Lidiane, por todo amor, respeito e compreensão dedicados a mim, por me fazerem extensão das melhores qualidades que um ser humano deve carregar consigo, por serem abrigo nos momentos de dificuldade e a base para que todos os meus sonhos se projetem na realidade. Á minha irmã, Adriana, por ser minha companheira de vida, embarca em todas as minhas loucuras e nunca soltar minha mão em qualquer que seja a circunstância.

Aos meus avós maternos, Casumi e Maria Idê, a minha madrinha Bruna e tia avó Aparecida, por formarem meu fã clube número 1 declarado e estarem sempre de camarote assistindo e torcendo como ninguém pela minha plena felicidade e sucesso em todos os âmbitos possíveis.

Às amigas que a Veterinária me presenteou, Beatriz de Queiroz, Danielly Bezerra, Isabella Queiroz e Marcela Fernanda que levarei ternamente comigo, obrigada por toda ajuda, acolhimento, apoio, risadas, lamentações, muitos surtos regados a café, por fazerem essa caminhada ter sido bem mais leve e cheias de boas memórias.

Ao Gabriel Alencar, que chegou e mudou tudo, se tornou meu melhor amigo e o companheiro com quem passei a compartilhar a vida, obrigado por tornar meus anseios, sonhos e projetos os seus, por vibrar com minhas conquistas por menores que sejam, por toda força e incentivo e principalmente por querer crescer ao meu lado sempre.

Ao Centro Universitário de Brasília – CEUB, instituição em que escolhi e ingressei minha graduação, onde por cinco anos desenvolvi inúmeros aprendizados e aproveitei diversas oportunidades oferecidas. A todo corpo docente, por fazerem parte importante no meu crescimento pessoal e profissional e exercerem com eximia competência e profissionalismo a arte de educar, em especial ao professor Lucas Edel que de braços abertos aceitou o convite de orientar-me neste trabalho e não mediu esforços para que este fosse finalizado com excelência.

RESUMO

A Anemia Hemolítica Imunomediada (AHIM) é uma enfermidade com alta morbidade e mortalidade. Trata-se de um distúrbio mais diagnosticado em cães, em relação aos gatos, com destaque para algumas raças como: Collie, Poodle, Springer Spaniel, Bichon Frisé, Pinscher miniatura, Schnauzer miniatura e principalmente o Cocker Spaniel. É classificada em não associada ou associada quando relacionada a causas de base. As anemias na AHIM são predominantemente regenerativas, com a presença de anisocitose, corpúsculo de Howell-Jolly, ponteados basofílicos, hemácias nucleadas e reticulócitos. Porém em cerca de 30% dos pacientes pode apresentar anemia arregenerativa, podendo isto estar associado ao processo hemolítico agudo ou mesmo as imunoglobulinas direcionadas contra os precursores eritróides na medula óssea. Com base nisso, a pesquisa partiu da problemática referente à dificuldade apresentada pelo clínico veterinário no diagnóstico da doença em questão, visto as inúmeras manifestações clínicas e a vasta etiologia da patologia. Com o objetivo de realizar uma revisão de literatura sobre os achados clínicos, laboratoriais e técnicas diagnósticas em cães diagnosticados com AHIM. Através de uma revisão de literatura do tipo narrativa e utilizando plataformas de busca como, o Google Acadêmico e PubMed, além de base de dados como o Scielo, Cochrane, Embrase e Lilacs. Com as seguintes palavras chave: Anemia Hemolítica Imunomediada, comorbidade, diagnóstico, aglutinação em salina, hemólise, esferocitose, proteínas, antígenos, sistema imune e cães. Possui grande relevância na medicina veterinária, visto sua alta taxa de mortalidade e muitas vezes vai exigir abordagens emergenciais. Deste modo, tem-se em vista o impacto diagnóstico que a ciência dos principais biomarcadores abordados no estudo pode influenciar no diagnóstico precoce e conseqüentemente no prognóstico do paciente. Além disso, por se tratar de uma patologia com diversas etiologias, algumas patogenias são desconhecidas, abrindo espaço para novas pesquisas na medicina veterinária, pois o conhecimento dos mecanismos de ação auxilia no diagnóstico e instituição terapêutica.

Palavras-chave: Anemia; Hemolítica Imunomediada; diagnóstico; hemólise.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURA 01** - Algoritmo diagnóstico para Anemia Hemolítica Imuno Mediada. 17
- FIGURA 02** - Esferócitos em esfregaço sanguíneo. 20
- FIGURA 03** - Aglutinação microscópica em cão com AHIM em Objetiva seca (40×), mostrando formação em cacho de uva. 21
- FIGURA 04** - Hematoscopia de cão demonstrando a formação de rouleaux eritrocitário, que pode ser confundido com aglutinação. 21
- FIGURA 05** - Teste da Antiglobulina Direta (TAD) ou Teste de Coombs Direto com anticorpos policlonais-monoespecíficos (anti-C3, anti-IgM e anti-IgG) em microplaca de hemaglutinação. 22
- FIGURA 06** - Citometria de Fluxo por representação gráfica das imunoglobulinas ligadas à membrana eritrocitária. 23

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AHIM – Anemia Hemolítica Imuno Mediada

C3 – Sistema Complemento

MHC – Complexo Principal de Histocompatibilidade

APCs – Células Apresentadoras de Antígenos

IgG – Imunoglobulina G

IgM – Imunoglobulina M

MAC – Complexo de Ataque à Membrana

ACVIM – American College of Veterinary Internal Medicine

TAD – Teste de Antiglobulina Direta

CF – Citometria de Fluxo

USG – Ultrassonografia

CID – Coagulação Intravascular Disseminada

TAS – Teste de Autoaglutinação em Salina

VCM – Volume Corpuscular Médio

CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

RDW – Red Cell Distribution Width

nRBC – Hemácias Nucleadas

PIF – Peritonite Infecciosa Felina

FITC – Isotiocianato de Fluoresceína

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. OBJETIVOS.....	10
3. METODOLOGIA.....	10
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	10
4.1. Anemia Hemolítica Imunomediada.....	11
4.2. Etiopatogenia da Anemia Hemolítica Imunomediada.....	11
4.3. Diagnóstico e Sinais Clínicos da Anemia Hemolítica Imunomediada.....	14
4.3.1. Diagnósticos Diferenciais.....	15
4.3.2. Anemia/Eritrograma.....	17
4.3.3. Sinais de Destruição Imunomediada.....	19
4.3.3.1. Esferocitose.....	19
4.3.3.2. Teste de Aglutinação em Salina Positivo.....	20
4.3.3.3. Teste de Antiglobulina Direta (TAD) – Teste de Combs.....	21
4.3.3.4. Citometria de Fluxo.....	23
4.3.4. Sinais de Hemólise.....	24
4.3.4.1. Hiperbilirrubinemia.....	24
4.3.4.2. Hemoglobinemia/Hemoglobinúria.....	24
4.3.4.3. Eritrócitos Fantasmas.....	25
4.3.5. Teste para Doenças Infecciosas.....	25
5. TRATAMENTO.....	25
6. CONCLUSÃO.....	27
7. REFERÊNCIAS.....	28

1. INTRODUÇÃO

Os eritrócitos são células sanguíneas capazes de transportar hemoglobina, a qual é responsável por carrear oxigênio para os diversos tecidos do organismo. Sua morfologia é variável entre as espécies, entretanto, a maior parte dos mamíferos possuem o formato bicôncavo. Essa estrutura é mantida devido à membrana permeável e flexível que envolve os eritrócitos, composta por lipídios, carboidratos e principalmente pelas proteínas que compõem o citoesqueleto da célula (THRALL; WEISER, 2017). As proteínas também se apresentam como receptores envolvidos em funções complexas, que permitem a comunicação entre as células, transporte de macromoléculas, adesão celular e reconhecimento imunológico (MURADOR; DEFFUNE, 2007). Ademais, proteínas de membrana da hemácia são capazes de serem reconhecidas como antígeno e desencadear patologias imunológicas como a Anemia Hemolítica Imunomediada (CASTILHO; LIMA; CRUZ et al 2016).

A AHIM é um distúrbio imunológico mais diagnosticado nos cães (71%) em relação aos gatos (13%). É caracterizada por uma reação de hipersensibilidade do tipo II, resultando na lise precoce dos eritrócitos no meio extravascular (80 a 90% dos casos), mediada pelo sistema monocítico fagocitário e, eventualmente, intravascular, por meio da ação de imunoglobulinas ou pelo sistema complemento (C3) (JERICÓ; NETO; KOGIKA, 2019). A AHIM é comumente relacionada a quadros anêmicos agudos, de moderados a intensos, que podem exigir abordagens emergenciais. Sendo frequentemente observada cursando com alterações laboratoriais de uma anemia tipicamente regenerativa, com a presença de macrocitose, policromasia, reticulocitose e eritroblastose. Porém pode se manifestar sem regeneração, o que gera um impacto negativo no prognóstico do paciente (BRANDÃO; IKESAKI; MIYASHIRO et al 2004).

A AHIM pode ser classificada como primária ou não associada (idiopática ou autoimune) ou secundária ou associada. Na rotina clínica de pequenos animais, a doença primária é a mais diagnosticada, com aproximadamente 60 a 75% dos casos, sendo mais observada nas raças Cocker Spaniel, Sheepdog, Collie, Poodle, Springer Spaniel, Irish Setters, Bichon Frise, Pinscher miniatura e Schnauzer miniatura. Contudo, esses dados podem não representar uma predominância real, visto que raramente todas as causas de AHIM são elucidadas. Deste modo, esses dados podem estar refletindo uma dificuldade do clínico na detecção de causas secundárias para a doença (JERICÓ; NETO; KOGIKA, 2019). Sendo estas resumidas em 5 grandes categorias: doenças infecciosas, doenças inflamatórias, drogas e toxinas, neoplasias e vacinas (GARDEN; KIDD; MEXAS et al 2019).

As manifestações clínicas variam de acordo com o tempo de estabelecimento da doença (agudo ou crônico), com a intensidade da anemia, com os mecanismos compensatórios, tais como aumento das frequências cardíaca e respiratória. Além do grau de hipóxia tecidual e das variantes presentes nas diversas causas de base da AHIM associada. Os sinais clínicos mais comuns são intolerância ao exercício e ao frio, cansaço, fraqueza, apatia, apetite caprichoso ou anorexia, mucosas pálidas ou ictéricas, taquicardia, taquipneia, sopro cardíaco dentre outros (JERICÓ; NETO; KOGIKA, 2019).

Visto, as inúmeras causas e manifestações clínicas que a patologia pode causar, o diagnóstico se mostra desafiador. Em especial, no que se refere a diferenciação da AHIM em não associada ou associada a fatores desencadeadores ou distúrbios de base (GARDEN; KIDD; MEXAS et al 2019). Assim sendo, o presente trabalho visa auxiliar na rotina do clínico veterinário, com evidências para contribuir com o raciocínio clínico acerca da probabilidade de uma determinada comorbidade estar incurso no mecanismo fisiopatológico da AHIM, junto aos métodos diagnósticos mais assertivos visando os pacientes de forma individualizada, uma vez que, o diagnóstico rápido permite a instituição do tratamento adequado em tempo hábil.

2. OBJETIVOS

Realizar uma revisão de literatura sobre os achados clínicos, laboratoriais e técnicas diagnósticas em cães diagnosticados com Anemia Hemolítica Imunomediada (AHIM).

3. METODOLOGIA

O presente trabalho trata-se de uma revisão de literatura do tipo narrativa em que não se faz uso de fatores explícitos e sistemáticos para fins de pesquisas pormenorizadas embasadas em literatura, e não se findam as fontes de informação sobre o tema em foco, sendo a mesma não pré-determinada e característica. A triagem de materiais e interpretação das informações obtidas podem estar sujeitas a viés de apuração e subjetividade.

O processo de levantamentos bibliográficos foi catalogado e realizado através do Mendeley, software específico, que possibilita fácil acesso remoto de diversos dispositivos com acesso à internet sobre todo o material inserido. E foram utilizados sites como, Cochrane, Embrase, Google Acadêmico, Lilacs, PubMed e Scielo, para pesquisa e elaboração.

Para maior facilidade de levantamento e busca por materiais, palavras chaves foram utilizadas auxiliando na filtragem em específico acerca do tema abordado, tais como, Anemia Hemolítica Imunomediada, comorbidade, diagnóstico, aglutinação em salina, Teste de Antiglobulina Direta, teste de Coombs direto, Citometria de Fluxo, hiperbilirrubinemia, hiperglobulinemia, hemólise, esferocitose, proteínas, antígenos, sistema imune, cães.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. Anemia Hemolítica Imunomediada

A Anemia Hemolítica Imunomediada (AHIM) é uma enfermidade de alta morbidade e mortalidade que acomete cães e gatos (BRANDÃO; IKESAKI; MIYASHIRO et al 2004). Nesta ocorre a diminuição na quantidade de eritrócitos em decorrência da destruição por imunoglobulinas ou pelo sistema complemento, pela formação do complexo de ataque à membrana, caracterizada como hemólise intravascular, ou também por decorrência de hemólise extravascular, que se dá pela destruição causada pelo sistema monocítico fagocitário, em que os autoanticorpos patogênicos possuem como alvo os epítomos da membrana eritrocitária, desencadeando um mecanismo mediado por receptores de fração cristalizável estes por sua vez mediados por macrófagos. O complemento então pode atuar com anticorpos fixados aos eritrócitos, ocasionando a hemólise extravascular (CASTILHO; LIMA; CRUZ et al 2016).

Pode-se haver múltiplas manifestações clínicas decorrentes da afecção em questão, e seus quadros geralmente são de evolução aguda, principalmente em cães, responsivas ou não à tratamentos imunossupressores única e usualmente com corticosteroides, com prognósticos particulares a cada animal. Um rápido diagnóstico que descarte demais causas de anemia em detrimento a AHIM é essencial para que se estabeleça terapêutica adequada (GARDEN; KIDD; MEXAS et al 2019).

4.2. Etiopatogenia da Anemia Hemolítica Imunomediada

Em condições homeostáticas, a imunidade inata e adaptativa é mantida por mecanismos de regulação que garantem a tolerância imunológica, visando a prevenção da autoimunidade. A maioria dos linfócitos T e B reativos são detectados durante sua maturação, na chamada tolerância central. Um mecanismo, que consiste na exposição destas células aos autoantígenos como peptídeos ligados a uma molécula do Complexo Principal de Histocompatibilidade em seus respectivos órgãos linfoides geradores, timo e medula óssea. Desta forma, se um linfócito imaturo interagir fortemente com um antígeno próprio, este receberá sinais que desencadeiam uma cascata de reações que culminam em sua apoptose (NATARAJAN; JIANG; MAY et al 2018). Trata-se de um processo conhecido como seleção negativa, sendo o mecanismo principal da Tolerância central e desencadeador da deleção de células aberrantes. Ademais, algumas células TCD4 imaturas que reconhecem autoantígenos, não são eliminadas, mas se transformam em células T reguladoras (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2016).

Visto que, a tolerância central pode ser imperfeita, linfócitos maduros autorreativos pode também ser encontrados na circulação de indivíduos saudáveis. Deste modo, o organismo lança mão de um outro método de regulação, a tolerância periférica. Sendo induzida quando células T maduras reconhecem autoantígenos em tecidos periféricos, levando à sua inativação

funcional (anergia), morte (apoptose), ou quando os linfócitos autorreativos são suprimidos por células T reguladoras. Sendo assim, quando ocorre a autoimunidade, há uma quebra nos mecanismos regulatórios, ou seja, da tolerância imunológica, levando a doenças autoimunes (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2016). As condições que podem influenciar na falha da tolerância incluem neoplasias, genética e gatilhos ambientais que levam a perturbação exacerbada do sistema imune, como doenças infecciosas e inflamatórias (NELSON; COUTO; DAVIDSON et al 2014). Na medicina humana, a AHIM é reconhecida como consequência de síndromes paraneoplásicas, principalmente com o envolvimento de leucemias linfocíticas crônicas (GARDEN; KIDD; MEXAS et al 2019). No entanto, o mecanismo de ação que relaciona as neoplasias com a anemia hemolítica ainda é desconhecido na medicina humana e veterinária. Podendo ser a associação das malformações com AHIM uma infeliz eventualidade. Todavia, existe a teoria, em que, os antígenos tumorais estimulam a produção de autoanticorpos que interagem por reações cruzadas com os eritrócitos (CASTILHO; LIMA; CRUZ et al 2016). Destacam-se as neoplasias consideradas como potenciais fomentadoras da AHIM em cães o hemangiossarcoma, linfoma, leucemia linfocítica, sarcoma difuso, carcinomas gástricos e pulmonares (JERICÓ; NETO; KOGIKA, 2019).

A genética, notadamente, expressa um papel importante no desenvolvimento da AHIM não associada na Medicina Veterinária, visto que, algumas raças destacam-se pela prevalência na rotina clínica, como o Sheepdog, Collie, Poodle, Springer Spaniel, Irish Setters, Bichon Frisé, Pinscher miniatura, Schnauzer miniatura e principalmente, o Cocker Spaniel e seus mestiços (JERICÓ; NETO; KOGIKA, 2019). Além disso, a endogamia, que se mostra relativamente comum entre as populações de cães, agrava as heranças familiares (NELSON; COUTO; DAVIDSON et al 2014). E segundo alguns estudos mostra-se diretamente relacionada a alterações nos alelos específicos MHC em animais e humanos. Uma vez que, as moléculas do MHC do tipo I e II possuem como principal função a apresentação de autoantígenos peptídicos às células linfoides envolvidas em respostas imunes humorais e mediadas por células, essas funções podem ser comprometidas ou falhas (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2016).

Entende-se que os fatores ambientais são, muitas vezes, gatilhos para o desenvolvimento da autoimunidade. A exposição a agentes infecciosos de forma natural ou por meio de vacinação, é um fator identificado. Os mecanismos pelos quais os agentes infecciosos podem induzir autoimunidade, incluem o chamado mimetismo molecular, este acontece quando microrganismos infecciosos são capazes de produzir antígenos peptídicos semelhantes aos autoantígenos. As respostas imunes a esses antígenos podem levar a uma reação cruzada com

antígenos próprios e conseqüentemente, dano tecidual. Além disso, infecções induzem uma resposta imune inata local, com aumento da produção de coestimuladores e citocinas pelas células apresentadoras de antígenos (APCs). Estas APCs podem estimular células autorreativas, principalmente linfócitos, que agem contra autoantígenos no tecido. Em suma, algumas infecções que levam a exacerbada perturbação do sistema imune, inclusive inflamações crônicas, podem desencadear a ativação de linfócitos autorreativos e exaustão das células T reguladoras. Esse acontecimento pode levar a doenças autoimunes em pacientes que já têm predisposição genética (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2016).

Alguns microrganismos, fármacos e toxinas podem causar dano à membrana celular e, por conseguinte, exposição de antígenos, que até então, o sistema imune não tinha acesso e desencadeia uma reação autoimune contra o tecido. Ou até a adsorção de antígenos ou moléculas na membrana dos eritrócitos, fazendo com que a célula como um todo seja eliminada pelo sistema imune (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2016). Medicamentos como as cefalosporinas de 2º e 3º geração, penicilinas, tetraciclínas, sulfas, diclofenaco, dipirona, paracetamol, furosemida, ranitidina e cloridrato de levamisol possuem potencial para despertar tais reações (JERICÓ; NETO; KOGIKA, 2019). Ademais, algumas infecções como a erliquiose, babesiose, leishmaniose, dirofilariose e leptospirose podem tanto mimetizar uma anemia autoimune, quanto estimular uma autoimunidade verdadeira (NELSON; COUTO; DAVIDSON et al 2014).

Na babesiose há a invasão dos eritrócitos pelos protozoários, *Babesia canis* ou *Babesia gibsoni* e respostas imunes são direcionadas contra essas células infectadas, causando sua destruição. Na leptospirose ocorre hemólise intravascular em decorrência a injúria nas hemácias provocadas por fosfolipases sintetizadas pelo agente. Por fim, na erliquiose, leishmaniose visceral e dirofilariose, o processo anêmico hemolítico não está bem estabelecido. Porém, acredita-se na destruição dos eritrócitos por meio do Sistema Monocítico Fagocitário (SMF) (CASTILHO; LIMA; CRUZ et al 2016).

Já no que tange o potencial das vacinações na autoimunidade, há dificuldades nos estudos em estabelecer relações entre causa e efeito devido à alta frequência de vacinação e a baixa prevalência de efeitos adversos (NELSON; COUTO; DAVIDSON et al 2014). Para mais, toxinas como a miletidina, um composto presente no veneno das abelhas, é capaz de penetrar nas camadas de fosfolipídios da membrana eritrocitária e desta forma, gerar uma resposta imune humoral contra as hemácias (CASTILHO; LIMA; CRUZ et al 2016).

Independente do estímulo para desencadeamento da AHIM, a reação de hipersensibilidade do tipo II destaca-se como mecanismo principal de hemólise, que envolve

citotoxicidade mediada pela ligação de anticorpos a antígenos na membrana do eritrócito por meio do sistema complemento ou celular. Sendo a imunoglobulina G (IgG) e imunoglobulina M (IgM) mais comumente identificadas na patologia. Os antígenos reconhecidos podem ser antígenos próprios, sendo identificado nos cães anticorpos direcionados contra a espectrina banda 3 e à família de glicoproteínas de membrana, chamadas de glicoforinas. Ainda, agentes infecciosos e toxinas ligados à superfície celular e, até mesmo, alvos não biológicos, como fármacos sob a membrana celular podem suceder esta resposta (ROITT; DELVES et al 2018).

Na hipersensibilidade do tipo II há a indução da produção de anticorpos por linfócitos B auto reativos. Anticorpos IgG, aderem-se a antígenos na membrana dos eritrócitos (opsonização) e posteriormente a receptores Fc de macrófagos, com isto as hemácias são removidas da circulação, pelo SMF presente em vários órgãos, principalmente fígado, baço e medula óssea, sendo este o processo da hemólise extravascular na AHIM. Além disso, os macrófagos podem realizar a eritrofagocitose parcial das hemácias, resultando em esferócitos, que são eritrócitos menores, sem palidez central, mais frágeis e com meia vida menor. Na hemólise intravascular há o envolvimento da IgM, que ativa o sistema complemento pela via clássica, resultando na produção e recrutamento de subprodutos do complemento e consequente formação do Complexo de Ataque à Membrana (MAC), que garante um canal de comunicação entre o meio intra e extracelular causando morte celular por desequilíbrio osmótico (DELVES; MARTIN; BURTON et al 2018). Vale ressaltar, que a hemólise extravascular é a mais proeminente no processo fisiopatológico da AHIM, mas muitas vezes, os processos hemolíticos são mistos (CASTILHO; LIMA; CRUZ et al 2016).

4.3. Diagnóstico e Sinais Clínicos da Anemia Hemolítica Imunomediada

O diagnóstico da AHIM se mostra desafiador, tendo em vista que não há, até então, um diagnóstico considerado como padrão ouro na medicina veterinária. Sendo assim, os testes diagnósticos mais direcionadores devem ser interpretados em combinação com os achados hematológicos sugestivos de hemólise e destruição imunomediada, assim como sinais clínicos, epidemiologia, fatores de predição e resposta terapêutica à imunossupressão (GARDEN; KIDD, MEXAS et al 2019). Ainda existe pouco consenso acerca do diagnóstico definitivo na literatura, destacando-se como mais apropriado o algoritmo diagnóstico para AHIM primária e secundária desenvolvido pelo American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM) em 2019, conforme a figura 1.

Ademais, etapas não devem ser perdidas para a total avaliação do paciente. Iniciando com o exame físico, que pode revelar mucosas pálidas ou ictéricas, febre, linfadenomegalia, sopro cardíaco sistólico em decorrência da redução da viscosidade sanguínea. Além de,

taquipnéia e taquicardia como mecanismos compensatórios da baixa oxigenação tecidual (THOMPSON; BIRCHARD, 2003).

Para mais, exames como hemograma completo, dosagens de proteína total e componentes bioquímicos, urinálise, exame detalhado do esfregaço sanguíneo, testes de autoaglutinação macroscópico e microscópico, teste de antiglobulina direta - TAD (teste de Coombs) e até citometria de fluxo (CF) são esclarecedores. Além de exames de imagem como a ultrassonografia (USG), que pode identificar hepatomegalia, esplenomegalia e possivelmente alterações necróticas, principalmente no fígado. Como também testes específicos para investigação da causa de base da anemia (JERICÓ; NETO, KOGIKA, 2019).

No leucograma, é comum a visualização de leucocitose por neutrofilia com desvio à esquerda e granulações tóxicas. Tal grau de leucocitose, tem sido relacionado a lesões necróticas secundárias no processo de hipóxia anêmica, doença tromboembólica associada ou ambas. Ademais, a taxa de proteína sérica total pode apresentar hiperglobulinemia. A urinálise é, em geral, utilizada para a avaliação de bilirrubinúria, hemoglobinúria e lesão renal (JERICÓ; NETO; KOGIKA, 2019).

A avaliação do esfregaço sanguíneo deve ser feita de maneira detalhada pelo patologista clínico veterinário, em especial, nos pacientes anêmicos. A observação de alterações eritrocitárias pode auxiliar no diagnóstico da anemia, como mudanças na morfologia, esferócitos, inclusões celulares por agentes infecciosos como, *Mycoplasma haemocanis* e *Babesia* spp. Além de mórulas de *Ehrlichia canis* ou gametócito de *Hepatozoon canis* (JERICÓ; NETO; KOGIKA, 2019).

4.3.1. Diagnósticos Diferenciais

A afecção em questão trata-se de uma patologia de diversas etiologias e patogenias ainda desconhecidas, com o tratamento baseando-se do princípio em embate a causa de base do quadro hemolítico, necessitando-se de exames laboratoriais e complementares, sendo testes sorológicos e moleculares com capacidade de reconhecer agentes infecciosos os mais solicitados. Para diagnósticos diferenciais é primordial que se faça a diferenciação das anemias hemolíticas imunomediadas das que não são, estas por sua vez podem incluir causas como, defeitos hereditários, tendo como exemplo, a deficiência de piruvato quinase, deficiências de fosfofrutoquinase, fragilidade osmótica eritrocitária hereditária dentre outras. As exposições a agentes oxidantes, como zinco, cebola e alho, que levam a quebra do metabolismo antioxidativo do eritrócito mudando sua característica morfológica, ocasionando à constituição de corpúsculo de Heinz (CASTILHO; LIMA; CRUZ et al 2016).

A Anemia hemolítica microangiopática ocorre devido a danos nos eritrócitos por modificações em microvasculatura, originando a formação de microtrombos intravasculares, deteriorando as células, quando as mesmas se aderem aos filamentos de fibrina. A relatos de animais com quadros de hipofosfatemia que resultaram em hemólise intravascular, ocorridos em virtude ao impedimento da glicólise eritrocitária acarretando redução na concentração de ATP nas hemácias, quadros estes relatados correlacionados a doenças diabéticas e alimentação enteral. A Coagulação Intravascular Disseminada (CID) é uma complicação predisposta a animais diagnosticados com AHIM, devido a hipercoagulação, podendo os mesmos virem a desenvolver tromboembolismo pulmonar, devendo assim os animais com AHIM serem avaliados quanto ao tempo de coagulação (CASTILHO; LIMA; CRUZ et al 2016).

Os exames de imagem radiográficos e ultrassonográficos auxiliam nos diagnósticos, por serem capazes de identificar inúmeras doenças precursoras ou que mimetizam a AHIM, como é caso de processos neoplásicos como linfomas e mielomas (CASTILHO; LIMA; CRUZ et al 2016).

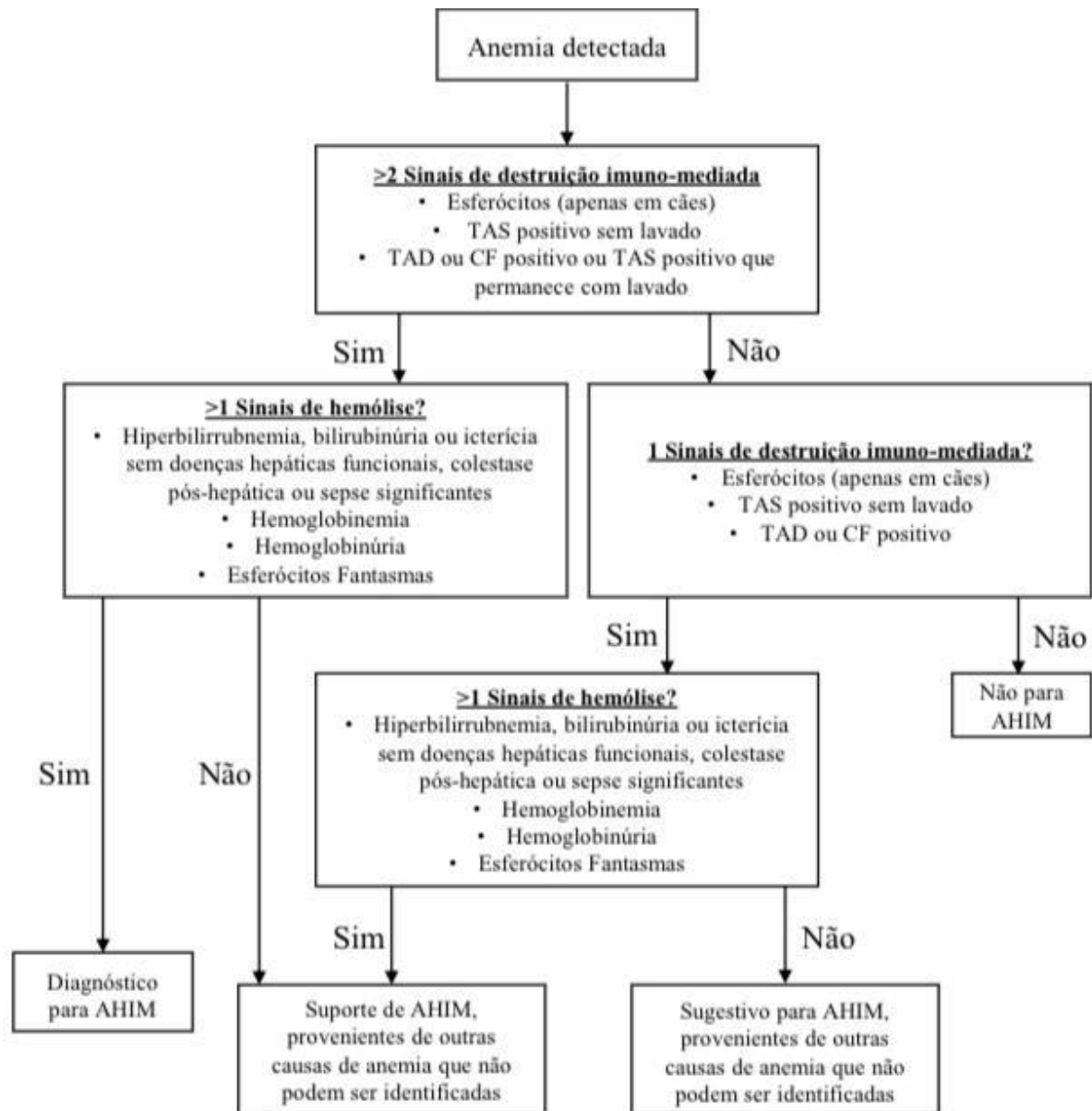


Figura 01: Algoritmo diagnóstico para AHIM. Após a identificação da anemia, os biomarcadores de destruição imunomediada devem ser avaliados, incluindo o Teste de Autoaglutinação em Salina (TAS), Teste de Antiglobulina Direta (TAD – Teste de Coombs) e/ou Citometria de Fluxo (FC). Pelo menos dois marcadores devem estar presentes ou a persistência do TAS positivo mesmo após a lavagem para sustentar um diagnóstico de AHIM. Em seguida, os sinais de hemólise devem ser avaliados, sendo a presença de no mínimo um para um diagnóstico consistente. Variações nos achados, implicam no diagnóstico sugestivo, desde que outra causa de anemia não seja identificada. Fonte: Adaptado de GARDEN; KIDD, MEXAS et al (2019).

4.3.2. Anemia/Eritrograma

A análise do percentual de eritrócitos que ocupam o sangue total por meio da realização do microhematócrito é sugerida, em um primeiro momento, para identificação da anemia, pois o hematócrito calculado por maquinários pode não ser confiável na presença de hemaglutinação (GARDEN; KIDD, MEXAS et al 2019). Contudo, o eritrograma se mostra indispensável, visto que, traz dados acerca da contagem global de eritrócitos em milhões por milímetro cúbico

(mm³), hemoglobina (%), hematocrito (%), volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e Red cell distribution width (RDW) em porcentagem ou por meio de gráfico (FAILACE; FERNANDES, 2015).

A partir desses parâmetros, principalmente o VCM, CHCM e RDW, é possível obter informações acerca da morfologia dos glóbulos vermelhos do paciente. O VCM reflete o tamanho das hemácias, que podem ser classificadas como normocíticas, microcíticas ou macrocíticas. O CHCM indica a quantidade de hemoglobina que as hemácias estão carregando, sendo normocrômica, hipocrômica ou hiperocrômica (FAILACE; FERNANDES, 2015). Vale ressaltar que, quando há hemólise intravascular, pode haver hemoglobinemia e com isto, o valor de hemoglobina pode estar falsamente aumentado em relação ao volume globular, resultando em um aumento irreal do CHCM (CASTILHO; LIMA; CRUZ et al 2016). E o RDW mostra o grau de anisocitose, ou seja, o nível de variação de tamanho entre os eritrócitos (JERICÓ; NETO; KOGIKA, 2019).

Tais padrões hematológicos permitem a classificação das anemias como regenerativas ou arregenerativas. As anemias regenerativas são predominantes nos processos hemolíticos e, comumente são observadas cursando com macrocitose e hipocromasia, além do RDW aumentado. Tal aspecto morfológico, indica que as hemácias não completaram seu processo de maturação e estão sendo lançadas na corrente sanguínea ainda imaturas devido ao aumento da demanda, tendo em vista a lise precoce dos eritrócitos. As anemias regenerativas podem cursar com achados na hematoscopia como, policromasia, nRBC (hemácias nucleadas), corpúsculo de Howell-Jolly, codócitos, e ponteados basofílicos (FAILACE; FERNANDES, 2015).

Ainda, a reticulocitose (contagem absoluta maior que 60.000 $\mu\ell$) pode ser observada nas anemias regenerativas. Os reticulócitos são células jovens com resquícios de ácidos ribonucleicos ribossomais em seu interior, possíveis de serem identificados através da coloração com novo azul de metileno (FAILACE; FERNANDES, 2015). Salienta-se que nas anemias muito agudas, a maioria dos sinais de regeneração não serão visualizados, tendo em vista o tempo para a resposta regenerativa pela medula óssea, geralmente leva de 3 a 5 dias após o evento para haver o pico de reticulocitose (NELSON; COUTO; DAVIDSON et al 2014).

As anemias na AHIM são usualmente regenerativas, porém aproximadamente 30% dos pacientes caninos podem apresentar ausência de regeneração. Comumente, as anemias não regenerativas na AHIM são associadas ao início agudo do processo hemolítico, ou mesmo quando as imunoglobulinas são direcionadas, inclusive, contra os precursores eritróides e estes, são destruídos antes de alcançarem a corrente sanguínea (NELSON; COUTO; DAVIDSON et al 2014). Para cães com anemia não regenerativa, indica-se a realização da punção de medula

óssea, em que podem ser encontrados macrófagos fagocitando hemácias em diferentes fases de maturação (JERICÓ; NETO; KOGIKA, 2019).

4.3.3. Sinais de Destruição Imunomediada

4.3.3.1. Esferocitose

Os esferócitos são alterações morfológicas nos eritrócitos em decorrência da ação de imunoglobulinas e fagocitose parcial por macrófagos, principalmente no Baço e, com isso, são considerados biomarcadores para a destruição imunomediada. Sendo, na clínica de pequenos animais, a análise dos esferócitos eficaz apenas nos cães. Isto se deve a morfologia eritrocitária dos felinos, que fisiologicamente não apresenta palidez central evidente (GARDEN; KIDD; MEXAS et al 2019).

Baseadas em literatura da medicina humana, elevadas proporções de esferócitos foram autenticados em pacientes com reações transfusionais hemolíticas, por conseguinte a interpretação dos mesmos após transfusão sanguínea exige demasiada atenção. A leitura das lâminas deve ser analisada na monocamada mais profunda do esfregaço sanguíneo para evitar a interferência de artefatos semelhantes a esferócitos nas áreas mais delgadas (GARDEN; KIDD; MEXAS et al 2019).

Os esferócitos são considerados alterações morfológicas características da AHIM, quando visualizados em número suficiente (duas cruzes ou mais). E é sugestivo para o diagnóstico mesmo se o teste da antiglobulina direta for negativo (JERICÓ; NETO; KOGIKA, 2019). Esta mensuração (semiquantitativa) é feita através do número de esferócitos observados por x1000 campo, sendo de 1 a 10 classificado pelo patologista clínico como uma cruz (+1), entre 11 e 50 como duas cruzes (2+) e 51 a 150 com três cruzes (+3) (NELSON; COUTO; DAVIDSON et al 2014). Porém as causas descritas de esferocitose não imunomediadas devem ser descartadas antes de considerar a AHIM primária como diagnóstico, assim sendo as deteriorações oxidativas, envenenamento, hiperesplenismo, deficiência da enzima piruvato quinase, desordens correlacionadas a fragmentação de eritrócitos, englobando hemangiossarcoma ou síndrome hemolítico-urêmico e diseritropoiese (GARDEN; KIDD; MEXAS et al 2019). Tais alterações garantem a observação de esferócitos, contudo o achado tende a ser menor (+1).

O consenso descrito pelo American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM) e publicado em 2019 no Journal of Veterinary Internal Medicine, garante por meio de um único estudo, que a visualização de ≥ 5 esferócitos/ $\times 100$ por campo em óleo de imersão corresponde a 63% de sensibilidade e 95% de especificidade, podendo ser utilizado como suporte para o diagnóstico de AHIM. Para mais, a observação em 3 a 4 esferócitos/ $\times 100$ por campo em óleo

de imersão também deve ser considerada se nenhuma causa para a esferocitose for identificada, garantindo 74% de sensibilidade e 81% de especificidade para AHIM (GARDEN; KIDD; MEXAS et al 2019).

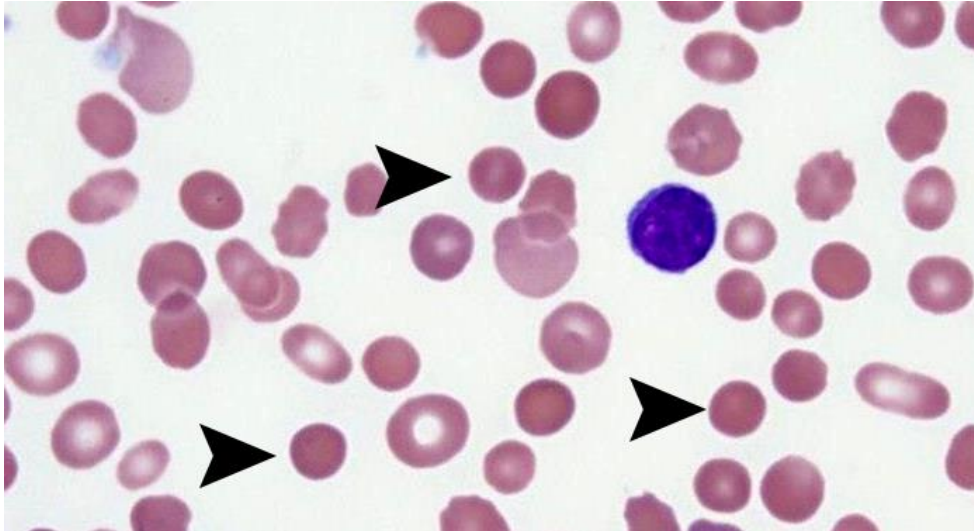


Figura 02: Esferócitos (setas) em esfregaço sanguíneo. Destacam-se como eritrócitos menores, sem palidez central, mais frágeis e com meia vida menor em decorrência da eritrofagocitose parcial. Fonte: (SCORDINO, 2016).

4.3.3.2. Teste de Aglutinação em Salina Positivo

Não são consideradas técnicas fidedignas para positivar a aglutinação, a análise de esfregaços sanguíneos ou gráficos de dispersão de instrumentos hematológicos que possam sugerir aglutinação, pois tais podem propiciar no esfregaço sanguíneo, rouleaux eritrocitário e demais fatores de macrócitos em questão de avaliação de gráficos (GARDEN; KIDD; MEXAS, 2019).

O teste de aglutinação em salina é realizado utilizando-se quatro gotas de solução salina juntamente a uma gota de sangue, este possui 100% de especificidade referida, para AHIM em cães, sendo considerada evidência pertinente de aglutinação, as mesmas que permanecerem pós homogeneização da solução salina com o sangue na proporção descrita, em grande parte dos quadros. O mesmo teste sendo realizado em solução salina 1:1 com sangue misto, deu origem a 95% de especificidade embasado em 85 cães que não possuem a afecção e 85% de especificidade levando em conta somente cães com anemia. Proporções de diluições mais elevadas propiciam identificação microscópica de aglutinação. Para animais com resultados com mais de uma interpretação, como por exemplo, pequenas sobreposições eritrocitárias raras em um teste negativo, proteína total consideravelmente elevadas nos casos de doenças como, leishmaniose e mieloma múltiplo, concentrações de fibrinogênio, ou rouleaux no esfregaço sanguíneo, a confirmação que há aglutinação permanente se dá após 3 lavagens dos eritrócitos

na proporção 1:4 de sangue em detrimento a solução salina, objetivando decréscimo de falsos-negativos. É recomendado que a solução salina esteja entre a temperatura ambiente e 37°C, informação embasada em relatos de aglutinação em lavados de eritrócitos de cães normais a 4°C (GARDEN; KIDD; MEXAS et al 2019).

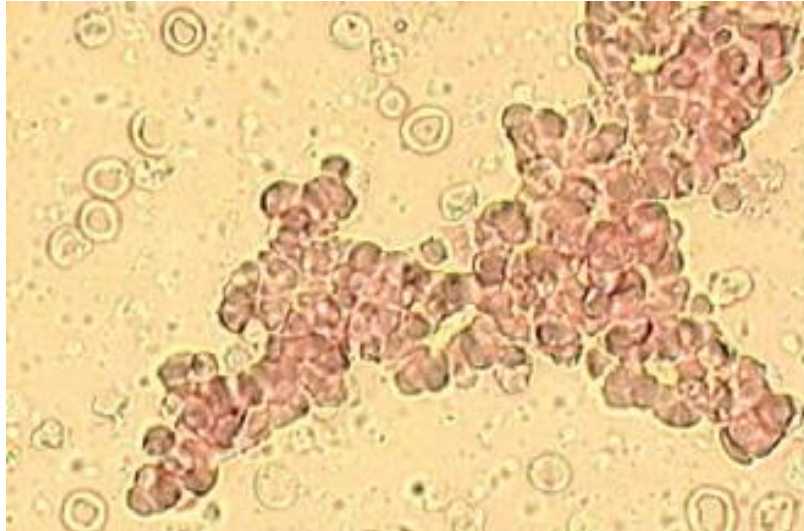


Figura 03: Aglutinação microscópica em cão com AHIM em Objetiva seca (40×), mostrando formação em cacho de uva. Fonte: (JERICÓ; NETO; KOGIKA, 2019).

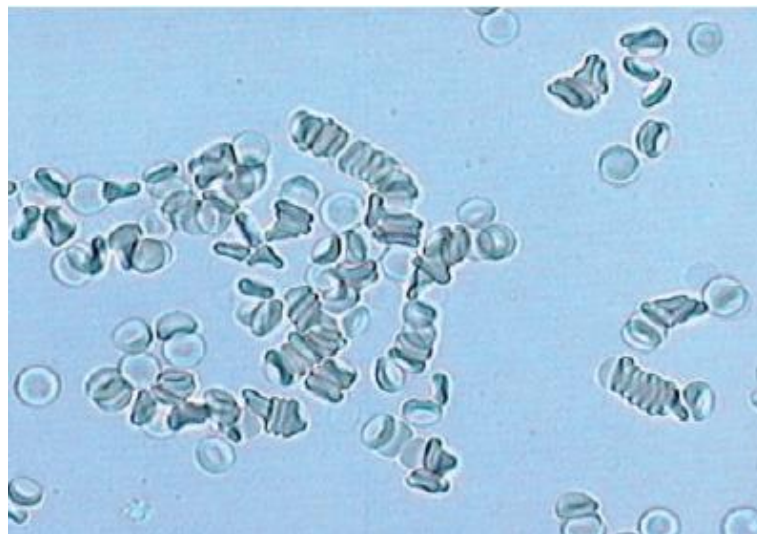


Figura 04: Hematoscopia de cão demonstrando a formação de rouleaux eritrocitário, que pode ser confundido com aglutinação. Fonte: (JERICÓ; NETO; KOGIKA, 2019).

4.3.3.3. Teste de Antiglobulina Direta (TAD) – Teste de Coombs

O teste de Coombs Direto ou teste de Antiglobulina Direta (TAD), auxilia no diagnóstico da AHIM, obtendo uma sensibilidade em torno de 60%, este identifica imunoglobulinas e/ou complementos aderidos a superfície das hemácias. Quando analisado aglutinação microscopicamente e a presença de relação entre o antissoro e a imunoglobulina unida às hemácias sua especificidade é consideravelmente alta, cerca de 100% (CASTILHO; LIMA; CRUZ et al 2016). Deve ser recorrido ao mesmo quando há casos de anemia na

inexistência de aglutinação direta, ou seja, a concentração de moléculas de anticorpos decresce ao ponto de não causar aglutinação direta (BIRCHARD; SHERDING, 2003).

Os reagentes de Coombs tende ser espécie-específicos, comumente identificam IgG, IgM e C3b, este último sendo resultado da gradação proteica associado a membrana e posto na superfície do eritrócito levando em conta o terceiro constituinte da cascata de complemento. Posteriormente observam-se o anticorpo ou o complemento associado com a superfície da hemácia através de uma conexão cruzada das moléculas com os reagentes espécie-específicos dirigidos em oposição a estas moléculas (BIRCHARD; SHERDING, 2003).

Precisa-se dominar bem possíveis causas de resultados falso-positivos e falso-negativos, para uma interpretação fidedigna dos resultados apresentados (BIRCHARD; SHERDING, 2003). É um teste que exprime uma elevada recorrência de falsos-negativos (JERICÓ; NETO; KOGIKA, 2019), fator este que não descarta a doença, uma vez que em mais de um terço dos cães com AHIM pode ocorrer falsos-negativos, em decorrência a uma porção de imunoglobulinas ou moléculas de complemento juntas à membrana eritrocitária induzindo a fagocitose pelo Sistema Monocítico Fagocitário, não sendo o bastante para resultar positivo para o Coombs. Além do alto custo ao que se deve à grande quantidade de antissoro solicitado e a subjetividade na compreensão dos resultados, como fatores negativos. Animais antes em tratamento com medicações imunossupressoras ou o indevido manejo da técnica também se incluem em fatores que ocasionam resultados falso-negativos. Já em relação aos resultados positivos, estes não validam a doença, sendo fundamental averiguar cuidadosamente em associação as variações clínicas e laboratoriais, entretanto falso-positivos possuem menos casuísticas, pois o mesmo é realizado apenas em detrimento de suspeita de AHIM (CASTILHO; LIMA; CRUZ et al 2016).

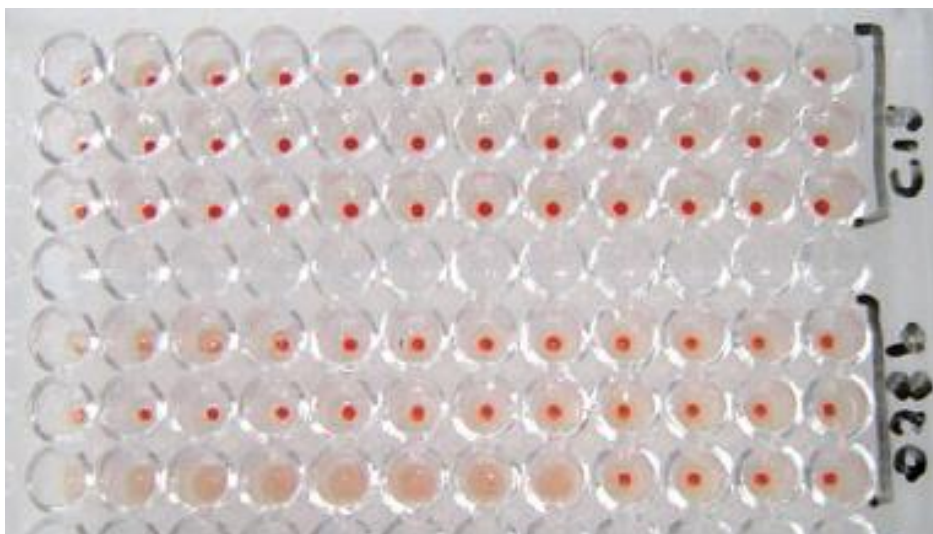


Figura 05: Teste da antiglobulina direta (TAD) ou Teste de Coombs Direto com anticorpos policlonais-monoespecíficos (anti-C3, anti-IgM e anti-IgG) em microplaca de hemaglutinação. As primeiras três linhas representam o sangue de um cão-controle, havendo a formação do botão de hemácias nas diferentes diluições. As três linhas inferiores representam o sangue de um cão anêmico, observando-se ausência do botão de hemácias em algumas diluições, sendo o TAD positivo. Fonte: (JERICÓ; NETO; KOGIKA, 2019).

4.3.3.4. Citometria de Fluxo (FC)

A citometria de fluxo trata-se de uma técnica laboratorial quantitativa com capacidade de analisar suspensões em meio líquido, em especial, as células. Deste modo, pode ser utilizada para a detecção de imunoglobulinas específicas e complemento aderidos à membrana eritrocitária. Neste processo, as moléculas intrínsecas que estão adsorvidas na superfície das hemácias são marcadas com antissoro conjugado a fluoresceína e através de uma câmara de fluxo contínuo são excitadas por uma fonte luminosa. Os raios de luz são dispostos em diversas orientações pelos marcadores presentes nos eritrócitos, assegurando uma análise individual de cada célula (CASTILHO; LIMA; CRUZ et al 2016). Dessa maneira, a FC garante que até baixos níveis de elementos antigênicos sejam identificados e quantificados, em especial, a IgG, IgM e C3 como é possível observar na imagem 2. Porém, trata-se de uma técnica de alto custo e que demanda a execução de profissionais especializados (JERICÓ; NETO; KOGIKA, 2019).

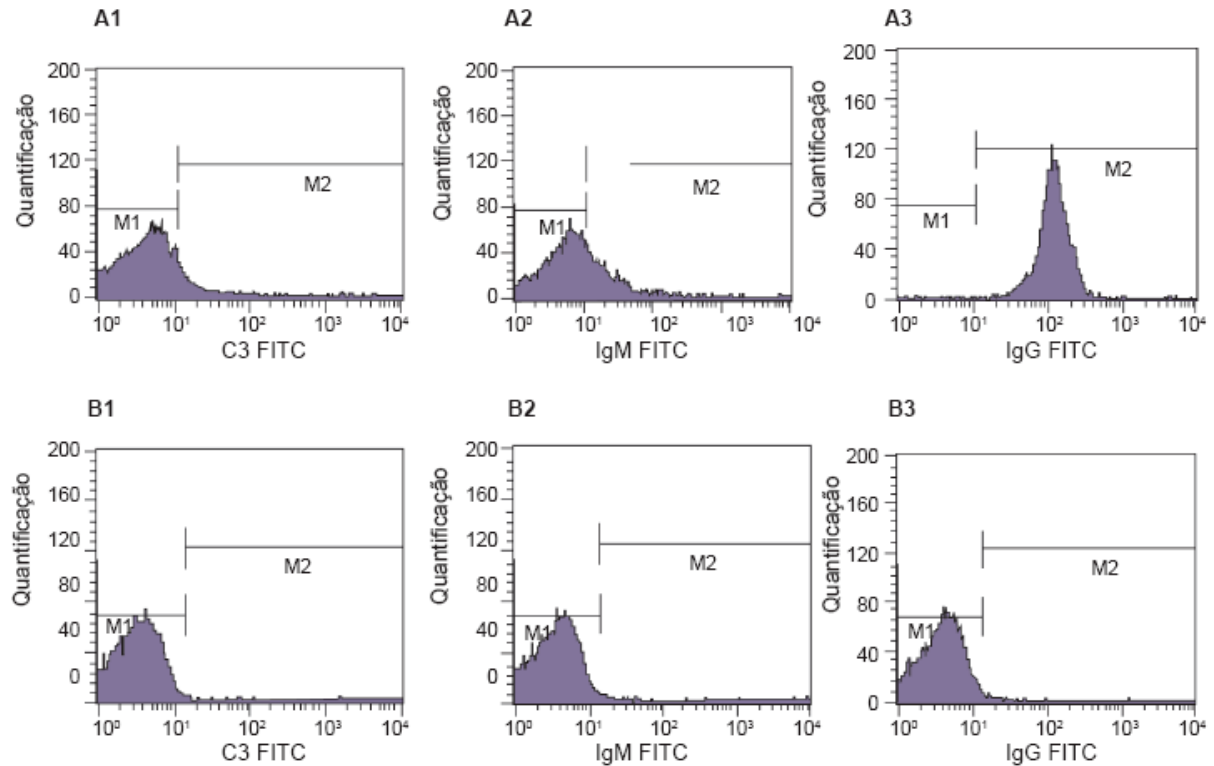


Figura 06: Citometria de Fluxo por representação gráfica das imunoglobulinas ligadas à membrana eritrocitária. A1, A2 e A3 – cão com anemia hemolítica imunomediada; B1, B2 e B3 cão-controle. A1 e B1 mostram a quantificação de C3; A2 e B2, a quantificação de IgM e A3 e B3, de IgG. Observa-se no cão A que as curvas da IgM e IgG se deslocam para a direita, enquanto no cão B todas as curvas se encontram dentro de M1, indicando

ausência de anticorpos nas membranas dos eritrócitos. FITC = isotiocianato de fluoresceína. Fonte: (JERICÓ; NETO; KOGIKA, 2019).

4.3.4. Sinais de Hemólise

4.3.4.1. Hiperbilirrubinemia

A hiperbilirrubinemia pode ser um fator indicativo de hemólise, em casos em que não há redução de massa hepática funcional, colestase obstrutiva ou sepse. Icterícia, concentração total de bilirrubina sérica ou plasmática acima dos valores de referência, bilirrubina maior ou igual a 2+ em tira de reagente em cães, ao menos um destes são indicativos consideráveis para hiperbilirrubinemia. Em amostras hemolisadas tendem ser analisadas juntamente com informações acerca de prováveis repercussões de hemólise nas mesmas (GARDEN; KIDD; MEXAS et al 2019).

4.3.4.2. Hemoglobinemia/Hemoglobinúria

Através do plasma sanguíneo pode-se verificar visualmente a presença de hemoglobinemia ou pela mensuração da hemoglobina livre de células, atentando-se sempre em ponderar limitações da técnica individual ao utilizar-se de apontadores de hemólise alicerçados em instrumentos. Espéctrofotométricos, por exemplo, dependem e variam de métodos e algoritmos característicos de fabricação, não podendo ser comparáveis entre si. O mesmo vale para a diferença entre a concentração média de hemoglobina celular e a concentração de hemoglobina celular proveniente de equipamentos hematológicos, podendo representar hemólise ou demais particularidades da amostra, como por exemplo, lipemia (GARDEN; KIDD; MEXAS et al 2019).

A hemoglobinemia apenas deve ser levada em consideração como um indicador de hemólise após descarte da não possibilidade de haver artefato de hemólise, algumas justificativas rotineiras implicam a punção venosa traumática, condicionamento e congelamento, fatores estes importantes, porém não restritos. Fatores que acrescem debilidade eritrocitária, como por exemplo, a lipemia propiciam hemólise in vitro (GARDEN; KIDD; MEXAS et al 2019).

A hemoglobinúria é tida em conta caso a mioglobínúria seja um fator descartado, e é considerada existente se a urina conter coloração avermelhada e o aspecto permaneça mesmo após centrifugação, ou caso uma reação heme positiva na vareta de urina estiver evidente na inexistência de eritrócitos sem sinais de hemólise na microscopia de sedimento. Para avaliação deste fator é importante usar uma amostra de urina fresca. As possibilidades de lise eritrocitária em amostras de urina alcalinas, mal concentradas ou hipostenúricas são maiores (GARDEN; KIDD; MEXAS et al 2019).

4.3.4.3. Eritrócitos Fantasmas

Eritrócitos Fantasmas são indicativos de hemólise intravascular, caso realizado um esfregaço sanguíneo e analisadas logo após a coleta de sangue (GARDEN; KIDD; MEXAS et al 2019).

4.3.5. Teste para Doenças Infecciosas

De acordo com a epidemiologia de cada região, predisposição racial e com os dados levantados na anamnese como, exposição a ectoparasitas e viagens, o médico veterinário deve listar as possíveis doenças infecciosas que podem estar associadas ao processo hemolítico. Deste modo, testes sorológicos e a reação em cadeia da polimerase (PCR) devem ser solicitados para tais agentes infecciosos. Com a repetição do PCR em pacientes que, em um primeiro momento, apresentaram o resultado negativo, mas se encontram em locais com alto risco de infecção. Conforme a fisiopatologia da AHIM, as espécies de piroplasmas devem ser consideradas, em especial, *Babesia* spp., *Rangelia* spp. e *Theileria* spp. Ademais, a triagem para patógenos como, *Anaplasma* spp., *Bartonella* spp., *Ehrlichia* spp., *Mycoplasma haemocanis*, *Hepatozoon canis*, *Leishmania* spp. e *Dirofilaria immitis* devem ser consideradas, levando em consideração áreas endêmicas (GARDEN; KIDD; MEXAS et al 2019).

5. TRATAMENTO

Para um tratamento efetivo, a distinção entre AHIM não associada de associada é fundamental. Na abordagem inicial a AHIM primária requer imunossupressão agressiva, enquanto a AHIM secundária raramente responde se o tratamento da causa de base não for realizado e, em alguns casos, pode haver piora clínica com a terapia imunossupressora (JERICÓ; NETO; KOGIKA, 2019). Os objetivos do tratamento de cães com AHIM incluem a prevenção da hemólise, redução da hipóxia tecidual e tratamento de suporte (NELSON; COUTO; DAVIDSON et al 2014).

Na prevenção da hemólise, os fármacos imunossupressores são essenciais. Glicocorticoides, como prednisona, prednisolona e dexametasona são os pilares da terapia e agem na diminuição da fagocitose e da produção de imunoglobulinas. A dexametasona pode ser utilizada nas fases iniciais da terapia e se trata de um medicamento de escolha para pacientes que não podem receber medicação oral. Além disso, em comparação com a prednisona e prednisolona, a dexametasona se destaca por ser de sete a oito vezes mais potente, deste modo, deve ser administrada nas doses de 0,3 a 0,9 mg/kg a cada 24 horas (JERICÓ; NETO; KOGIKA, 2019). Para os cães que toleram a medicação oral, a administração de prednisolona ou prednisona a uma dose de 1 a 2mg/kg, VO, a cada 12 horas é uma escolha de corticosteroide. Sendo a utilização de uma dose mais alta que a faixa terapêutica recomendada como conduta

inicial, exceto nos cães de raças grandes (>30 kg) (NELSON; COUTO; DAVIDSON et al 2014).

Na condição do acréscimo do hematócrito acima de 30%, a dose de prednisolona pode ser diminuída para 1 mg/kg. Mais adiante, a dose deve ser ajustada, reduzindo a dose a 25% a 50% por mês por um período de 3 a 6 meses a depender do hematócrito e dos efeitos adversos. Se após este período, a dose é reajustada para baixas doses em dias alternados (0,25 a 0,5 mg/kg a cada 48 h) e observa-se a remissão da doença, a descontinuação da medicação deve ser considerada como tentativa. Vale ressaltar que, a realização de hemograma e contagem de reticulócitos devem ser realizados anteriormente e posteriormente qualquer alteração na terapêutica (NELSON; COUTO; DAVIDSON et al 2014).

O tratamento com glicocorticoides se mostra ineficaz para alguns pacientes ou a dose necessária para sua efetividade resulta em efeitos adversos inaceitáveis. Para esses casos, a adição de fármacos citotóxicos ao regime de tratamento pode ser necessária. Tal protocolo se mostra gerador de um impasse comum aos clínicos, se todos os cães com AHIM devem ser submetidos ao tratamento com fármacos imunossupressores associados desde o início, ou se é mais apropriado esperar e identificar quais animais irão responder ao tratamento apenas com glicocorticoides. Em vista, a falta de evidências de benefícios, exacerbação de possíveis efeitos adversos e os custos dos medicamentos citotóxicos, alguns autores desencorajam esta abordagem de forma inicial e destacam o potencial de imunossupressão grave e consequentemente maior suscetibilidade a infecções oportunistas (NELSON; COUTO; DAVIDSON et al 2014).

As drogas mais utilizadas como imunossupressão adicional, são a azatioprina e ciclosporina. Recomenda-se a utilização da azatioprina quando os cães não respondem ao tratamento inicial dentro de 5 a 7 dias e nos cães que necessitam de mais de duas transfusões sanguíneas. A dose inicial recomendada é 2 mg/kg a cada 24 horas. A ciclosporina se mostra por experiência clínica, útil e eficaz no tratamento dos cães não responsivos ao tratamento com glicocorticoides e azatioprina. Porém, seu efeito imunossupressivo potente determina o monitoramento para infecções secundárias mais frequente (NELSON; COUTO; DAVIDSON et al 2014). Trata-se de uma medicação onerosa e pode ser usada com cetoconazol para redução dos custos. A dose recomendada para tratamento inicial é de 10 mg/kg a cada 12 a 24 horas (JERICÓ; NETO; KOGIKA, 2019).

Ademais, a ciclofosfamida, um potente mielossupressor, já foi indicada para o tratamento de pacientes com AHIM grave. Contudo, revelou-se incapaz de promover melhora clínica está associada a redução das taxas de sobrevida. Deste modo, a ciclofosfamida não é

mais recomendada para o tratamento da AHIM (JERICÓ; NETO; KOGIKA, 2019). A melhora no quadro é observada quando há a resolução da hemólise e então aumento do hematócrito, não observação de aglutinação, teste de Coombs negativo, normalização da contagem de reticulócitos e resolução do leucograma inflamatório (NELSON; COUTO; DAVIDSON et al 2014).

No que tange o tratamento da hipóxia tecidual, somente a suplementação de oxigênio é limitada. Porém, a necessidade de transfusão sanguínea depende de fatores como, a gravidade da anemia, cronicidade e perdas sanguíneas pelo trato gastrointestinal. Em geral, para pacientes com taquicardia, taquipneia, anorexia, letargia, fraqueza mesmo durante o repouso e hematócrito menor que 15% irá se beneficiar de uma transfusão sanguínea. A transfusão do concentrado de hemácias é o ideal. O sangue total se mostra aceitável, porém o componente plasmático não é necessário e aumenta o risco de reações transfusionais (NELSON; COUTO; DAVIDSON et al 2014).

O tratamento de suporte para desidratação com fluidoterapia, investigação, identificação e tratamento de doenças subjacentes e das complicações associados com a terapia imunossupressora são fatores importantes para a melhora do paciente. As complicações da terapia incluem, supressão da medula óssea, infecções, ulcerações gastrointestinais e hiperadrenocorticismismo secundário (NELSON; COUTO; DAVIDSON et al 2014).

6. CONCLUSÃO

A Anemia Hemolítica Imunomediada destaca-se com grande relevância na medicina veterinária em decorrência da sua alta taxa de mortalidade e deve ser considerada como hipótese diagnóstica nos quadros anêmicos graves, inclusive, os sem sinal de regeneração. Para mais, pode ser considerada uma emergência médica, sendo assim, o diagnóstico precoce interfere diretamente no prognóstico do paciente. Com isso, o clínico deve estar ciente da existência dos fatores de predição, além da eficácia de cada teste diagnóstico e a importância dos biomarcadores, em especial, os de destruição imunomediada e hemólise descritas no estudo. Para então, conseguir informações precisas na anamnese e solicitações de exames assertivos, que em conjunto aos achados do algoritmo de diagnóstico da AHIM da ACVIM e sinais clínicos, direcionam o raciocínio clínico do médico veterinário.

Vale ressaltar que, por se tratar de uma afecção com diversas etiologias, algumas patogenias são desconhecidas, o que abre possibilidades para novos estudos, visto que, o conhecimento dos mecanismos da doença auxilia no diagnóstico e instituição terapêutica.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K et al. *Imunologia Básica: Funções e Distúrbios do Sistema Imunológico*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2021.
- BRANDÃO, L. P. et al. Anemia hemolítica imunomediada não regenerativa em um cão. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 34, n. 2, p. 557-561, mar-abr. 2004.
- CASTILHO, R. C. et al. Anemia hemolítica imunomediada em cães. *Scientific Eletronic Archives*. arch 9:5, nov. 2016.
- FAILACE, Renato. Eritrograma. In: FAILACE, Renato. Hemograma: Manual de Interpretação. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2015, p. 58-101.
- GARDEN, O. A. et al. ACVIM consensus statement on the diagnosis of immune-mediated hemolytic anemia in dogs and cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, p. 1 – 22, jan. 2019.
- JERICÓ, M. M. et al. *Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos: Hematologia e Doenças Imunomediadas*. 1. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2019.
- MACNEILL, Amy et al. The utility of diagnostic tests for immune-mediated hemolytic anemia. Wiley, Colorado, v. 48, p. 7-16, mai/jun. 2019.
- MURADOR, P. et al. Aspectos estruturais da membrana eritrocitária. *Ver. bras. Hematol. Hemoter*, Botucatu-SP, v. 29, n. 2, p. 168-179, 2007.
- NELSON, Richard et al. Doenças Comumente Mediadas pelo Sistema Imune. In: NELSON, Richard et al. *Medicina Interna de Pequenos Animais*, 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014, p. 1416-1440.
- ROITT, Ivan et al. Alergia e outras hipersensibilidades. In: ROITT, Ivan et al. *Roitt Fundamentos de Imunologia*. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018, p. 384-406.
- SCORDINO, T. Esferócitos – esferocitose hereditária, 2016. American Association of Hematology. Disponível em: Esferócitos – esferocitose hereditária (hematology.org). Acesso em 15 de dezembro de 2022.
- THOMPSON, James. Doenças Imunomediadas Sistêmicas. In: BIRCHARD, Stephen. *Manual Saunders Clínica de Pequenos Animais*. 3. ed. São Paulo: Roca, 2003, p. 202-204.
- THRALL, M. A. et al. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.