

ACADEMIA DE CIENCIA E TECNOLOGIA - AC&T

PSEUDOPLAQUETOPENIA NA PRESENÇA DO ANTICOAGULANTE EDTA –
trabalho de conclusão do curso de Hematologia clínica e laboratorial.

Mayara Francischini Cicogna

São José do Rio Preto

2015

PSEUDOPLAQUETOPENIA NA PRESENÇA DO ANTICOAGULANTE EDTA

Mayara Francischini Cicogna

RESUMO

O hemograma é o exame que fornece o número de plaquetas por milímetro cúbico. A contagem de plaquetas é extremamente importante para avaliar amostras de pacientes com plaquetopenia ou plaquetose. O objetivo deste trabalho foi relatar a inter-relação do uso do anticoagulante EDTA na presença de pseudoplaquetopenia. A natureza fisiopatológica da pseudotrombocitopenia induzida pelo EDTA é, ainda, incerta. O EDTA altera a conformação das glicoproteínas das plaquetas e aglutininas anticoagulantes-dependentes ligam-se a várias plaquetas alteradas, resultando em agregação plaquetária. Considerando a frequência estimada, a pseudotrombocitopenia representa um problema clínico de grande importância, uma vez que pode resultar em diagnóstico errôneo, com conduta terapêutica inadequada.

Palavras-chave: Plaquetas, EDTA, Pseudoplaquetopenia.

1. INTRODUÇÃO

As plaquetas são derivadas de megacariócitos, células multinucleadas presentes em pequeno número na medula óssea¹. As plaquetas, ou trombócitos, são células discóides, heterogêneas em relação ao tamanho, densidade e características de coloração³. São anucleadas com diâmetro entre 2 a 3 μm , espessura em torno de 1.0 μm e volume de 7.0 fl.. Aproximadamente um terço das plaquetas são sequestrados no baço e os outros dois terços se encontram em circulação, apresentando uma meia vida de aproximadamente dez dias, após o qual são removidas pelos macrófagos⁸. A concentração de plaquetas na corrente sanguínea tem como valor de referencia de 150.000 a 450.000/ mm^3 em pessoas saudáveis⁶.

Apresentam um importante papel na hemostasia primária, cujo objetivo é interromper sangramentos provenientes de uma lesão vascular, preservando assim a integridade do vaso. Quando há uma lesão vascular, as plaquetas se aderem agregando-se umas as outras, formando o tampão plaquetário. Com isso há a ativação da cascata de coagulação, formando uma rede de fibrina, finalizando o processo com a fibrinólise, ou seja, dissolução do coagulo. A principal função das plaquetas, portanto, é formação do tampão plaquetário e a ação pro-coagulante, interagindo com os fatores de coagulação e receptores específicos, que estão localizados nas superfícies das plaquetas⁶.

A contagem de plaquetas em amostras sanguíneas é utilizada para detectar a trombocitopenia, que se caracteriza pelo número abaixo da faixa de referencias ou trombocitose, que define um número acima da faixa de referencia. A produção diária de plaquetas é, em média, de 15.000 a 45.000. A flutuação é mínima no período de 24 horas. O nível de trombopoietina aumenta conforme o número de plaquetas diminui e vice-versa. Na ausência de trombopoietina, a massa de megacariócitos pode diminuir em até 80%. O uso de trombopoietina exógena pode aumentar os megacariócitos em três dias e as plaquetas aumentam em cinco dias⁹.

A plaquetopenia é a causa mais comum de sangramento anormal e costuma ser o resultado de quatro fatores, que podem atuar em conjunto ou isoladamente:

- Plaquetopenia resultando de artefato (por exemplo, contagem ou consumo inadequado);
- Déficit na produção de plaquetas;
- Destruição aumentada;
- Distribuição anormal⁹.

Quando o paciente apresenta número baixo de plaquetas normal, na ausência de uma história clínica consistente, é possível suspeitar que esteja ocorrendo um caso de pseudoplaquetopenia. Apesar de a pseudoplaquetopenia ser a causa mais comum de artefatos, não deve-se esquecer de outras causas como presença de plaquetas gigantes ou satelitismo plaquetário. A pseudoplaquetopenia é normalmente causada pelo anticoagulante EDTA (um quelante do cálcio)³.

2. OBJETIVO

Realizar uma revisão bibliográfica a respeito do uso do anticoagulante EDTA e sua interferência na contagem eletrônica em pacientes com pseudoplaquetopenia.

3. DISCUSSÃO

As plaquetas são derivadas de megacariócitos, células multinucleadas presentes em pequeno número na medula óssea. Os megacariócitos são derivados de células-tronco sob influência de fatores de crescimento (interleucina 3, interleucina 6, fator estimulante de colônias de macrófago-granulócito, interleucina 11) e uma trombopoietina específica⁹. Essa trombopoietina é produzida no fígado, e atua sobre a proliferação e maturação citoplasmática do megacariócito⁵.

Após serem liberadas da medula óssea, aproximadamente um terço das plaquetas é sequestradas pelo baço e os outros dois terços são encontrados em circulação. As plaquetas circulantes estão em uma concentração de 150.000 a 450.000 /mm³ ^{6,8}.

Antes da automação o plaquetograma era constituído por contagem de plaquetas e avaliação morfológica das plaquetas, através de microscopia. A contagem das plaquetas era feita por duas metodologias:

- Método direto: - Rees-Ecker: utiliza a câmara de Neubauer (cinco quadrantes, sendo quatro com 16 quadrantes menores e um com 25 quadrantes maiores) e visualização microscópica para a contagem de plaquetas;
- Método indireto: - Método de Fônio: utiliza esfregaço corado com corantes hematológicos derivados de Romanowsky e realiza a contagem em relação ao número de hemácias. Em cada campo microscópico com 1.000 hemácias contam-se as plaquetas e realiza-se uma regra de três em relação ao número global de hemácias⁸.

Atualmente, o plaquetograma é composto por: contagem de plaquetas automatizada (impedância/citometria de fluxo ou por laser), medida do tamanho plaquetário - Volume Plaquetário Médio (VPM), hematócrito da plaqueta – Plaquetócrito, e o Índice de Variação no tamanho das plaquetas (PDW)². Estes parâmetros tornaram-se mais importantes devido aos avanços da tecnologia dos contadores hematológicos⁷. Todas as amostras de sangue com baixa contagem de plaquetas devem ter as lâminas examinadas ao microscópio para excluir agregação plaquetária e satelitismo⁴.

O uso de anticoagulantes em tubo de coleta de amostras sanguíneas pode causar alterações nos resultados de contagem plaquetária, como a pseudoplaquetopenia. A pseudoplaquetopenia consiste na contagem baixa de plaquetas em amostras de sangue colhidas em etilenedinitrilotetraacetato (EDTA). Essa diminuição é consequente à aglutinação das plaquetas ou, mais raramente, à formação de rosetas de plaquetas em torno dos neutrófilos, um fenômeno referido como *satelitismo plaquetário*. A aglutinação das plaquetas pode resultar na formação de grumos de tamanho similar aos dos leucócitos, e o contador automático é incapaz de distinguir tais grumos, reconhecendo-os como leucócitos e fornecendo contagem falsamente elevada ou pseudoleucocitose².

O EDTA altera a conformação das glicoproteínas das plaquetas e aglutininas anticoagulantes-dependentes (IgG, IgA ou IgM) ligam-se a várias plaquetas alteradas, resultando em agregação plaquetária. Há evidências de que a principal glicoproteína alterada seja a glicoproteína IIb/IIIa^{3,4}. Na

presença de agregados plaquetários múltiplos, os aparelhos automatizados não conseguem identificar adequadamente as plaquetas, resultando em número errôneo. Tal erro pode ser corrigido com visualização do esfregaço periférico⁸.

A natureza fisiopatológica da pseudotrombocitopenia induzida pelo EDTA é, ainda, incerta. No entanto, tem sido proposto que auto-anticorpos presentes no plasma reconhecem e se ligam a um epitopo da glicoproteína IIb (GPIIb), integrante do complexo GPIIb/IIIa da superfície plaquetária, promovendo a aglutinação das plaquetas. Esse epitopo somente é exposto na presença de EDTA. A fisiopatologia da produção de tais anticorpos é desconhecida e a presença desses no plasma é flutuante, podendo alternar períodos em que se detecta ou não uma pseudotrombocitopenia².

Utilizando a técnica de imunofluorescência foi possível identificar várias classes de anticorpos ligados ao epitopo da GPIIb/IIIa, em casos de pseudotrombocitopenia induzida pelo EDTA, como imunoglobulina da classe G (IgG) (subclasses IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4), imunoglobulina da classe M (IgM) e imunoglobulina da classe A (IgA). Esses anticorpos reagem melhor em temperaturas inferiores à temperatura ambiente. A ligação anticorpo-GPIIb/IIIa foi detectada na presença de vários sais do EDTA (Na₂EDTA, K₂EDTA, K₃EDTA e MgEDTA) e do etileno glycol bis b-aminoetil éter (K₂EGTA). Plaquetas de indivíduos portadores da trombastenia de Glanzmann não reagem com esses anticorpos. A trombastenia de Glanzmann é uma doença hemorrágica hereditária, associada a mutações dos genes responsáveis pela síntese da GPIIb e GPIIIa, o que leva a um comprometimento da agregação plaquetária⁽⁸⁾. Tal observação confirma o envolvimento da GPIIb/IIIa na aglutinação induzida pelo EDTA^{2,9}. Deve-se utilizar o tubo com citrato para estimar o número de plaquetas, sendo este o exame mais rápido para detecção da pseudoplaquetopenia⁸.

Considerando a frequência estimada, a pseudotrombocitopenia representa um problema clínico de grande importância, uma vez que pode resultar em diagnóstico errôneo, solicitação desnecessária de exames laboratoriais e conduta terapêutica totalmente inadequada, incluindo a

transfusão de plaquetas e, até mesmo, a esplenectomia. Vale ressaltar que, de modo geral, os indivíduos em que se detecta pseudotrombocitopenia não têm história clínica de sangramento e marcadores auto-imunes. O tempo de sangria está normal e o volume plaquetário médio (VPM) não é alterado, o que confirma que a diminuição das plaquetas encontrada é, inquestionavelmente, induzida *in vitro*.

REFERENCIAS

01. COMAR, S.R.; DANCHURA, H.S.M.; SILVA,P.H. Contagem de plaquetas: avaliação de metodologias manuais e aplicação na rotina laboratorial. Rev. Bras. Hematol. Hemoter., 2009.
02. Dusse.L.M.S.; Vieira,L,M,; Carvalho,M.G. Pseudotrombocitopenia. J. Bras. Patol. Med. Lab. vol.40 no.5 Rio de Janeiro Out. 2004.
03. LEE, G.R.; BITHELL, T.C.; FOERSTER,J.; ATHENS, J.W.; LUKENS,J.N. HEMATOLOGIA CLINICA. São Paulo : Manole, 1998.
04. LEITE,L.A.C.; JUNIOR,N,M,S,; MIRANDA,M.S. Comparação Entre a Contagem de Plaquetas pelos Métodos Manual e Automatizado. . *NewsLab* - edição 81. Pag 106 -114. 2007.
05. MUNHOZ,T.P. hematologia em laboratório clinico: coleção 156 perguntas e respostas. São Paulo: SARVIER, 2012. Pag 34-36.
06. NAOUN, F.A. Doenças que alteram os exames hematológicos. São Paulo: Atheneu, 2010.
07. OLIVEIRA, A.C.; ET AL. Concentração de anticoagulante, tempo e temperatura de armazenagem sobre os parâmetros hematológicos no hemograma automatizado. *Ciência Rural*, v.40, n.12, dez, 2010.
08. SANTOS, M.E.; Galvão,T.; Oliveira,A.L.M. Tamanho de Plaquetas e Doença Vascular. *NewsLab* - edição 87 . Pag 70-76. 2008.
09. YAMADA, E.J; SOUTO,A.F.P.; SOUZA,E.E.O.; NUNES,C.A; DIAS,C.P. Pseudoplaquetopenia em paciente submetida à esplenectomia de baço acessório. Relato de caso. Rev. Bras. Anesthesiol. vol.58 no.5 Campinas set/out. 2008.