

ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA – AC&T

HEMATOLOGIA CLÍNICA E LABORATORIAL – 14<sup>a</sup> TURMA

## DEFEITOS DE MEMBRANA

FRANCISCO FANTASIA

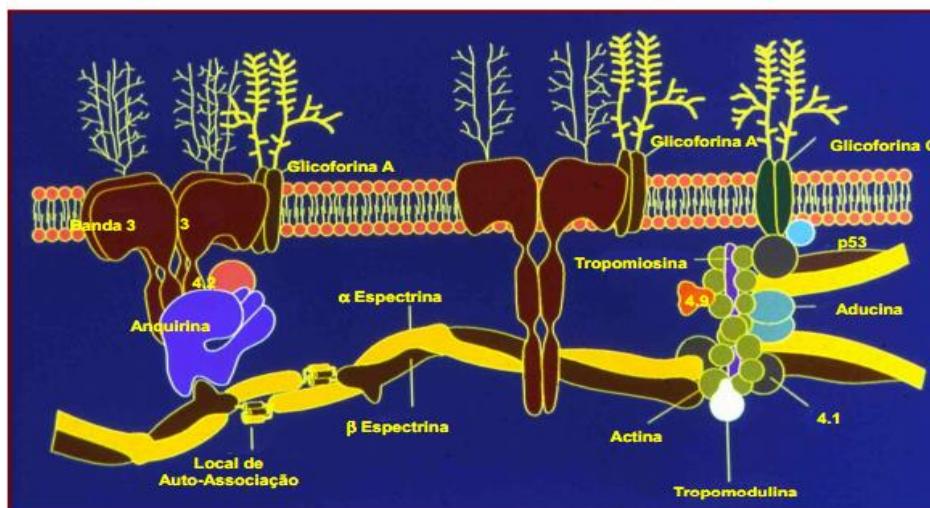
2014

## DEFEITOS DE MEMBRANA

### Introdução

A membrana eritrocitária tem por função conter a hemoglobina no interior da célula e manter importantes características físicas da hemácia. Entre essas características destacam-se a deformabilidade e a elasticidade, que permitem que a hemácia circule através de vasos menores do que o seu diâmetro e sobreviva na circulação durante 100 a 120 dias. Trocas de substâncias entre os meios interno e externo, são também efetuados pela membrana eritrocitária, que contém inúmeros mecanismos de regulação do volume e do seu conteúdo iônico. A membrana eritrocitária normal é composta por proporções semelhantes de lípides e de proteínas. Os lípides estão organizados em uma dupla camada fosfolipídica com colesterol entre uma camada e outra. As proteínas podem ser parte integrante da membrana, transfixando-a e servindo de ponte de troca entre os meios interno e externo (proteínas integrais), ou ainda formar uma trama que reveste a face interna da dupla camada lipídica, constituindo o citoesqueleto da membrana. As proteínas que formam esse citoesqueleto são chamadas de proteínas periféricas. As principais proteínas integrais são a banda 3, principal proteína de troca iônica da célula, as glicoformas (A, B, C, D e E) e a proteína Rh. Essas proteínas podem ancorar抗ígenos eritrocitários e servir de receptor para uma série de moléculas em sua parte externa. Na sua porção citoplasmática, servem de elementos de ligação com o citoesqueleto. As proteínas periféricas mais importantes são a espectrina ( $\alpha$  e  $\beta$ ), a anquirina, as proteínas 4.1, 4.2 e a actina. Defeitos qualitativos e quantitativos dos constituintes da membrana podem promover sua instabilidade, elevando a uma ocasional diminuição da vida média eritrocitária, ou seja, a um estado hemolítico. Entre as doenças secundárias a defeito de membrana eritrocitária, temos a esferocitose, e a eliptocitose hereditárias, além da estomatocitose nas suas variantes hiper-hidratada (hidrocitose) e desidratada (xerocitose).

### Membrana Eritrocitária (Modificado de Lux e Palek, 1995)



## **Esferocitose hereditária**

A esferocitose hereditária é uma doença hemolítica familiar caracterizada por anemia, icterícia intermitente, esplenomegalia e resposta favorável à esplenectomia. É muito comum em determinados grupos étnicos, e é a anemia hereditária mais comum no norte da Europa. Nos Estados Unidos sua incidência é estimada em 1:5000 e no Brasil, embora não haja estudos epidemiológicos sobre isso, ela é bastante frequente. A forma de herança é autossômica dominante em 75% dos casos e não dominante em 25% dos casos.

### Patogênese

A alteração responsável pelo aparecimento dos esferócitos envolve anormalidades nas chamadas “interações verticais” entre as proteínas da membrana eritrocitária, que incluem as ligações da espectrina, da anquirina, e da proteína 4.2 com a proteína banda 3. Defeitos na anquirina são muito frequentes (30 a 60% dos casos), e ela aparece diminuída na maior parte dos casos na Europa e nos Estados Unidos. Paralelamente à diminuição da anquirina ocorre diminuição da espectrina em grau proporcional, em razão da ligação estrutural entre as duas proteínas. O grau de deficiência de anquirina/espectrina é proporcioná-la gravidade clínica da doença. Defeitos da anquirina podem ser encontrados nas formas com herança dominante ou recessiva, sendo mais grave nos casos com herança recessiva. Defeitos na banda 3 também são comuns, afetando cerca de 15 a 40% dos casos. Os defeitos na estrutura proteica da membrana levam a ligações instáveis entre as proteína e a dupla camada lipídica. A desestruturação da membrana leva à perda de lípides, com consequente formação de esferócitos. A perda de lípides e proteínas (anquirina e espectrina e banda 3) da membrana eritrocitária ocorre durante toda a vida do eritrócito sendo mais acentuada no baço. Isso é decorrente do chamado “condicionamento esplênico” em que, sob condições de hemoconcentração, estase e baixo pH, as hemácias podem ativar o mecanismo de co-transporte Na-K, tornando-se desidratados mais esferocíticas e menos deformáveis, ficando retidos no baço. As células que escapam do baço e retornam à circulação são as características células microcíticas e hiperdensas (esferócitos) observados na esferocitose hereditária. A importância do condicionamento esplênico fica evidente pela melhora clínica observada após a esplenectomia.

### Quadro clínico

A esferocitose hereditária é caracterizada por anemia, icterícia e esplenomegalia de graus variáveis, sendo diagnosticada em qualquer período da vida, tanto tardivamente, na vida adulta, quanto no período neonatal. A anemia em geral vai de leve a moderada, mas ocasionalmente pode ser bastante acentuada. A icterícia pode ser pronunciada nos recém-nascidos, havendo muitas vezes necessidade de exsangüineotransfusão. Após o período neonatal, a magnitude da icterícia em geral vai de leve a moderada, podendo ser intermitente, com piora associada esforços físicos, infecções, estresses emocionais ou gravidez. A esplenomegalia está presente em mais de 75% dos casos. Cálculos biliares são frequentes, estando presentes em 5% dos casos na primeira década de vida, de 40 a 50% entre a segunda e a quinta década, chegando a 75% nas décadas posteriores. Como em outras anemias hemolíticas crônicas constitucionais, podem ocorrer úlceras perinaleolares. Um agravamento agudo da anemia pode ocorrer nas chamadas crises aplásticas e megaloblásticas. Nas crises

aplásicas graves ocorre ausência transitória dos percussores eritróides na medula óssea, agravamento da anemia e reticulocitopenia. Está relacionada à injeção pelo parvovírus B19, que tem tropismo pela *stem all* eritróide e impede o seu desenvolvimento. Sua ação é transitória, com recuperação dos quadros laboratorial e clínico em 7 a 10 dias, premiado por reticulocitose. Por sua vez, a crise megaloblástica é decorrente de deficiência e folatos, cujas necessidades estão aumentadas nas anemias hemolíticas crônica. Nesses casos, pedem ocorrer leucopenia e plaquetopenia. Hematopoese extramedular simulando tumores, principalmente paravertebrais e mediastinais, é outra complicaçāo da esferocitose hereditária.

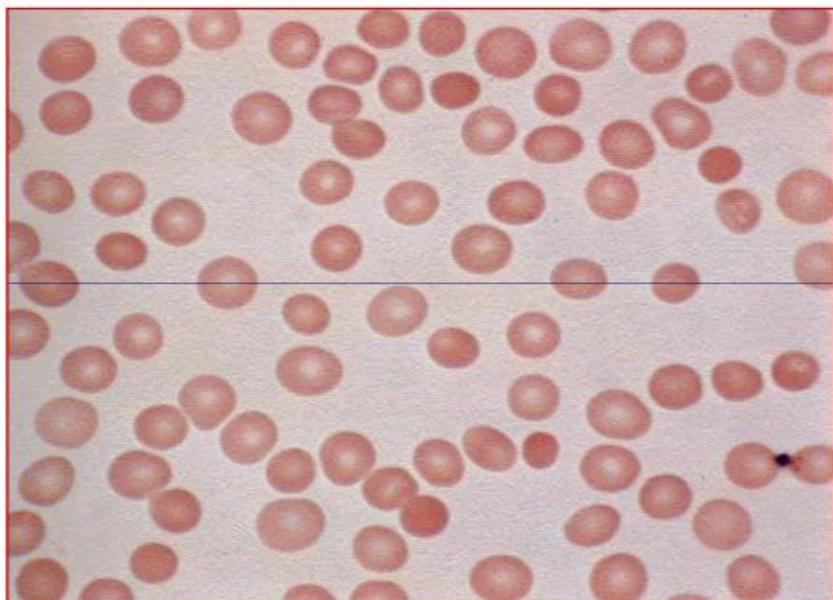
### Quadro Laboratorial

Anemia pode estar presente ou ausente, mas sempre ocorre reticulocitose, refletindo hemólise e tentativa de compensação medular. Hiperbilirrubinemia indireta e aumento da desidrogenase láctea (DHL) também demonstram o estado hemolítico. A presença de esferócitos é uma característica da doença, embora isso possa ocorrer também nas anemias hemolíticas autoimunes por anticorpos quentes, que deve ser excluída pelo teste de coombs. Ocorre aumento da concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), reflexo de células desidratadas e que perderam mais membrana do que conteúdo de hemoglobina. A fragilidade osmótica está aumentada. O estudo das proteínas da membrana pode evidenciar diminuição da aquirina, espectrina, banda 3 ou proteína 4.2, e orientar a pesquisa do defeito genético.

### Tratamento

No período neonatal, casos com grave hemólise e hiperbilirrubinemia acentuada podem levar ao risco de icterícia, sendo às vezes necessária exsangüineotransfusão. Como em todas as anemias hemolíticas crônicas, a necessidade de folatos está aumentada, sendo indicada a suplementação com ácido fólico (1 a 5 mg/dia VO). Transfusões de sangue podem ser necessária durante episódios de exacerbação de hemólise e de crises aplásicas e megaloblásticas. A esplenectomia é considerada curativa e está indicada nos pacientes que apresentam quadros graves (hemoglobina < 8 g/dl e reticulócitos > 10 %). Está também indicada em casos que cursam com comprometimento físico e intelectual em decorrência da anemia, assim como nos casos em que ocorre eritropoese extramedular e na presença de cálculos biliares, que sugere grande atividade hemolítica. A esplenectomia pode ser realizada por técnica cirúrgica tradicional ou por laparoscopia. Em geral a esplenectomia é feita após 6 anos de idade. Em idades muito precoces pode ser realizada uma esplenectomia parcial. Todos os pacientes esplenectomizados devem receber vacinação antipneumocócica, preferencialmente algumas semanas antes da cirurgia. Vacinação anti-Hemophilus influenza e antimeningococica, além de antibióticoterapia profilática após a esplenectomia, está indicada em crianças.

# **Esferocitose Hereditária**



## **Eliptocite hereditária**

A eliptocite hereditária compreende um grupo de doenças constitucionais caracterizados pela presença de hemácias elípticas no sangue periférico. A maioria dos casos não tem repercussão clínica, e o diagnóstico é sugerido pelo achado de eliptócitos durante um exame de rotina. Ocasionalmente no entanto pode cursar com anemia hemolítica de graus variáveis, necessitando de transfusões de sangue e esplenectomia. O amplo aspecto de apresentação clínica e laboratorial é decorrente da grande variedade de anomalias moleculares e genéticas associadas à eliptocite. A eliptocite hereditária pode ser encontrada em todos os grupos étnicos, com prevalência de 1:2500 em caucasianos e 1:150 em algumas partes da África. No Brasil não existem dados epidemiológicos, mas sua frequência deve ser alta, em função da origem de nossa população.

### Quadro clínico

Eliptocite hereditária comum é a forma clínica mais frequente, predominando nas populações de origem africana. Na maior parte dos casos, a única alteração é a morfologia eritrocitária, com eliptócitos correspondendo a mais de 40% das células. Não ocorre anemia, esplenomegalia ou reticulocite nas formas heterozigotas. Nos casos homozigotos ou com dupla heterozigose a hemólise pode ser proeminente, com anemia, reticulocite e fragmentação celular.

### Patogênese

Essa forma de eliptocite é causada por defeitos nas chamadas interações horizontais entre as proteínas da membrana eritrocitária. Defeitos na spectrina são as principais responsáveis, com mutações afetando o sítio de auto-associação entre moléculas em 50 a 80% dos casos. Esses defeitos levam a uma instabilidade do citoesqueleto, com formação dos eliptócitos, e nos casos mais graves, a significativa fragmentação celular e hemólise. Mutações

na proteína 4.1 e na glicoforina C também podem ser responsáveis pela doença. Defeitos da proteína 4.1 corresponde a 20 a 40% dos casos, sendo sintomático somente nos casos homozigóticos.

## Eliptocitose Hereditária



### Piropoiquilocitose hereditária (HPP)

Essa forma rara de eliptocitose hereditária se apresenta no período neonatal com risco de morte. Caracteriza-se por acentuada fragmentação celular, microcitose, poiquilocitose e sensibilidade térmica anormal, com fragmentação eritrocitária a 45 a 46 °C (normalmente ocorre a partir de 49 °C). A hemólise é melhorada pela esplenectomia, que muitas vezes requer indicação precoce. É causada por homozigose para defeitos da espectrina, ou mais frequentemente é decorrente da associação de defeitos eliptogênicos graves da α espectrina com o alelo α Lely em trans. O estudo dos pais é fundamental para a investigação diagnóstica.

#### Avaliação laboratorial

A avaliação morfológica das hemácias no sangue periférico é o principal elemento para a avaliação diagnóstica e da gravidade do quadro. Eliptócitos são a marca registrada da doença variando de 15 a quase 100% das células.

Fragmentação celular e microcitose estão presentes nos quadros mais graves, em geral associados a anemia e reticulocitose. Na HPP a fragmentação celular é extrema sendo muitas vezes difícil o achado de eliptócitos no esfregaço. Isso dificulta o diagnóstico dessa variante de eliptócitos, que por vezes é erroneamente diagnosticada como esferocitose grave. O exame dos pais é imprescindível nesses casos e vai mostrar um deles com aspecto eliptocitário típico.

Para a identificação do defeito eliptocítico de base são importantes os estudos das proteínas da membrana e dos padrões de proteólise da espectrina pela tripsina.

### Tratamento

Como não há manifestações clínicas na maioria dos casos de eliptocitose hereditária, em geral, não há necessidade de tratamento. Pacientes que cursam com hemólise crônica e anemia, podem se beneficiar da esplenectomia, mas os resultados não são bons com o na esferocitose. Na piropoiquilocitose hereditária a esplenectomia pode ser salvadora, tendo muitas vezes indicação precoce. Nesses casos a esplenectomia parcial pode ser uma boa opção. O uso de ácido fólico está indicado nos casos com anemia hemolítica.

### **Estomatocitose hereditária**

A estomatocitose hereditária designa uma série de doenças hereditárias dos eritrócitos, caracterizados por anormalidades nos mecanismos de regulação do volume celular. Apresenta defeitos na permeabilidade da membrana aos cátions monovalentes Na e K. Dependendo do tipo de defeito hiper-hidratados (hidrocitose hereditária) ou células desidratadas (xerocitose hereditária) além de casos com fenótipos intermediários. São doenças raras, mas possivelmente hipodiagnosticados. A incidência estimada de xerocitose é de 1/10000 e da hidrocitose de 1/100000.

### Quadro clínico-laboratorial

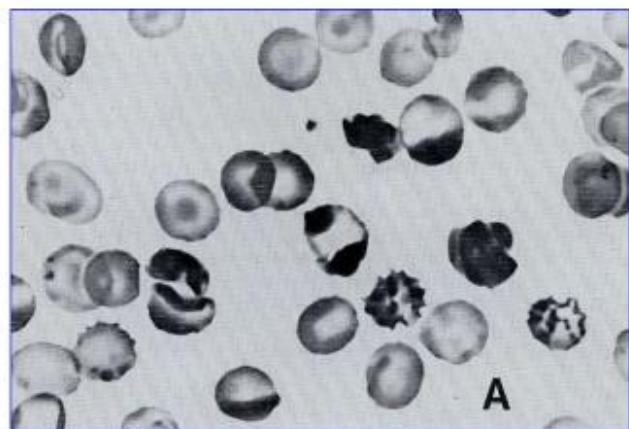
A estomatocitose hereditária apresenta anemia hemolítica leve e moderada, com níveis de hemoglobina ao redor de 10g/dl, reticulocitose (5 a 10%) e macrocitose (VCM entre 100 e 115 fl). A CHCM está elevada na xerocitose e diminuída na hidrocitose. Estomatócitos são frequentemente visualizados na hidrocitose, mas estão presentes, em grau variável, também nas formas desidratadas. O diagnóstico é baseado na determinação da quantidade intra-eritrocitária de Na e K, além de provas específicas nas quais são estudados os diversos canais de troca iônica da membrana eritrocitária.

### Tratamento

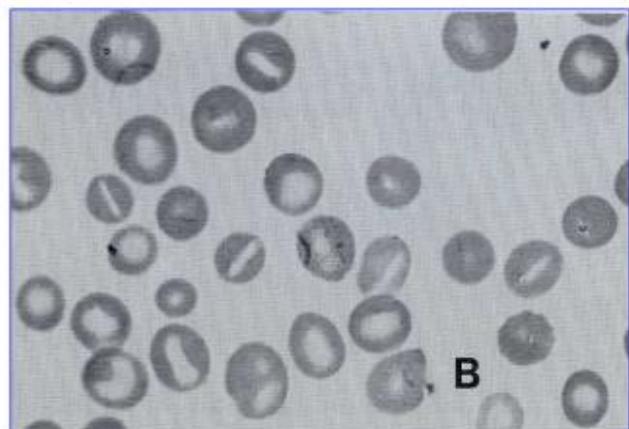
A esplenectomia está contra indicada nesta patologia devido às complicações tromboembólicas, normalmente associados, contudo existe evidência em alguns casos específicos que levou a uma melhora no controle da anemia, mas sempre supervisão extrema devido ao risco de trombose pós-operatória. Existem outras terapias que têm mostrado muito útil. Em alguns pacientes, os eventos vaso-occlusivos foram controlados com transfusão prolongada de glóbulos vermelhos, em outros casos a terapia à base de pentoxilia mostrou-se eficaz.

## **Estomatocitose Hereditária**

**A. Xerocitose**



**B. Hidrocitose**



## **Bibliografia**

- Manual de Hematologia - J. Bernard - J. P. Lévv - J. P. Clauvel - J. D. Rain - B. Varet; 1979
- Manual de Interpretação (Hemograma) – Renato Failace – 5<sup>a</sup> Edição
- VI Board Review – 2012 Curso de Revisão em Hematologia e Hemoterapia Anemias hemolíticas - Paulo Augusto Achucarro Silveira - <http://www.einstein.br/>