Doença dos Eritrócitos

O Eritrócito

O Eritrócito Normal 2
Introdução 2
Hematopoiese com Ênfase Eritrocitária 8
Fase intra-uterina 8
Fase pós-nascimento 9
Eritropoiese 10
Pró-eritroblasto 12
Eritroblasto basófilo 13
Eritroblastos policromatófilo e ortocromático 13
Reticulócito 15
Eritrócito 16
Principais Componentes dos Eritrócitos 19
Os Fatores Mais Importantes da Eritropoiese 19
Eritropoietina 19
O Ferro e seu Metabolismo 20
Ácido Fólico e Vitamina B12 22
Mecanismos Envolvidos na Regulação da Absorção do Ferro 23
A Hemoglobina 27
Estrutura Molecular e Função 27
A Síntese das Globinas 29
A Síntese do Grupo Heme 33
Ontogenia das Hemoglobinas 37
Hemoglobinas Variantes 37
Talassemias 39
A Membrana 41
Estrutura Química da Membrana 41
Deformabilidade da Membrana 44
As Principais Enzimas Eritrocitárias 47

O ERITRÓCITO

O Eritrócito Normal

Introdução

O eritrócito é uma célula altamente especializada e sua principal função é o transporte de oxigênio dos pulmões aos tecidos e de dióxido de carbono no sentido inverso. Esta função é facilitada pela forma discóide e bicôncava do eritrócito (**figura 1.1**), pelo fato de possuir ampla superfície para a troca de gás. O eritrócito tem um diâmetro médio de 8 mm, mas seu citoesqueleto e a estrutura da sua membrana é capaz de sofrer marcante deformação e passar através de capilares com 2-3 mm de diâmetro (**figuras 1.2** e **1.3**). Essa deformidade somente é possível pelas interações entre proteínas que estão inseridas na dupla camada lipoprotéica da membrana eritrocitária (banda 3 e glicoforina) e as proteínas que estão na região interna da membrana e em contato com o citoplasma (espectrina, anquirina e proteína 4.1) conforme mostra a**figura 1.4**. Defeitos nestas proteínas causam deformações na morfologia e funções dos eritrócitos, que são apresentadas resumidamente na **tabela 1.1**.

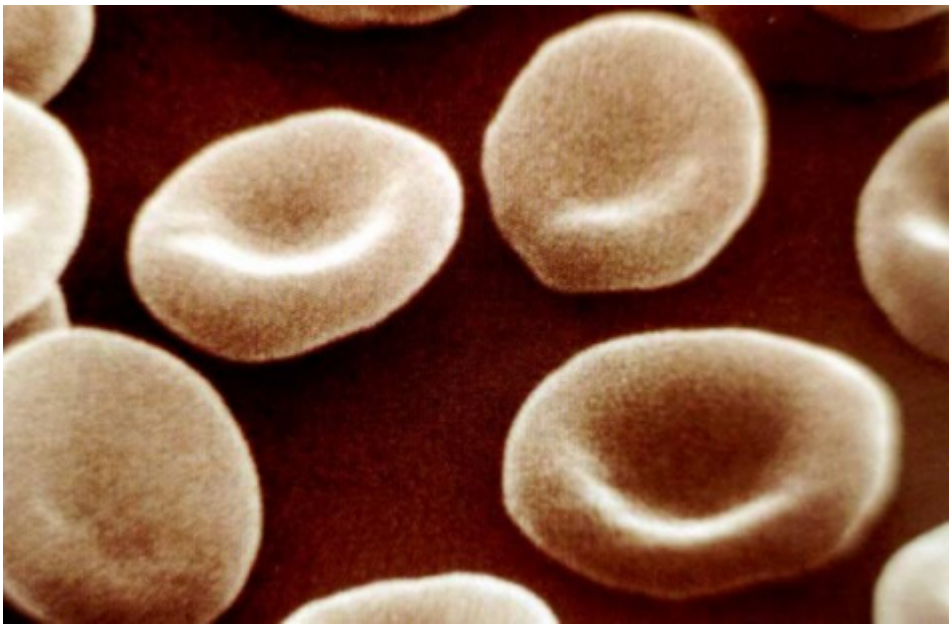

Figura 1.1. Microscopia eletrônica de eritrócitos normais, com formas discóides.

Figura 1.2. Fluidez normal de eritrócitos em capilar de diâmetro vascular próximo de 8 mm.

Figura 1.3. Deformabilidade de eritrócito em capilar com diâmetro vascular de 3 mm (cisaliamento).

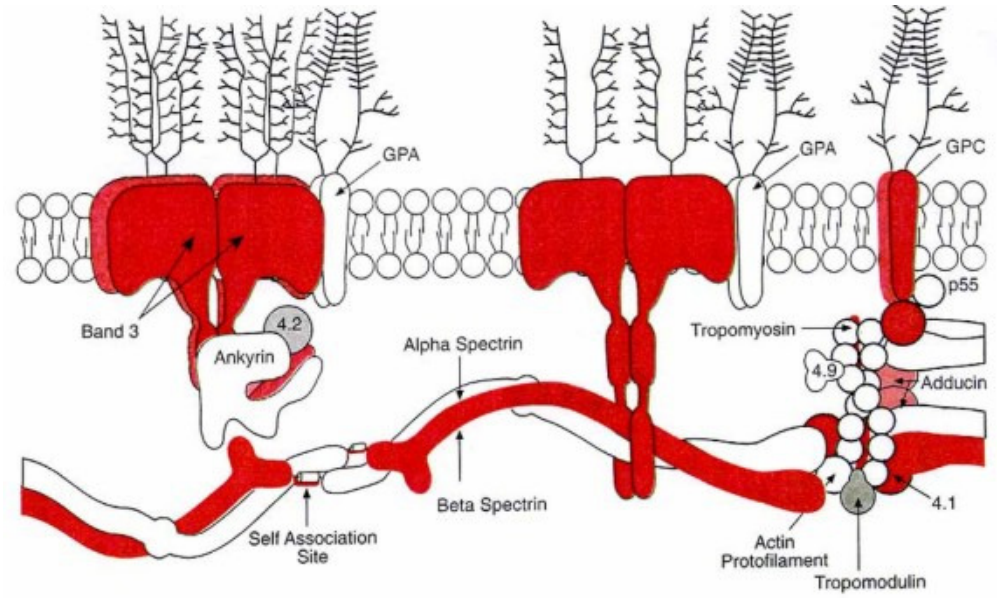

Figura 1.4. Estrutura da membrana do eritrócito; GPA: glicoforina A; GPC: glicoforina C.

Tabela 1.1. Alterações das proteínas de membrana de eritrócitos, e as principais doenças específicas.

Anormalidades Protéicas	Forma de Herança	Doença Hereditária
Espectrina e Anquirina	Autossômica dominante	Esferocitose
Banda-3, Proteína 4.1	Recessiva (raro)	Esferocitose
Espectrina	Autossômica dominante	Eliptocitose
Proteína 4.1	Recessiva (raro)	Eliptocitose
Espectrina	Recessiva	Piropoiquilocitose
Defeito de permeabilidade de sódio	Autossômica dominante	Estomatocitose

O eritrócito maduro é desprovido de organelas e núcleo, e assim é incapaz de sintetizar proteínas, de realizar a fosforilação oxidativa e de obter energia pelo ciclo do ácido tricarboxílico. Dessa forma, a energia do eritrócito é obtida principalmente por meio da via aeróbica de Embden-Meyerhof e estocada sob forma de ATP (**figura 1.5**). Dependendo do grau de oxidação do eritrócito, são liberadas quantidades variáveis de glicose através do desvio da hexose monofosfato para produzir componentes redutores como a glutationa (GPx) e

nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH), conforme mostra no destaque a **figura 1.5** referente à via de desvio pentose-fosfato.

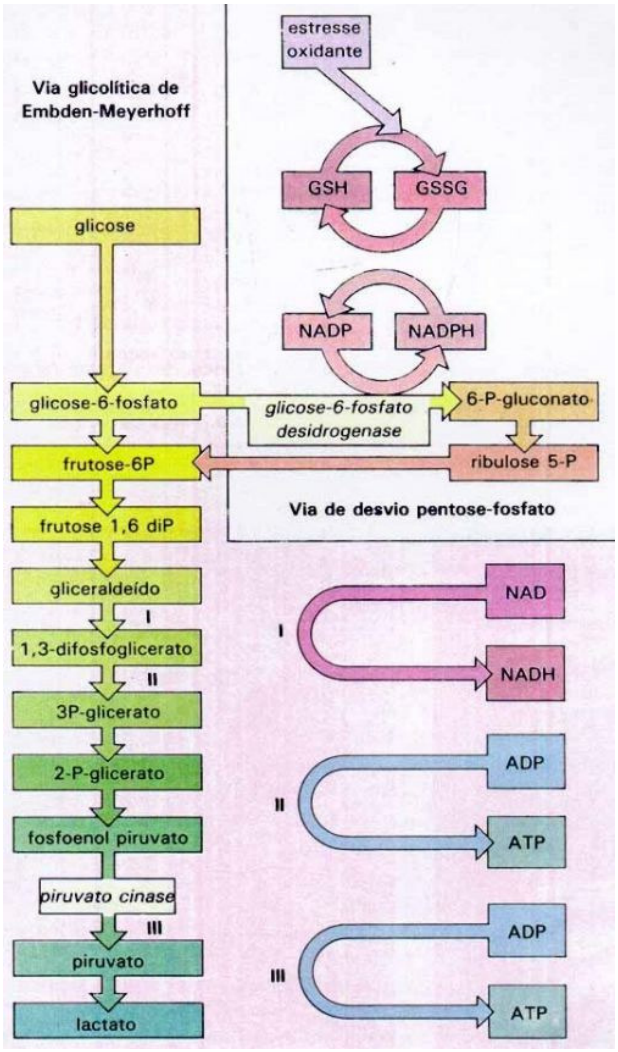

Figura 1.5. Vias metabólicas do eritrócito. NAD: nicotinamida adenina dinucleotídeo; NADH: forma reduzida da NAD; NADP: nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato; NADPH: forma reduzida de NADP; 2,3 DPG: 2,3-difosfoglicerato; GSH: glutatião reduzido; GSSG: glutatião oxidado.

Aproximadamente 98% da proteína citoplasmática do eritrócito é composta por milhões de moléculas de hemoglobinas (Hb), que transportam o oxigênio. Cada molécula de hemoglobina é formada por duas globinas do tipo alfa – representadas por a_2, e duas globinas do tipo beta – representadas por b_2, d_2, g_2. São as globinas do tipo beta que diferenciam os três tipos de hemoglobinas humanas: Hb A (a_2b_2), Hb A_2(a_2d_2) e Hb Fetal (a_2g_2). Cada globina se liga a um grupo heme; portanto cada molécula de hemoglobina transporta quatro moléculas de oxigênio que se ligam aos quatro átomos de ferro ($Fe^{++}O_2^{--}$), conforme mostra a **figura 1.6**. Os tipos de hemoglobinas variam conforme o processo evolutivo do indivíduo, conforme mostra a **tabela 1.2**.

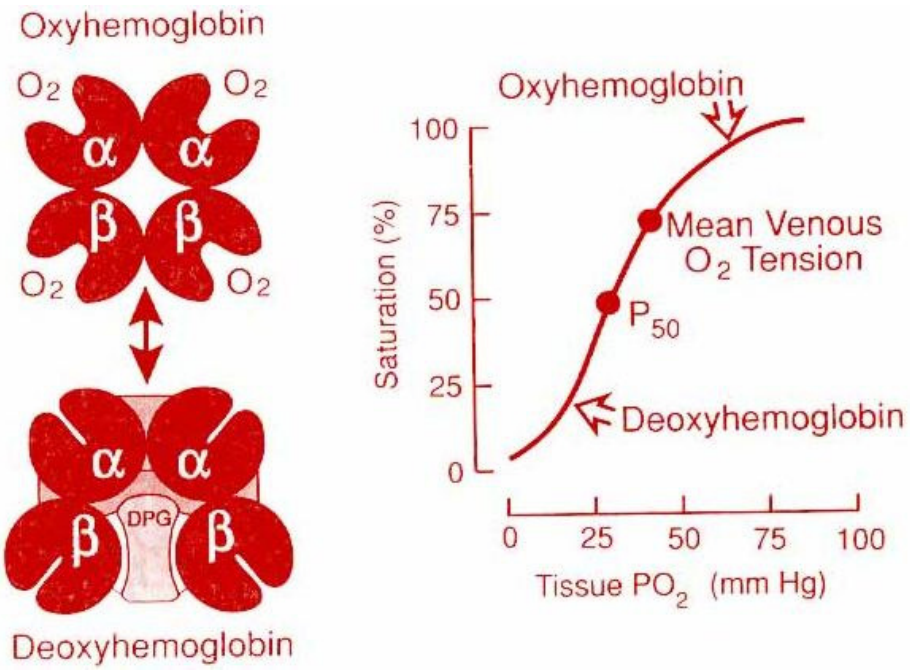

Figura 1.6. (a) Representação esquemática de moléculas de hemoglobina oxigenada (oxihemoglobina) e hemoglobina desoxigenada (desoxihemoglobina). (b) Curva de dissociação de oxigênio.

Tabela 1.2. Tipos de hemoglobinas em diferentes fases.

Tipo de Hb	Composição	Concentração/Fase
A	a_2b_2	96-98% - adulta (*)
A_2	a_2d_2	2-4% - adulta (*)
Fetal	a_2g_2	0-1% - adulta (*) 90-100% - feto
Gower-1	z_2e_2	variável-embrião
Gower-2	a_2e_2	variável-embrião
Portland	z_2g_2	variável-embrião

(*) fase que representa a hemoglobina definitiva (ou adulta) após o sexto mês de vida

A curva de dissociação de oxigênio descreve a porcentagem de saturação da hemoglobina com o oxigênio, em diferentes pressões do oxigênio (PO_2). A curva com a forma signóide (**figura 1.6**) reflete a interação entre o oxigênio e a hemoglobina. Assim a hemoglobina se torna oxigenada (oxihemoglobina) à medida que a saturação supera 60%, fato que ocorre quando o 2,3 DPG desocupa a molécula de Hb. A desoxigenação da hemoglobina (deoxihemoglobina) ocorre com a saturação de 2,3 DPG na molécula, e efetivamente tem início quando o nível de saturação de oxigênio cai abaixo de 40%. Assim, o nível de liberação do oxigênio é por volta de 75% de saturação.

Durante aproximadamente 120 dias de vida celular, o eritrócito desempenha sua função de transportador de oxigênio, percorrendo cerca de 450 quilômetros nos vasos sangüíneos, e

submetido a turbulências no coração e artérias (**figura 1.7**) e ao cisaliamento nos capilares (**figura 1.8**). O envelhecimento dos eritrócitos é acompanhado pela perda de flexibilidade de sua membrana devido ao aumento do colesterol e da lipoperoxidação da dupla camada lipoprotéica (ver capítulo "Radicais Livres e Danos Eritrocitários"). A desestruturação protéica da membrana, em especial pelas agregações da banda-3 e da 4.1, provavelmente se constituem num "sinal" para que os macrófagos reconheçam os eritrócitos envelhecidos e promovem a fagocitose (**figura 1.9**).

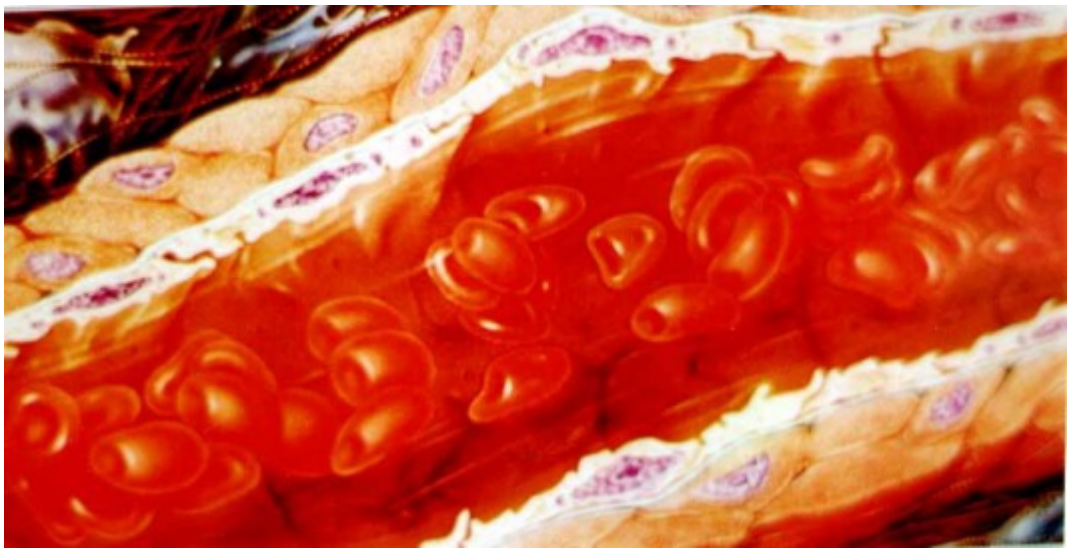

Figura 1.7. Fluxo turbulento normal em artéria.

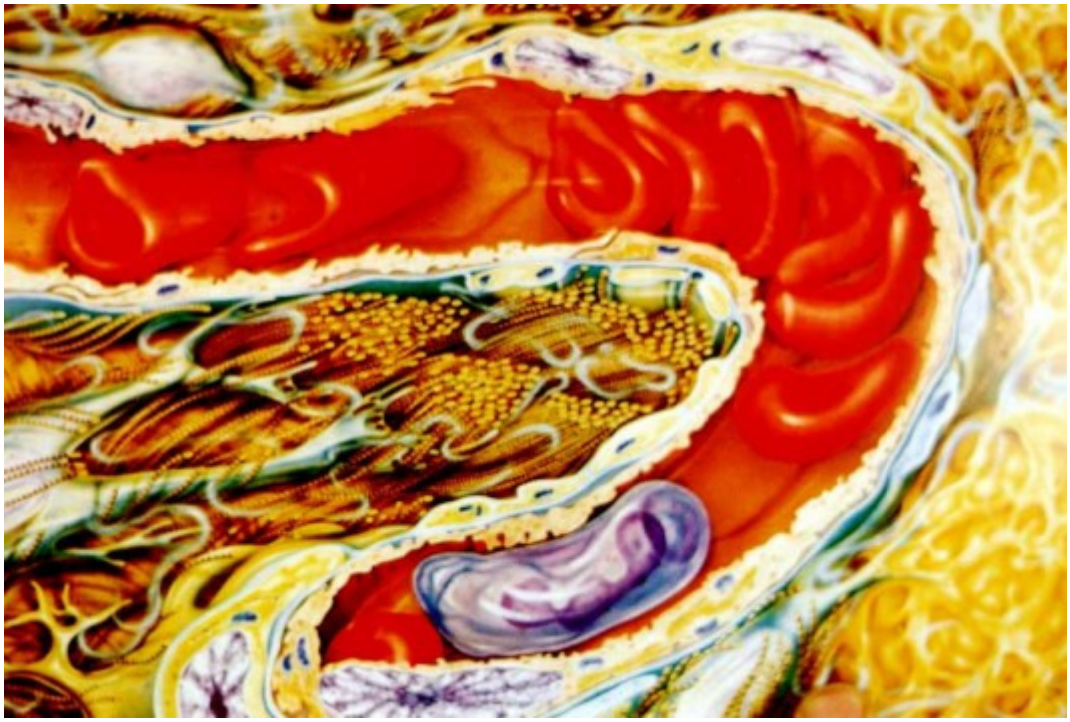

Figura 1.8. Fluxo de eritrócitos em capilar, cuja deformidade natural é conhecida por cisaliamento (eritrócitos alongados em forma de capuz).

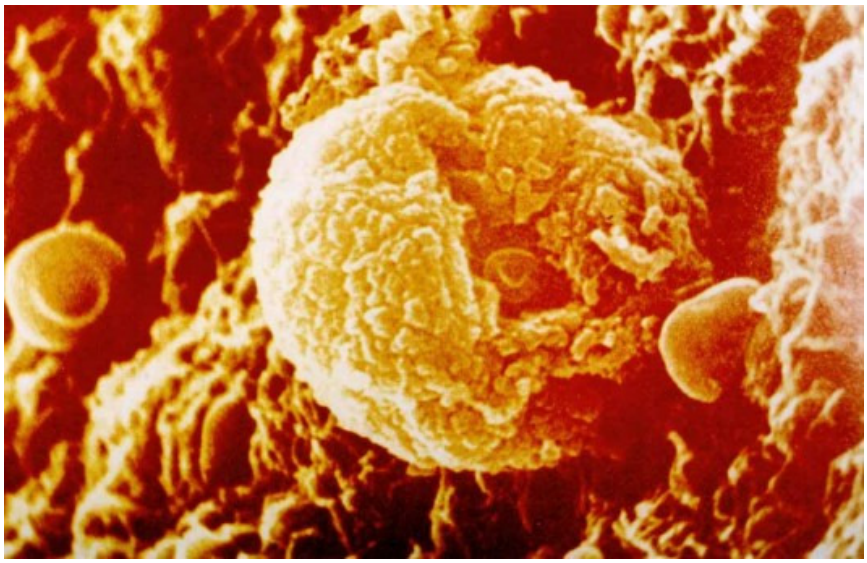

Figura 1.9. Fagocitose de eritrócito envelhecido por macrófago no sistema retículo endotelial (SRE).

Hematopoiese com Ênfase Eritrocitária

Fase intra-uterina

A produção das células do sangue inicia-se no saco vitelino após a segunda semana de fecundação e, conforme o embrião se desenvolve, várias estruturas orgânicas começam a se organizar e especializar. Nesse processo de desenvolvimento morfológico e fisiológico, o embrião se transforma em feto com o aparecimento dos primeiros órgãos. O fígado do feto se torna o principal local de hematopoiese no segundo trimestre de gestação, enquanto as medulas dos ossos vão se formando anatômica e funcionalmente. No terceiro trimestre do desenvolvimento fetal, as medulas ósseas são, enfim, o mais importante órgão hematopoiético.

A maioria das células hematopoiéticas produzidas no saco vitelino e no fígado fetal é eritroblástica; enquanto, no período fetal, a síntese de eritrócitos e de granulócitos que envolve a produção de neutrófilos, eosinófilos e basófilos ocorre na medula óssea.

Algumas características da eritropoiese intra-uterina estão resumidas na **tabela 2.1**.

Tabela 2.1. Eritropoiese no período intra-uterino.

Local da Eritropoiese	Tipo Celular Básico	Tipo Celular Maduro	Tipos de Hemoglobinas
Saco vitelínico	megaloblástico	megalócitos nucleados	Gower-1* Gower-2* Portland*
Fígado	normoblástico	macrócitos anucleados	Fetal
Medula óssea	normoblástico	macrócitos anucleados	Fetal

* conhecidas também como hemoglobinas embrionárias

Fase pós-nascimento

Após o nascimento a medula óssea é o único local da eritropoiese em indivíduos saudáveis. Durante os primeiros quatro anos de vida, quase todas as cavidades medulares contêm tecido hematopoiético, configurando-lhe uma textura vermelha (a medula óssea vermelha), e poucas células adiposas. Com o passar do tempo, as células adiposas vão tomando o espaço das cavidades medulares na maior parte dos ossos, substituindo gradativamente o tecido hematopoiético por gordura. Por volta dos 25 anos de idade, as medulas ósseas que desenvolvem a medida que se tornam mais maduras, diminui progressivamente seu potencial de diferenciação.

Assim, as células-mãe unipotentes direcionam-se especificamente para a produção de eritrócitos, granulócitos-neutrófilos, monócitos/macrófagos e megacariócitos, e são respectivamente identificadas por *UFC-E, UFC-G, UFC-M*e *UFC-Mega*. Essas células se desenvolvem morfologicamente até serem reconhecidas pelos métodos citológicos comuns em suas linhagens correspondentes: pró-normoblastos, mieloblastos, monoblastos e megacarioblastos (**figura 2.1**).

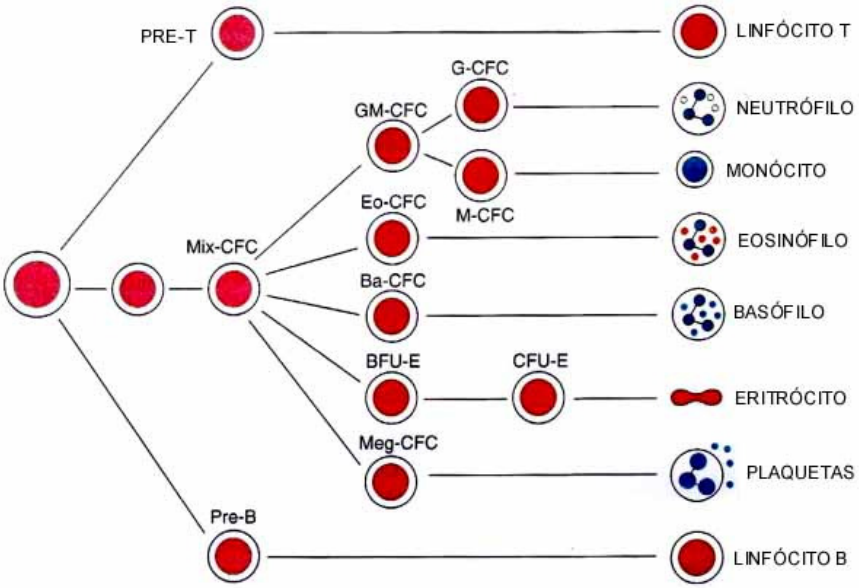

Figura 2.1. Representação do desenvolvimento das células do sistema hematopoiético. A linhagem de células progenitoras (CFC = colônia formadora de células ou C.F.U.: unidades formadoras de colônias) está definida pelos seguintes prefixos: Eo=eosinófilo; G=granulócito neutrófilo; M=macrófago; Ba=basófilo; Meg=megacariócito; E=eritrócito; Mix CFC=célula com capacidade para formar três ou mais linhagens; BFU-E=unidade formadora de blastos eritróides; CFU-E=unidade formadora de colônias eritróides.

Diante dos conhecimentos aqui resumidos e devido à especificidade desse capítulo, será abordado apenas o desenvolvimento da linhagem eritrocitária.

Eritropoiese

Nas pessoas adultas, os eritrócitos são normalmente formados na medula óssea. Esse processo, em situação patológica como nos casos de anemias hemolíticas crônicas, pode ocorrer no baço e em outros órgãos do sistema reticuloendotelial, por exemplo: o fígado. A eritropoiese depende da adequada obtenção de proteínas, carboidratos, gorduras, sais minerais e vitaminas. Os elementos mais importantes desses dois últimos grupos são ferro, ácido fólico e vitamina B12. A piridoxina e o ácido ascórbico também são considerados essenciais. A absorção de ferro é facilitada por ácido hipoclorídrico e ácido ascórbico, e depende de um componente protéico, a transferrina, para transportá-lo à medula óssea e aos órgãos de estocagem, dos quais o fígado é o principal. A absorção da vitamina B12 requer um componente protéico, conhecido por fator intrínseco, que é uma substância existente no suco gástrico e secretado pelas células parietais da mucosa gástrica.

Assim, a vitamina B12 e o ácido fólico dependem do funcionamento normal da mucosa gástrica para serem absorvidos. O ácido ascórbico participa da transformação do ácido fólico para sua forma ativa, o ácido folínico. Ferro, ácido fólico e vitamina B12 são estocados no fígado para serem utilizados em situação de deficiência desses elementos.

O processo fisiológico responsável pela manutenção do equilíbrio entre a produção e a destruição dos eritrócitos inclui um hormônio, a eritropoietina, produzido nos rins. A eritropoietina é uma alfaglobulina, cuja síntese está relacionada com a hipóxia celular. Especialmente a hipóxia renal reduz a produção e a liberação da eritropoietina e esta, por sua vez, acelera a diferenciação da célula-tronco mielóide multipotente para a linhagem específica da célula-mãe eritróide blástica (UFB-E, ou unidade formadora de blastos eritróides). Nesse processo deve ser ressaltado que ao acelerar a diferenciação da célula-tronco mielóide multipotente, outra célula similar deve apenas de dividir para evitar o esgotamento do compartimento. A regulação da produção de eritrócitos pela eritropoietina depende do consumo de oxigênio tecidual e notadamente da queda da pO_2 renal. Assim, quando ocorre a diminuição da massa eritrocitária circulante por uma alteração patológica, como são os casos das anemias, há um prejuízo na vascularização tecidual modificando o débito cardíaco, a função pulmonar e a liberação de 2,3-difosfoglicerato hematopoiese estão resumidas a ossos do crânio, costelas, vértebras, esterno, escápulas, clavículas, pelve, região média-superior do sacro, cabeça do fêmur e úmero. Todas as cavidades medulares dos ossos restantes contêm gordura e, por isso, são denominadas de medulas amarelas.

Algumas doenças específicas, por exemplo: anemias hemolíticas, anemias megaloblásticas e alguns tipos de leucemias, podem alterar o tecido hematopoiético e o seu local de síntese por:

a. substituição parcial ou total das células adiposas por células hematopoiéticas nas cavidades medulares de ossos que normalmente têm atividades hematopoiéticas;
b. extensão da medula hematopoiética para os ossos que contêm em suas cavidades a medula gordurosa (por exemplo, ossos longos);
c. aparecimento de tecidos hematopoiéticos no fígado e baço, produzindo a hematopoiese extramedular.

Os sistemas hematopoiéticos das pessoas adultas são exemplos de um constante estado de renovação das células em que o nível de perda de células maduras do sangue (eritrócitos, granulócitos, monócitos, linfócitos e plaquetas) é equilibrado completamente, por meio da distribuição de novas células produzidas. As células maduras são retiradas da circulação sangüínea devido ao seu tempo de vida útil ou durante suas atividades funcionais. Assim, a formação de células do sangue envolve dois processos:

1. desenvolvimento progressivo das características estruturais e funcionais específicas para um determinado tipo de célula (citodiferenciação ou maturação);
2. proliferação celular.

A hematopoiese inicia-se por meio de dois grandes grupos celulares conhecidos por células-tronco e células-mãe que não são reconhecidas morfologicamente em esfregaços de sangue obtidos por punção da medula óssea, mas podem ser estudadas por testes funcionais.

Essas células, denominadas de *unidades formadoras de blastos (UFB) e unidades formadoras de colônias (UFC)* têm sido identificadas e caracterizadas por sua capacidade de produzir pequenas colônias de um ou mais tipos de células em meios de cultura muito específicos (**figura 2.1**).

A célula hematopoiética mais primitiva é a célula-tronco pluripotente, que dá origem a dois tipos de células-tronco específicas e conhecidas por células-tronco *mielóides multipotentes*e células-tronco *linfóides*. As células-tronco *mielóides multipotentes* diferenciam-se em vários tipos de células-mãe mielóides que eventualmente geram os eritrócitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, mastócitos, monócitos e plaquetas. As células-tronco *linfóides* originam as células-

mãe específicas para produzirem linfócitos T, linfócitos B, linfócitos não-T e linfócitos não-B. Diferentemente das células-tronco, as células-mãe mielóides e linfóides têm limitada capacidade de regeneração. As células-mãe mielóides mais imaturas são direcionadas para duas ou três vias de diferenciação. À (2,3-DPG). Toda essa situação promove o aumento da afinidade das células pelo oxigênio e causa a liberação da eritropoietina pelos rins para estimular as células formadoras de eritrócitos. Esse processo de regulação promovido pela adequada liberação de eritropoietina, estimula a eritropoiese, cujos componentes principais são os pró-eritroblastos (ou pró-normoblastos), os eritroblastos (ou normoblastos) basófilo, policromatófilo a acidófilo, os reticulócitos e os eritrócitos maduros. As células blásticas sofrem contínuas reduções de tamanho, com mudanças profundas no seu conteúdo citoplasmático e na sua estrutura celular, ao mesmo tempo em que a síntese de hemoglobina se acumula gradativamente no espaço celular. A eritropoiese ocorre num período normalmente entre oito e nove dias até a liberação do eritrócito adulto, conforme resume a **tabela 2.2**.

Tabela 2.2. Duração aproximada dos diferentes tipos celulares e o crescimento da concentração de hemoglobina durante a gênese eritrocitária.

Células	Tempo médio (h)	Concentração de Hbmm
Pró-eritroblasto	20	0-7
Eritroblasto basófilo	40	7-25
Eritroblastos policromatófilo e ortocromático	24	10-25
Eritroblasto acidófilo	30	13-25
Reticulócito	72	25-30
Eritrócito	120 dias	27-32

Pró-eritroblasto

É uma célula oval ou circular com diâmetro variável entre 20 e 25 m. O núcleo ocupa 4/5 da célula, e é possível visualizar um ou dois nucléolos. É uma célula rica em ribossomos citoplasmáticos, além das organelas comuns que caracteriam áreas descoradas que correspondem aos locais em que se encontram os centrosomas, ou pequenas áreas claras onde se localizam as mitocôndrias (**figura 2.2**). Ainda no citoplasma é possível observar apenas com recursos da microscopia eletrônica as moléculas de ferritina calculadas entre 500 a 1.000 por célula. Nenhuma ou pouca hemoglobina é sintetizada nesta fase (0 a 7 mmg).

Cada pró-eritroblasto, após 20 horas de vida, sofre o processo de mitose e origina dois eritroblastos basófilos.

Eritroblasto basófilo – o processo de mitose da célula precedente resulta numa diminuição do tamanho celular do eritroblasto basófilo. Morfologicamente é uma célula circular, com o núcleo ocupando 2/3 do volume total, e o citoplasma é caracterizado por basofilia uniforme e menos intensa. O núcleo se torna bem característico através da cromatina distribuída homogeneamente em grupos (**figura 2.2**). O fenômeno da mitose é freqüentemente observado nessas células, quando por aspiração de sangue da medula óssea. Por microscopia eletrônica avalia-se entre 20

e 30 mitocôndrias, centrosoma pequeno contendo dois centríolos envolvidos por um complexo de Golgi. Observa-se, também, a presença de conglomerados de ferritina que representam os siderócitos visualizados com corante específico em microscopia óptica.

O eritroblasto basófilo tem vida média de 40 horas e se destaca por dar início à síntese de hemoglobina (7 a 25 mmg). Por mitose, origina o eritroblasto policromatófilo.

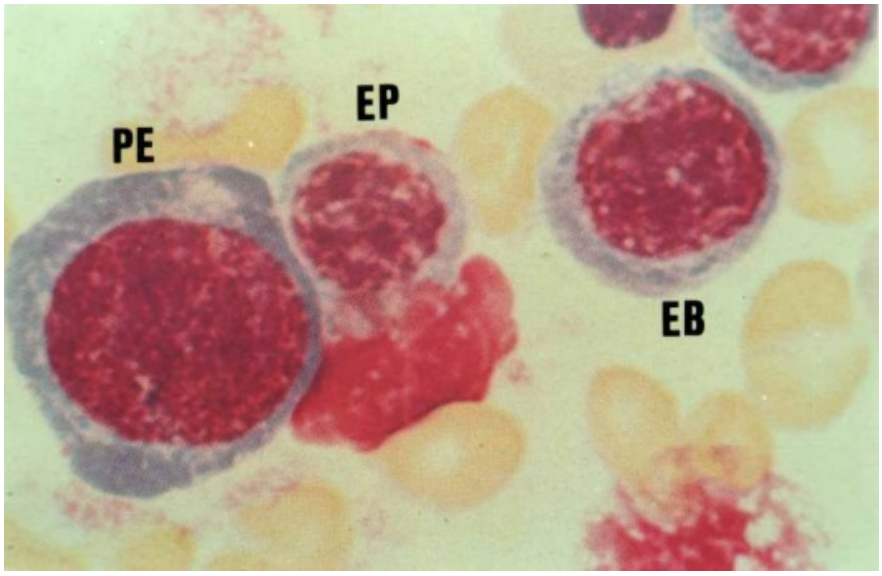

Figura 2.2. Microscopia óptica de esfregaço obtido de punção medular. PE=proeritroblasto; EB=eritroblasto basófilo; EP=eritroblasto policromático.

Eritroblasto basófilo

O processo de mitose da célula precedente resulta numa diminuição do tamanho celular do eritroblasto basófilo. Morfologicamente é uma célula circular, com o núcleo ocupando 2/3 do volume total, e o citoplasma é caracterizado por basofilia uniforme e menos intensa. O núcleo se torna bem característico através da cromatina distribuída homogeneamente em grupos (**figura 2.2**). O fenômeno da mitose é freqüentemente observado nessas células, quando por aspiração de sangue da medula óssea. Por microscopia eletrônica avalia-se entre 20 e 30 mitocôndrias, centrosoma pequeno contendo dois centríolos envolvidos por um complexo de Golgi. Observa-se, também, a presença de conglomerados de ferritina que representam os siderócitos visualizados com corante específico em microscopia óptica.

O eritroblasto basófilo tem vida média de 40 horas e se destaca por dar início à síntese de hemoglobina (7 a 25 mmg). Por mitose, origina o eritroblasto policromatófilo.

Eritroblastos policromatófilo e ortocromático

O eritroblasto policromatófilo é uma célula menor do que o basófilo e se destaca pela gradativa incorporação da acidofilia no citoplasma promovida pelo aumento da concentração de

hemoglobina (**figuras 2.2** e **2.3**). O volume do núcleo dessa célula diminui proporcionalmente ao seu grau de envelhecimento, passando de ½ em relação ao volume da célula na fase inicial, para ¼ na fase final, caracterizando assim o eritroblasto ortocromático. O tempo de vida do eritroblasto policromatófilo é próximo de 24 horas e a célula sintetiza entre 10 e 25mmg de hemoglobina.

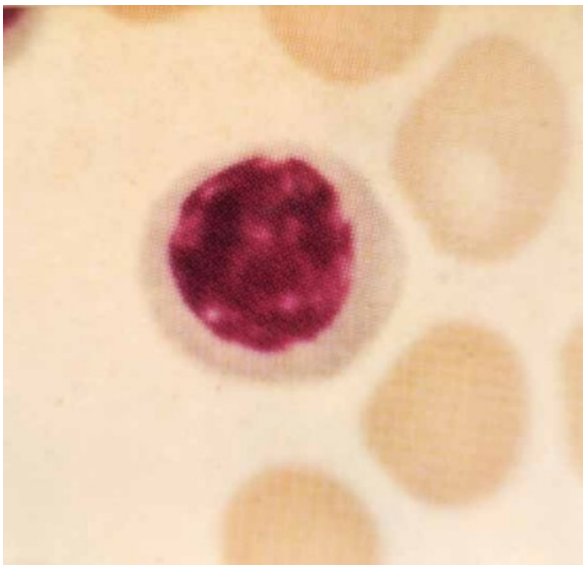

Figura 2.3. Microscopia óptica de esfregaço obtido de punção medular, mostrando no centro um eritroblasto policromático.

O eritroblasto ortocromático inicialmente tem o núcleo central que ocupa ¼ do volume celular e à medida que vai envelhecendo, esse núcleo se torna denso e desloca-se para a periferia. Essa célula tem um tempo de vida médio de 30 horas e sintetiza entre 13 e 25 mmg de hemoglobina (**figura 2.4**). A perda do núcleo ocorre por um processo denominado extrusão (**figura 2.5**), que indica uma perda parcial do material, o restante é fagocitado por macrófagos, que se dispõem no centro de vários eritroblastos (ilhotas de eritroblastos) (**figura 2.6**). Ao fagocitar o núcleo, o macrófago introduz também alguma quantidade de hemoglobina, que é metabolizada e dá origem à formação de "picos" de bilirrubina. Após o desaparecimento do núcleo, a célula se transforma no reticulócito.

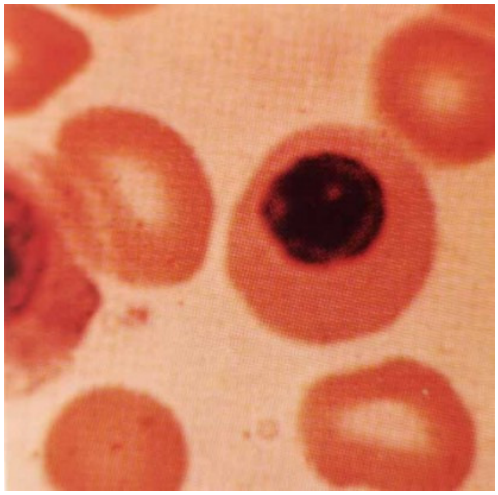

Figura 2.4. Microscopia óptica de esfregaço obtido de punção medular, mostrando um eritroblasto ortocromático (ou acidófilo).

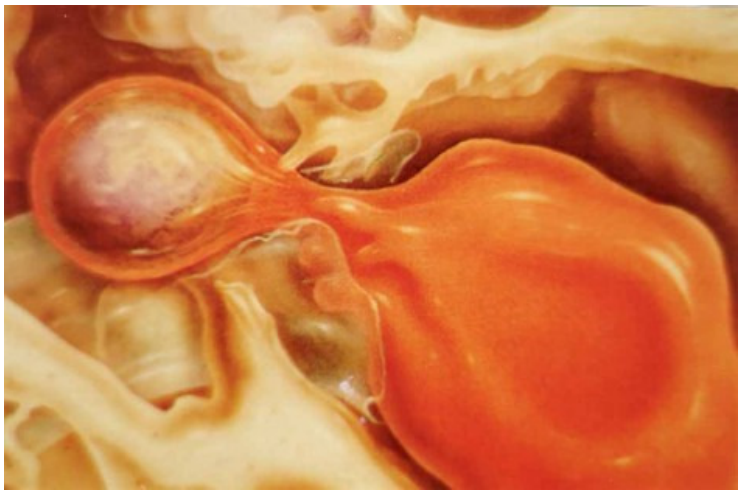

Figura 2.5. Figura representando a perda do núcleo (extrusão) durante passagem do espaço intracelular para o extracelular.

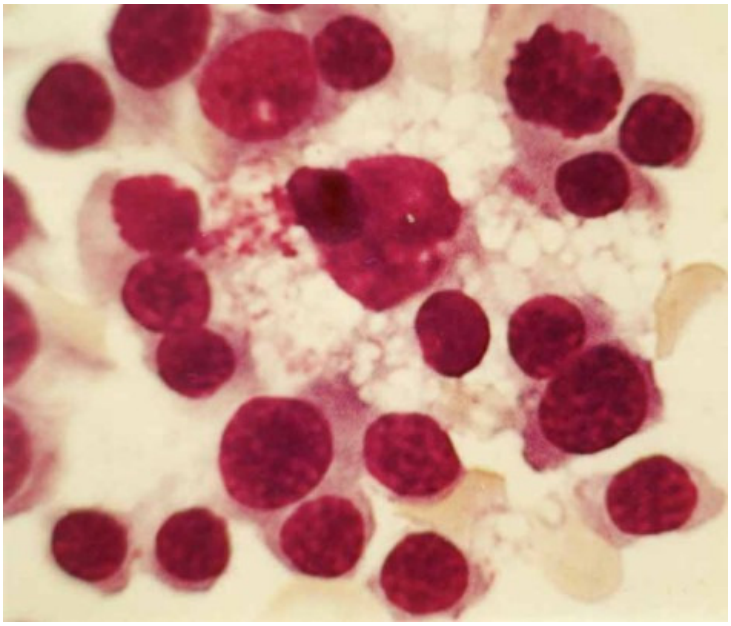

Figura 2.6. Fagocitose de núcleos de eritroblastos ortocromáticos (ou acidófilos) por macrófago (no centro da foto).

Reticulócito

É uma célula caracterizada durante o período compreendido entre a perda do núcleo do eritroblasto ortocormático e a perda de organelas, em especial as mitocôndrias e os ribossomos. Tem uma duração de 72 horas e capacidade para sintetizar entre 25 e 30 mmg de hemoglobina. O reticulócito contém porções do complexo de Golgi, mitocôndria e um número variável de mono e polirribossomos. Moléculas de ferritina estão presentes nesta fase da série eritrocitária, e o desaparecimento das organelas é progressivo. O reticulócito é uma célula que se caracteriza

pela resposta do sistema eritropoiético a um grave estresse. Assim, seu aumento no sangue se deve a uma resposta devido à anemia aguda (**figura 2.7**), ou às injeções de substâncias que ativam ou estimulam a eritropoiese, por exemplo: vitamina B12, folatos, ferro, eritropoietina.

A fase seguinte à do reticulócito é a do eritrócito.

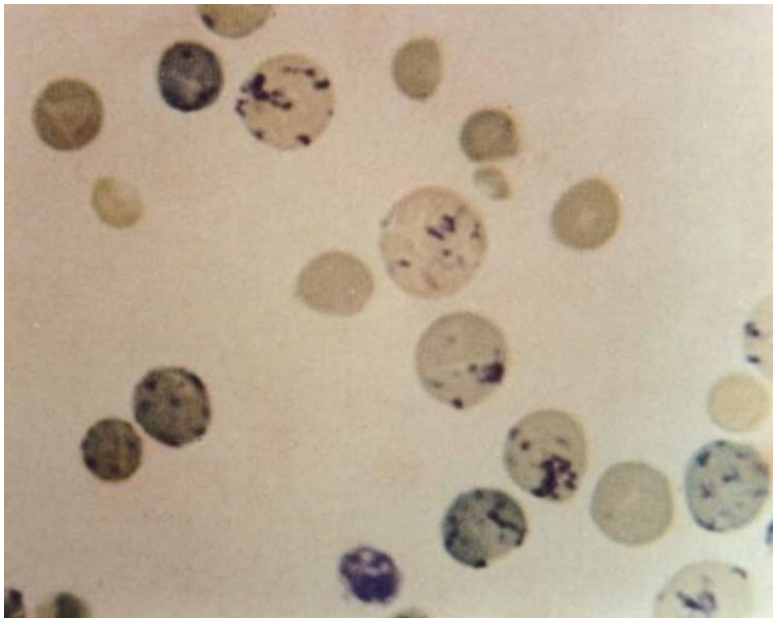

Figura 2.7. Microscopia óptica de esfregaço de sangue periférico incubado com azul de crezil brilhante a 1%, onde aparecem elevado número de reticulócitos, caracterizando a reticulocitose. Situações de reticulocitose semelhantes ao da foto são observadas nas anemias hemolíticas graves (anemia falciforme, hemoglobinas instáveis, esferocitose homozigota, etc.)

Eritrócito

Esta célula tem a forma de disco bicôncavo, com 8 mm de diâmetro, espessura periférica de 2,5 mm e central de 1 mm. A superfície total é de 160 mm^2 e o volume de 90 mm^3. O peso é de 30 x 10^{-19}g (**figuras 2.8** e **2.9**). Esses valores variam entre 5 e 10% na normocitose e normocromia. Os eritrócitos têm cor amarela, se vistos a fresco por microscopia óptica. Alguns fenômenos naturais podem ser observados nos eritrócitos, entre os quais destacam-se:

- formação de "roleaux", devido ao significativo aumento de fibrinogênio (infecções e mieloma);
- aglutinação, quando há altos títulos de anticorpos antieritrocitários;
- deformabilidade, situação normal observada *in vivo* no microscópio (**figura 2.11**).

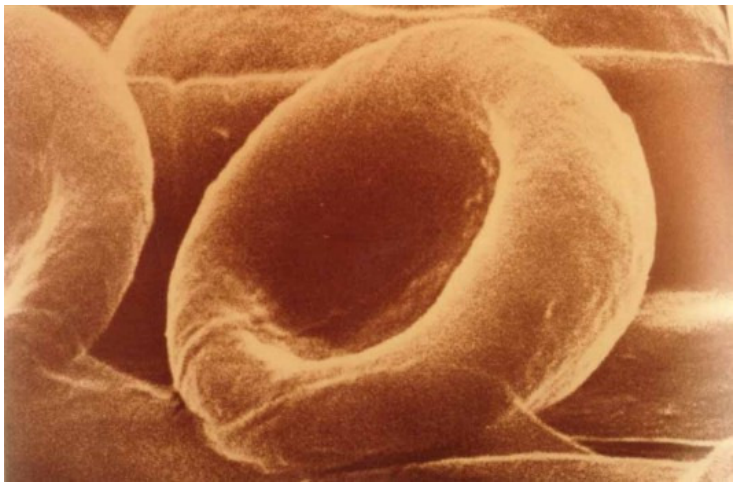

Figura 2.8. Microscopia eletrônica de varredura de eritrócito normal.

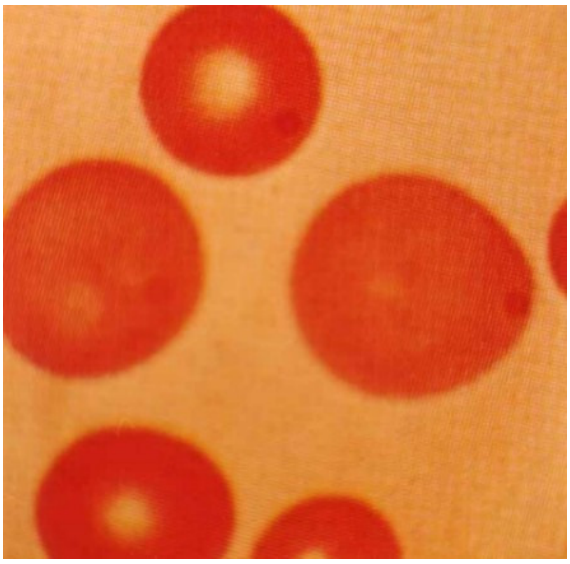

Figura 2.9. Microscopia óptica de sangue periférico mostrando eritrócitos normais.

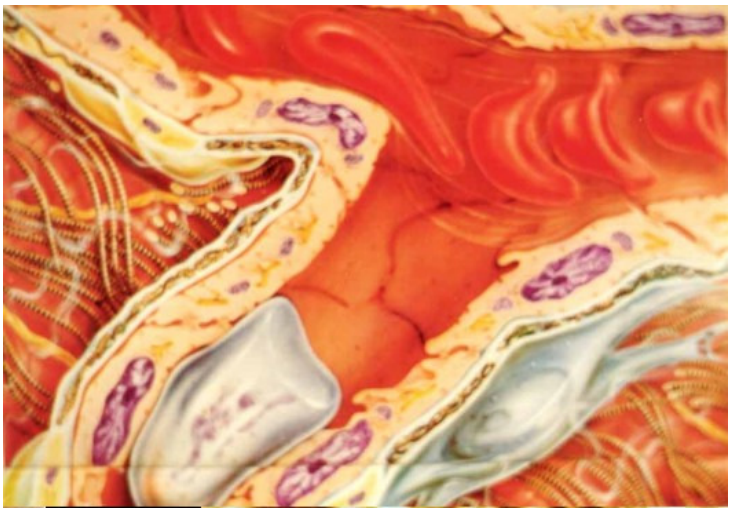

Figura 2.11. Deformabilidade de eritrócitos na circulação vascular.

Os eritrócitos são transportados no espaço intravascular pela força do coração e pelas "bombas" dos músculos somáticos. Quando a parede vascular sofre alguma lesão, os eritrócitos podem passar para o espaço extracelular das cavidades do corpo, ou ser levados ao meio exterior através da pele, ou dos sistemas gastrointestinal, respiratório e urinário. A função principal dos eritrócitos é o transporte de oxigênio dos pulmões para as células do organismo, e do dióxido de carbono no sentido inverso. Na circulação do sangue periférico atuam cerca de 25 bilhões de eritrócitos e, por dia, são retirados da circulação aproximadamente 1 bilhão dessas células.

Os eritrócitos normais vivem em média 120 dias, e, à medida que envelhecem, as enzimas da glicólise diminuem suas atividades. O envelhecimento se manifesta pelo aumento da densidade, da fragilidade osmótica e da aglutinabilidade. É certo que uma pequena parte dos eritrócitos se decompõe por lise na circulação, entretanto a destruição efetiva ocorre no sistema reticuloendotelial, onde os macrófagos exercem a fagocitose (**figura 2.12**). Esse processo acontece essencialmente na medula óssea, enquanto em situações patológicas, por exemplo eritrócitos deformados pela presença de corpos de Heinz, ou globinas despareadas nas talassemias, a fagocitose ocorre no sistema reticuloendotelial do fígado e baço, e nas células macrofágicas da circulação sangüínea. Após a fagocitose, a globina se dissocia em aminoácidos, a protoporfirina, proveniente da degradação do grupo heme, se transforma em bilirrubina livre, e o ferro se combina com o apoferritina da célula reticular. Os aminoácidos e o ferro, provenients da decomposição da hemoglobina, são novamente utilizados pelos eritroblastos para a síntese de novas moléculas.

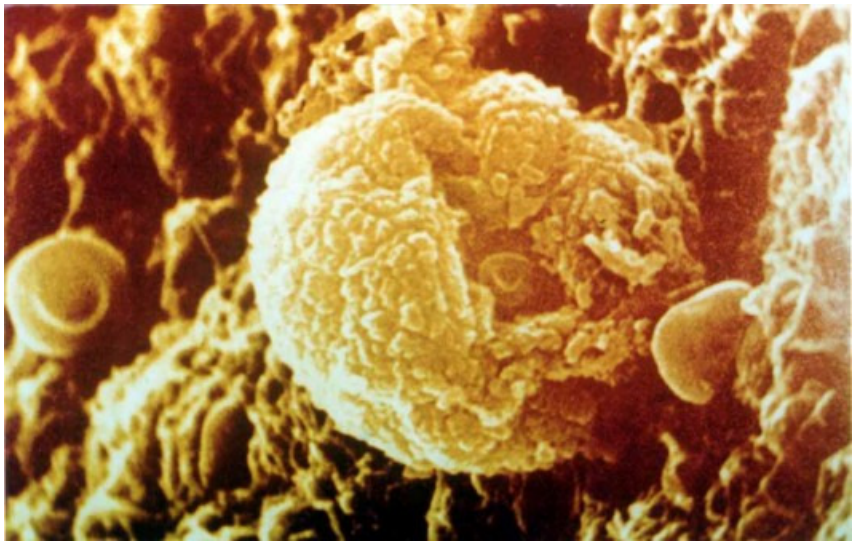

Figura 2.12. Microscopia eletrônica mostrando macrófago do sistema retículo endotelial fagocitando eritrócito.

Principais Componentes dos Eritrócitos

Os Fatores Mais Importantes da Eritropoiese

Eritropoietina

A eritropoietina é um hormônio produzido nos rins. Estruturalmente é uma glicoproteína formada por uma simples cadeia polipeptídica constituída por 165 aminoácidos, dos quais três deles estão ligados a carboidratos cuja glicolização ocorre no nitrogênio do grupo amina, e um outro tem a glicolização no grupo carboxila. Dessa associação resulta que 60% da eritropoietina é composta por proteína e 40% por carboidrato, proporcionando um peso molecular de 30.000 daltons.

A síntese da eritropoietina ocorre no gene EPO localizado no braço longo do cromossomo 7, nas células peritubulares intersticiais dos rins. O estímulo para que o gene EPO inicie a produção de eritropoietina está relacionado com a pressão do oxigênio renal (pO_2 renal). Quando a pO_2 renal diminui, por ex.: devido à anemia, o gene EPO é estimulado a sintetizar a eritropoietina. Por outro lado, quando a pO_2 renal se normaliza, a síntese desse hormônio diminui aos níveis aceitáveis.

Normalmente, somente quantidades muito pequenas, ou picomolecular, estão presentes no sangue. Por avaliação de técnicas de radioimunoensaio, o nível basal de eritropoietina no plasma varia de 9 a 26 um/ml. A elevação da síntese de eritropoietina ocorre poucas horas após a queda do pO_2 renal causada por anemia ou por hipoxia renal, observando que a elevação da síntese de EPO está diretamente relacionada com a queda da pO_2 renal.

A eritropoietina estimula concomitantemente as células tronco (Unidade Formadora de Blastos Eritróides, ou BFU-E, e Unidade Formadora de Colônias Eritróides, ou CFU-E) para aumentar o número de células precursoras eritróides (proeritroblastos, eritroblastos e reticulócitos), e eventualmente, o número de eritrócitos circulantes. O hormônio EPO se liga a receptores específicos de superfície das células tronco, que é rapidamente introduzido nas células e degradado, a seguir. Esse processo resulta na elevação do íon cálcio no interior dessas células que desencadeia o processo de transcrição do RNAm de várias proteínas eritróides, incluindo a globina. O aumento da síntese de DNA nas células tronco estimuladas pela eritropoietina ocorre entre 20 e 40 horas. Juntamente com esse processo de estimulação da eritropoietina outros fatores também são necessários, p.ex.: ferro, folatos e aminoácidos, para o completo desenvolvimento da eritropoiese (**figura 3.1**).

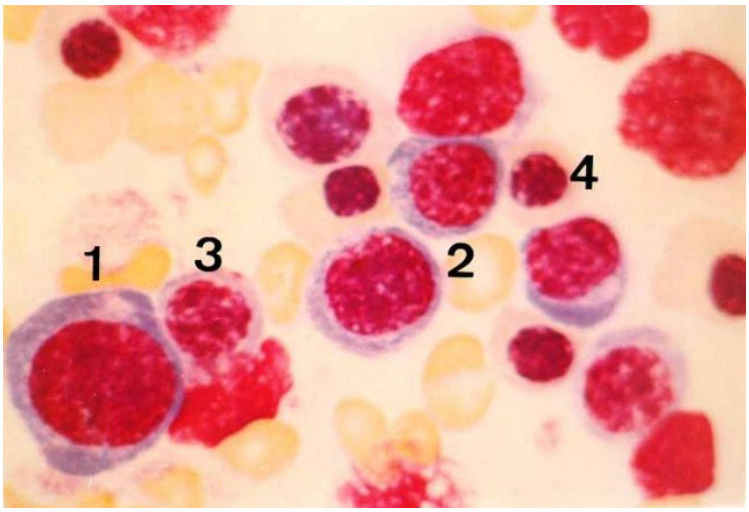

Figura 3.1. Eritropoiese na medula óssea: 1. Proeritroblasto; 2. Eritroblasto basófilo; 3: Eritroblasto policromático; 4. Eritroblasto ortocromático.

O Ferro e seu Metabolismo

O metabolismo do ferro é caracterizado por uma obtenção externa de forma limitada e uma reutilização eficaz, proveniente de fontes internas que o armazenam. Normalmente cerca de 66% do ferro total do corpo (2.000 a 2.500 mg) está ligado à hemoglobina circulante; 30% (800 a 1.500 mg) em órgãos e células que estocam o ferro, e 3 a 5% na mioglobina. Traços de ferro são encontrados em determinadas enzimas. Somente perto de 3 mg estão ligados à transferrina na circulação, mas esta quantidade é substituída ou perdida várias vezes ao dia. O ferro é absorvido através da mucosa do jejuno em uma fase rápida, que se inicia segundos após ter alcançado as células mucosas das vilosidades intestinais, e atinge o pico entre 30 e 60 minutos. Esta fase rápida é seguida por uma outra lenta que demora 24 horas, em média. O ferro, após passar pelas células, é liberado para a circulação, onde se liga à transferrina. Em pessoas saudáveis, cerca de 1,0 mg de ferro é absorvido dos alimentos diariamente. No período menstrual esta quantidade é cerca de 2,0 mg, enquanto na deficiência de ferro, a requisição é de quatro a seis vezes maior. Quando há sobrecarga de ferro no organismo, ocorre a diminuição de sua absorção. O estoque de ferro no corpo está compreendido principalmente pela ferritina.

A alimentação humana pode fornecer diariamente de 10 a 15 mg de ferro para o indivíduo adulto de países desenvolvidos. Entretanto, o conteúdo de ferro dos alimentos é muito variável, conforme mostra a **tabela 3.1**.

Tabela 3.1. Conteúdo de ferro em mg% nos principais alimentos consumidos.

Tipo de Alimento	Ferro (mg%)
Açúcar e doces	0
Leite, queijos, coalhadas	0,1 – 0,2
Frutas	0,1 – 0,5
Arroz, massas, pães	0,5 – 1,5

Batatas	0,5 – 1,0
Legumes e verduras	0,5 – 1,5
Ovos	2,0 – 3,0
Carnes magras	1,5 – 3,0
Feijões, favas, lentilhas	4,0 – 8,0

O baixo conteúdo de ferro no açúcar e no leite explica a ocorrência freqüente de deficiência de ferro em lactantes, idosos e em algumas populações com alimentação desequilibrada. Por outra parte, as bebidas alcoólicas em geral contêm quantidades variáveis e elevadas de ferro, cuja média é da ordem de 10 mg por litro, fato que pode explicar, em parte, a freqüência de hemocromatose na cirrose alcoólica.

A avaliação quantitativa de ferro pode ser obtida pela medida de ferro sérico saturado, da capacidade de ligação do ferro e da concentração de ferritina sérica. A **tabela 3.2**apresenta os valores normais da quantidade de ferro sérico e capacidade de ligação, em três unidades diferentes.

Tabela 3.2. Valores de ferro sérico e capacidade de ligação em pessoas saudáveis, utilizando três unidades diferentes.

	mg/litro	**mmol/litro**	**mg/dl**
Ferro sérico	0,7 – 1,8	13 – 32	70 – 180
Capacidade de ligação	2,5 – 4,0	45 – 70	250 – 400

Os valores de ferro sérico estão diminuídos na anemia, por deficiência de ferro, nas infecções crônicas e nas hipoproteinemias; e estão elevados na hemocromatose, na anemia hemolítica, após múltiplas transfusões e, freqüentemente, na anemia perniciosa.

A capacidade de ligação do ferro está aumentada na anemia por deficiência de ferro e na gravidez, diminuída das infecções crônicas e hipoproteinemias, e totalmente saturada com ferro na hemocromatose.

O nível de ferritina sérica reflete o ferro armazenado no organismo, indicando, em geral, que para cada micrograma de ferritina há 8 miligramas de ferro estocado. Os valores normais diferem entre populações, idade e sexo. No Brasil aceitam-se os valores expostos na **tabela 3.3**.

Tabela 3.3. Valores de ferritina em diferentes faixas etárias, em homens e mulheres, expressos em mg/ml.

Recém-nascidos	25 – 200
Crianças de até 1 mês	200 – 600
Crianças de 2 a 5 anos	50 – 200
Crianças de 6 a 15 anos	7 – 140
Homens acima de 15 anos	15 – 200
Mulheres acima de 15 anos	12 – 150

O nível de ferritina está diminuído na deficiência de ferro e elevado em pacientes com sobrecarga de ferro causada por hemocromatose primária e secundária, esta última devido principalmente aos processos hipertransfusionais como ocorre na talassemia beta maior. O aumento da ferritina sérica pode ocorrer também nas doenças hepáticas, nas doenças malignas e nas infecções.

Ácido Fólico e Vitamina B12

Duas vitaminas, o ácido fólico e a vitamina B12 são necessários para dar suporte ao processo de proliferação e maturação das células eritroblásticas. Ambas devem estar presentes em quantidades adequadas para as sínteses normais de metionina e timidalatos, elementos necessários para a replicação normal de DNA e da divisão seqüencial das células. A forma natural de folatos – metiltetrahidrofolato – encontra-se na maioria dos alimentos, e atua como doador de **metil** para a formação de metil B12. O grupo metil é então transferido para homocisteína para formar metionina, um aminoácido essencial para o metabolismo protéico. Uma suplementação inadequada de metiltetrahidrofolato desarranja tanto a formação de metil B12 quanto as etapas do metabolismo de folatos. Os níveis intracelulares de metil B12 e uma coenzima ativa – a deoxiadenosil B12 – podem diminuir quando há deficiência de vitamina B12. O impacto principal das deficiências de vitamina B12 e folatos é a insuficiência dos grupos metil em atuar na transformação de metiltetrahidrofolato para tetrahidrofolato, e conseqüentemente diminui a síntese de DNA e a reprodução celular. Assim, as deficiências de folatos e vitamina B12 afetam profundamente o processo de maturação dos precursores eritrocitários (**figura 3.2**). As células se tornam grandes, o núcleo, imaturo (**figura 3.3**), a mitose é interrompida, e os eritroblastos ortocromáticos sofrem destruições precoces. A morte dessas células eritroblásticas durante o desenvolvimento é denominada por **eritropoiese inefetiva**.

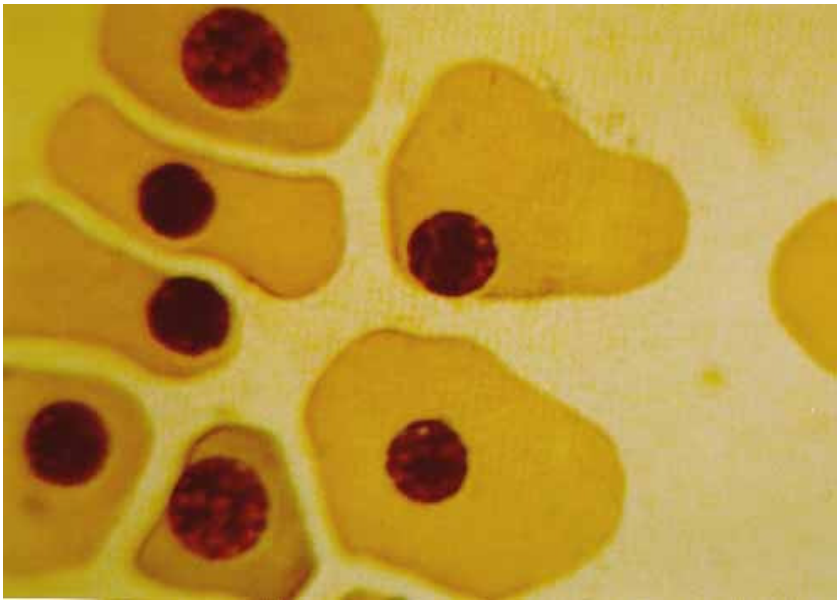

Figura 3.2. Deformações nos eritroblastos ortocromáticos na deficiência de vitamina B12 e folatos. Observar a desproporção entre citoplasma e núcleos, o tamanho da célula e a morfologia anormal.

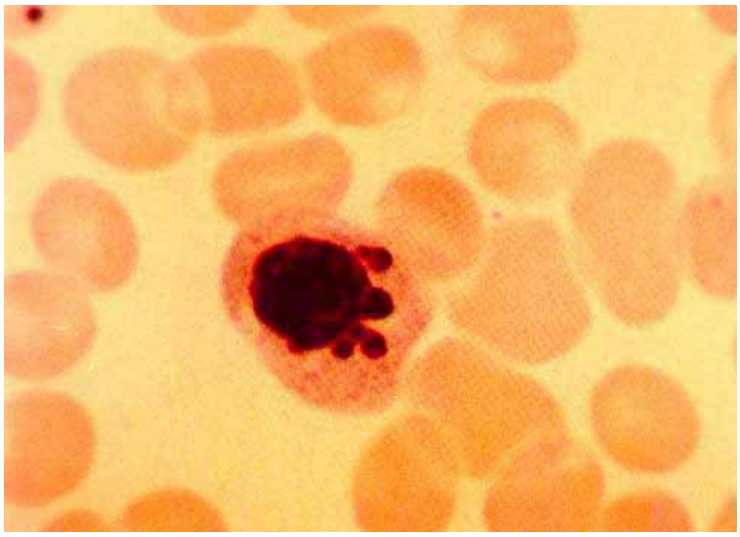

Figura 3.3. Deformação nuclear e maturação alterada na deficiência de vitamina B12 e folatos.

Mecanismos Envolvidos na Regulação da Absorção do Ferro

Autor: Rodolfo Cançado

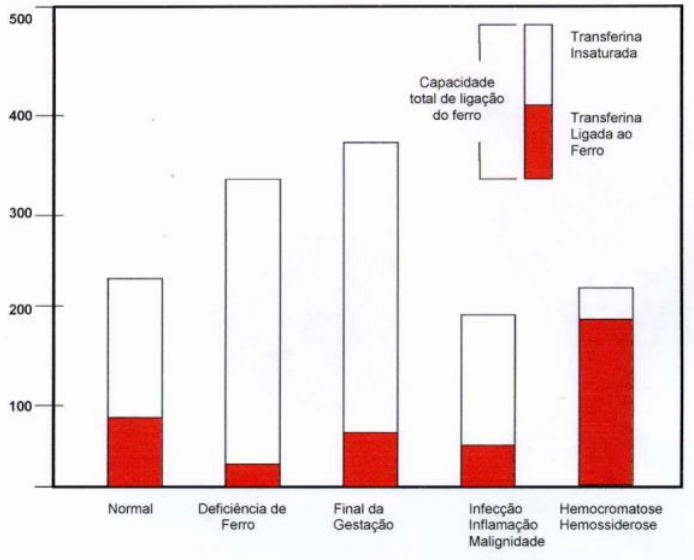

Figura 3.1.a. Capacidade de ligação do ferro esquematizada em situações normal e patológica, relacionando a transferrina insaturada e transferrina ligada ao ferro.

No interior das células, a síntese da ferritina e do receptor da transferrina é regulada por proteínas citoplasmáticas ligadas ao ácido ribonucléico mensageiro (RNAm), atualmente identificadas como proteínas reguladoras de ferro (IRPs – *iron regulatory proteins*), IRP1 e IRP2. Toas as células do organismo contêm RNAm para ambas as proteínas reguladoras do ferro, embora a IRP1 seja mais abundante dessas duas proteínas.

As IRPs regulam a entrada e o armazenamento do ferro no interior das células através do controle do processo de tradução da síntese do receptor da transferrina e de ferritina.

O controle da expressão dos genes envolvidos no metabolismo do ferro é realizado através da ligação das IRPs em estruturas específicas do RNAm, denominadas elementos responsivos ao ferro (IREs – *iron-responsive elements*). Cinco IREs estão presentes na posição 3' da região não-traduzida do RNAm do receptor da transferrina, enquanto que uma única IRE está presente na posição 5' do RNAm da ferritina.

A síntese dos receptores da transferrina é regulada através do controle da estabilidade do RNAm do receptor da transferrina citoplasmática. Quando diminui a concentração do ferro intracelular, as IRPs ligam-se às IREs na posição 3' do RNAm dos receptores da transferrina. Essas ligações aumentam a estabilidade do RNAm e, por sua vez, diminuem sua degradação citoplasmática. Por conseguinte, o nível de RNAm do receptor da transferrina citoplasmática aumenta, a taxa da síntese do receptor da transferrina eleva-se e o número de receptores da transferrina na superfície celular aumenta, proporcionando maior absorção do ferro.

A síntese de ferritina é regulada através do controle da tradução do RNAm de ferritina sem alterar a quantidade citoplasmática de RNAm da ferritina. Quando uma IRP liga-se à única IRE na posição 5' do RNAm da ferritina, há diminuição do processo de tradução do RNAm e, conseqüentemente, também diminuem a síntese de ferritina e o armazenamento do ferro intracelular, aumentando a disponibilidade de ferro na célula.

Cinética Interna do Ferro

O complexo ferro-transferrina, ligado ao receptor, entra na célula por endocitose. O influxo de íons hidrogênio ao endossomo, através da bomba de próton, diminui o pH ácido da vesícula endocitótica. O ferro é liberado, continuando, porém, a apotransferrina ligada ao receptor. O complexo transferrina-receptor, livre do ferro, retorna à superfície celular, onde, na presença de pH neutro, a transferrina separa-se do receptor e retorna ao plasma para novo ciclo.

A mobilização do ferro da ferritina requer a ação de agentes quelantes e redutores como ácido ascórbico, glutation e cisteína, que penetram no interior da molécula através dos canais da ferritina, atingindo o seu núcleo onde reduzem o ferro para sua forma ferrosa.

O ferro liberado ou assume suas funções metabólicas, ou agrega-se em grumos. Esses grumos coalescem num aglomerado dentro dos lisossomos, recebendo a denominação de homossiderina.

O estudo da ferrocinética, utilizando o ferro marcado com substância radioativa (Fe^{59}) e ligado à transferrina, permite avaliar o ferro de transporte (plasmático), o ferro de armazenamento e o ferro que é incorporado no interior dos eritrócitos. Além disso, permite determinar a vida média dos eritrócitos, o local de produção e de destruição dos mesmos.

A maior parte do ferro plasmático destina-se à medula óssea, sendo que 80% do ferro liga-se ao heme e passa a fazer parte da hemoglobina como ferro funcional, e os 20% ligado à transferrina é captado pelas células do sistema mononuclear fagocitário, principalmente do fígado e do baço, onde permanece como ferro de depósito sob a forma de ferritina e/ou hemossiderina.

Armazenamento do Ferro

O ferro pode armazenar-se, no organismo, sob a forma de ferritina ou de hemossiderina nas células do sistema mononuclear fagocitário (da medula óssea, do baço e do fígado), no parênquima hepático e no músculo esquelético.

A capacidade do organismo de armazenar o ferro serve a duas finalidades: prover uma reserva interna, que possa ser mobilizada quando a necessidade de ferro exceder a oferecida pela dieta; e proteger o organismo dos efeitos tóxicos do ferro livre quando a quantidade de ferro absorvida exceder as quantidades perdidas e as necessárias para a síntese de compostos funcionais de ferro.

Fisiologicamente, o organismo humano é capaz de aumentar muito pouco a eliminação de ferro e, portanto, o aumento progressivo do aporte de ferro seja por via gastrointestinal, seja por via parenteral, através de transfusões sangüíneas, leva impreterivelmente a uma condição anormal de sobrecarga de ferro.

Aproximadamente 25% do ferro do organismo de um adulto normal está presente sob a forma de armazenamento. Cerca de dois terços sob a forma de ferritina e o restante sob a forma de hemossiderina. Porém, em condições anormais de acúmulo de ferro no organismo, o armazenamento do ferro se dá principalmente sob a forma de hemossiderina.

O ferro armazenado nas células do sistema mononuclear fagocitário tem uma capacidade de troca mais dinâmica que em outros sítios. Esse fato determina que o sistema mononuclear fagocitário desempenhe, além de importante local de depósito, papel fundamental na cinética interna do ferro.

Fatores Relacionados à Deficiência de Ferro

A dependência crítica do organismo humano pelo ferro fez com que os organismos superiores desenvolvessem, durante o processo de evolução natural, mecanismos elaborados que permitissem absorção eficiente, transporte, distribuição, armazenamento e conservação do ferro no organismo. Distúrbios em quaisquer desses mecanismos podem resultar em deficiência ou acúmulo de ferro no organismo.

A causa básica da diminuição dos estoques de ferro é o desequilíbrio entre quantidade absorvida e consumo e/ou perdas, que ocorrem por diversas vias, resultando no esgotamento das reservas de ferro do organismo.

Isso pode ocorrer devido a diversos fatores, tais como: necessidade aumentada de ferro (fatores fisiológicos: crescimento, menstruação, gestação); diminuição da oferta ou da absorção do ferro (fatores nutricionais: baixa quantidade e/ou biodisponibilidade do ferro da dieta, doenças inflamatórias crônicas intestinais, gastrectomia); ou perdas de ferro (fatores patológicos; perda de sangue, principalmente pelo trato gastrointestinal e genital, verminoses, doação de sangue).

Na prática, a deficiência de ferro, geralmente resulta da combinação de dois ou mais fatores que levam à diminuição gradual do estoque de ferro do organismo.

Crianças e mulheres em idade fértil constituem os principais grupos de risco para o desenvolvimento da deficiência de ferro.

Na infância, o estoque de ferro é precário devido ao crescimento rápido com grande expansão da massa celular e à pouca quantidade de ferro no leite natural.

Após a adolescência, as mulheres podem apresentar uma diminuição gradual do estoque de ferro e evoluir com diferentes graus da deficiência de ferro devido às perdas sangüíneas menstruais e ao consumo de ferro na gravidez.

Nas mulheres em idade fértil, a necessidade diária de ferro é de 2 a 3 mg/dia, ou mais, devido à perda menstrual. Durante a gestação, apesar de normalmente cessarem as perdas sangüíneas

referentes à menstruação, a necessidade diária de ferro aumenta para cerca de 5 mg durante o segundo e o terceiro trimestre devido à expansão do volume materno e fetal.

Entretanto, estima-se que pelo menos 10% das mulheres apresentam perdas sangüíneas menstruais mais intensas (mais de 80 ml por ciclo menstrual) e a necessidade diária de ferro é significativamente maior, variando entre 2 e 4 mg.

A perda menstrual associada ao número de gestações, à amamentação e ao método de anticoncepção utilizado, são fatores importantes relacionados à maior incidência de deficiência de ferro e de anemia ferropriva entre as mulheres quando comparado às incidências nos homens.

O organismo humano normalmente não é capaz de aumentar a excreção de ferro, mesmo em condições de sobrecarga de ferro. Portanto, somente quando se perde sangue é que quantidades significativas deste metal são eliminadas pelo organismo. Cada grama de hemoglobina contém cerca de 3,4 mg de ferro e, na prática, pode-se estimar que 2 ml de sangue contém cerca de 1 mg de ferro.

Como a necessidade diária de um indivíduo adulto normal é muito pequena, levariam vários anos para que um adulto do sexo masculino ou mulheres na pós-menopausa com reservas normais de ferro desenvolvessem anemia ferropriva por ingestão insuficiente de ferro.

Portanto, o achado da deficiência de ferro nesses indivíduos não deve ser atribuído apenas à dieta inadequada, requerendo, portanto, uma avaliação criteriosa do paciente no sentido de investigar possíveis perdas anormais de sangue particularmente pelo trato gastrointestinal.

Sobrecarga de Ferro

Uma pessoa adulta normal para conteúdo de ferro tem armazenado cerca de 3 g de ferro no organismo, distribuídos nos eritrócitos (2 g) e sob forma de moléculas de ferritina (1 g). Define-se como sobrecarga de ferro quando a ferritina acumulada ultrapassa 1 g. Os valores elevados de ferritina são muito variáveis, podendo chegar até 5 g em casos específicos, por exemplo, talassemia beta maior, devido à excessiva reposição transfusional de eritrócitos. Quando ocorre sobrecarga de ferro, é importante a intervenção médica dirigida ao uso de quelantes – drogas que se ligam ao ferro, cujo complexo é expelido pela urina.

As principais conseqüências da sobrecarga de ferro são duas: **hemocromatose** e **hemossiderose**. Na hemocromatose, o excesso de ferro impregna-se nos tecidos, causando lesões teciduais, e se armazenam em grande quantidade nos macrófagos alterando-lhes suas funções. Na hemossiderose ocorre a deposição de ferro nos tecidos sem causar lesões, nos precursores eritrocitários (eritroblastos), nos eritrócitos, bem como também se armazenam nos macrófagos.

As causas mais comuns de sobrecarga de ferro são de origem **genética** ou **adquirida**. As de origem genética são subdivididas em dois grupos:

a. hemocromatose hereditária, autossômica e recessiva;
b. anemias refratárias causadas por:

   b1. talassemia beta maior;

   b2. anemia sideroblástica;

   b3. anemia hemolítica congênita (ex.: esferocitose).

As de origem adquiridas são também anemias refratárias devido a:

a. aplasia medular, com transfusões sangüíneas;
b. ingestão cr6onica de ferro, principalmente complexos vitamínicos contendo ferro;
c. transfusão excessiva de eritrócitos.

As conseqüências mais freqüentes de hemocromatose são diabete, artrite, insuficiência cardíaca congestiva, impotência sexual, cirrose hepática e hepatoma.

A avaliação laboratorial da sobrecarga de ferro mostra o seguinte:

a. **ferritina sérica**: elevada;
b. **saturação da transferrina** > 62%: indica homozigose na hemocromatose hereditária (valor normal: 20 a 35%).

A Hemoglobina

Estrutura Molecular e Função

A hemoglobina (Hb) é uma proteína globular e sua principal função é o transporte de oxigênio. Quimicamente é composta pela combinação de uma proteína, a **globina**, e um grupo tetrapirrólico, **o heme** (**figura 3.4**). A globina consiste na combinação de dois pares diferentes de cadeias polipeptídicas (a_2b_2, a_2d_2 e a_2g_2) que caracterizam as três hemoglobinas normais, as HbA, HbA_2 e Hb Fetal, respectivamente. As cadeias polipeptídicas alfa, ou globina alfa, são formadas por 141 aminoácidos cada, enquanto as globinas beta, delta e gama têm 146 aminoácidos cada uma. Desta forma, os tetrâmeros a_2b_2, a_2d_2 e a_2g_2 têm 574 aminoácidos cada (**figura 3.5**). O heme, por sua vez, é um complexo formado por um átomo de ferro situado no interior da estrutura porfirínica. Esta estrutura é protegida por aminoácidos circundantes que envolvem o grupo heme, protegendo-o da água. Esta proteção garante a estabilidade do ferro no estado ferroso (Fe^{++}), permitindo-o que se ligue com o átomo de oxigênio.

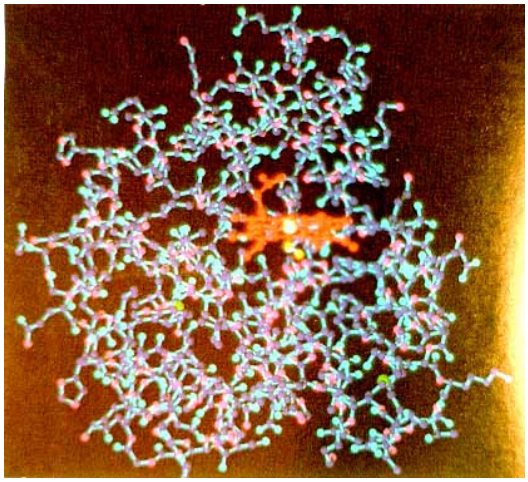

Figura 3.4. Modelo espacial da globina beta ligada com o grupo heme (estrutura vermelha no centro da globina). Observar os aminoácidos periféricos que fazem parte da superfície externa da globina, e estabelecem contato com o meio aquoso circundante.

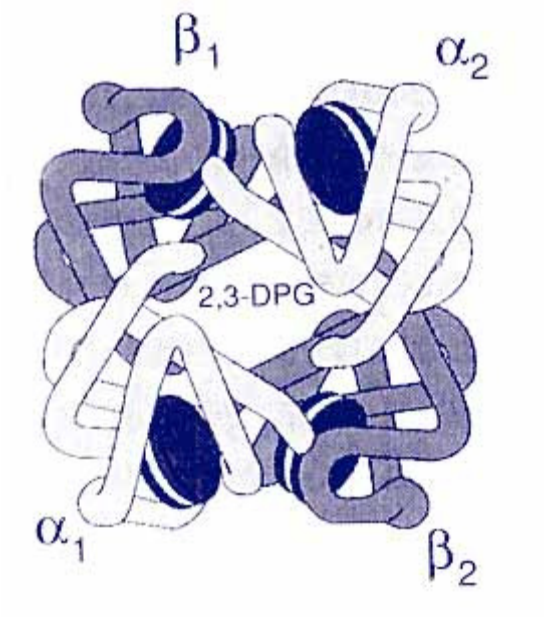

Figura 3.5. Esquema da estrutura tetramerizada (duas globinas alfa identificadas por (a1 e a2 e duas globinas beta: b1 e b2) da molélula da HbA (a2b2). A identificação das globinas alfa e beta em a1, a2, b1 e b2 é importante para o entendimento dos contatos de estabilização (a1b1 e a2b2) e de oxigenação(a1ab2 e a2b1).

A estabilidade da molécula de Hb é dependente do arranjo estrutural do tetrâmero das duas globinas alfa (a_2) e das duas globinas beta (b_2), ou delta (d_2), ou gama (g_2). Em resumo, o tetrâmero que compõe a molécula da Hb A é representado como a_2b_2, da HbA_2 (a_2d_2), e da Hb Fetal (a_2g_2). Cerca de 75% de cada um dos tetrâmeros tem estrutura química em forma helicoidal e com várias dobraduras (**figura 3.6**). Os 25% da molécula tetramérica das hemoglobinas apresenta-se como estruturas peptídicas não dobradas e seus aminoácidos, por estarem na parte externa da molécula, estabelecem contato com o meio aquoso circundante. Com o auxílio de técnicas de cristalografia molecular em raio X, foi possível conhecer a estrutura espacial da HbA e sua disposição intermolecular efetuada por contatos entre as globinas a e b (**figura 3.5**). Assim, a função da hemoglobina como receptora e transportadora de oxigênio está associada aos movimentos de suas subunidades. Os contatos entre as globinas a_1b_1 (ou a_2b_2) dispostos espacialmente na **vertical** (**figura 3.5**) são muitos extensos e envolvem 34 aminoácidos, e dão **estabilidade** à molécula. Por outro lado, os contatos a_1b_2 (ou a_2b_1) dispostos espacialmente na **horizontal** (**figura 3.5**) são menos extensos e envolvem 19 aminoácidos, e por isso permitem a mobilidade das globinas b e o deslocamento da molécula de 2,3 DPG (2,3 difosfoglicerato) e a **oxigenação** da molécula. Os contatos a_1a_2 ocorrem somente na forma desoxigenada (desoxi-Hb) e tem importância na interação entre os 4 grupos heme, no efeito Bohr, e no transporte de CO_2. Os contatos b_1b_2 ocorrem nas formas oxi-Hb e desoxi-Hb, e quando estão na fase desoxi-Hb participam da fixação da molécula de 2,3 DPG no tetrâmero (**figura 3.5**).

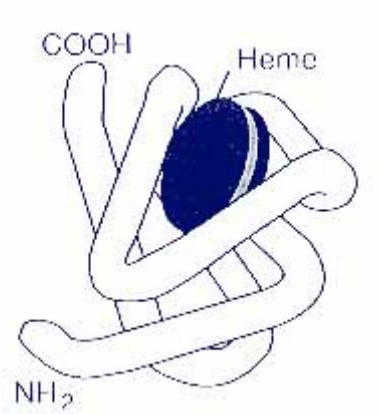

Figura 3.6. A globina, com suas dobraduras, e a inserção do grupo heme.

O transporte de oxigênio pela hemoglobina está baseado na capacidade de seus átomos de ferro combinarem reversivelmente com o oxigênio molecular, bem como pela eficiência do seu carreamento pelos eritrócitos aos tecidos e órgãos. A liberação de oxigênio ocorre nos pequenos vasos arteriais, com distribuição a diferentes células e tecidos (**figura 3.7**).

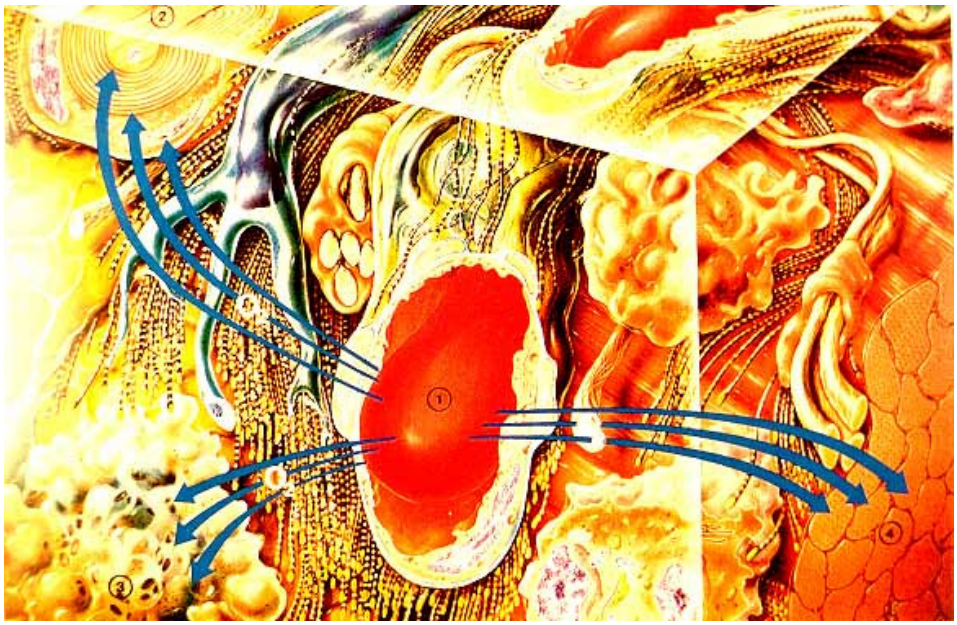

Figura 3.7. Esquema da distribuição do oxigênio pelo eritrócito nos pequenos vasos arteriais. (1) eritrócitos, (2) nervo periférico com bainha de mielina, (3) macrófago, (4) músculo estriado.

A Síntese das Globinas

As globinas podem ser identificadas em **tipo-alfa** e **tipo-beta**. As globinas tipo-alfa são sintetizadas por um grupo de genes interligados (**genes tipo-alfa**) localizados no braço curto do cromossomo 16. As globinas tipo-beta são sintetizadas por um grupo de genes interligados (**genes tipo-beta**) localizados no braço curto do cromossomo 11.

Os **genes tipo-alfa** incluem dois genes alfa, separados um do outro por 3.000 pares de bases nitrogenadas, e denominados a_1 e a_2, que permanecem em atividade durante toda a vida do indivíduo. Os outros genes desse agrupamento são os genes zeta (z_2) que atua somente na fase embrionária, três pseudo-genes (yz_2, ya_2, ya_1) (**figura 3.8**) e um gene com função não muito bem definida, o gene teta (q_1), Esse agrupamento de genes engloba uma extensão de aproximadamente 30.000 pares de bases nitrogenadas. Os pseudo-genes (y) são genes que têm seqüência homóloga aos genes estruturais ativos, porém contêm mutações que inibem sua expressão.

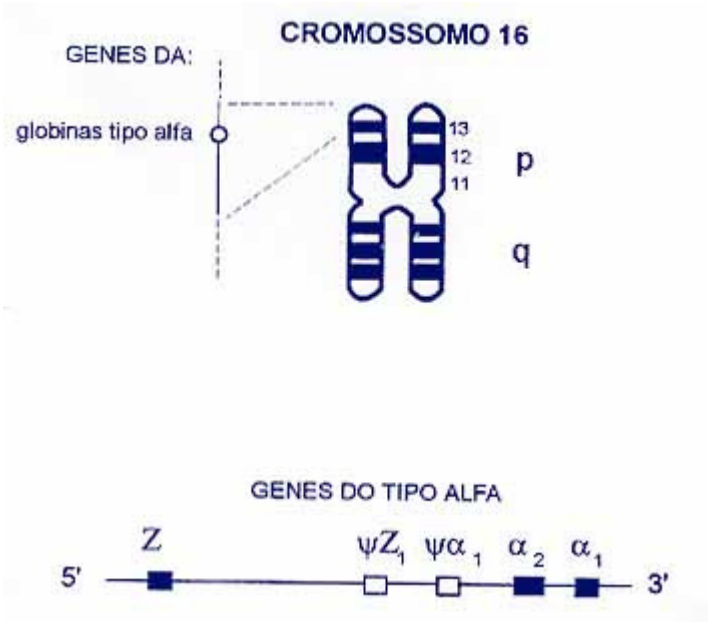

Figura 3.8. Agrupamento de genes tipo alfa.

Os **genes do tipo-beta** são mais abrangentes e heterogêneos do que os do tipo alfa, pois envolve a síntese das globinas beta, delta, gama e epsilon. Esse grupo de genes está localizado no braço curto do cromossomo 11 (**figura 3.9**), e é composto no total por mais de 60 mil pares de bases nitrogenadas. O gene epsilon (e) é expresso na fase embrionária, enquanto que os genes gama-alanina(g^A) e gama-glicina (g^G) são característicos da fase fetal. Os genes delta (d) e beta (b) são atuantes a partir de uma fase do período fetal e se expressam por toda a vida após o nascimento.

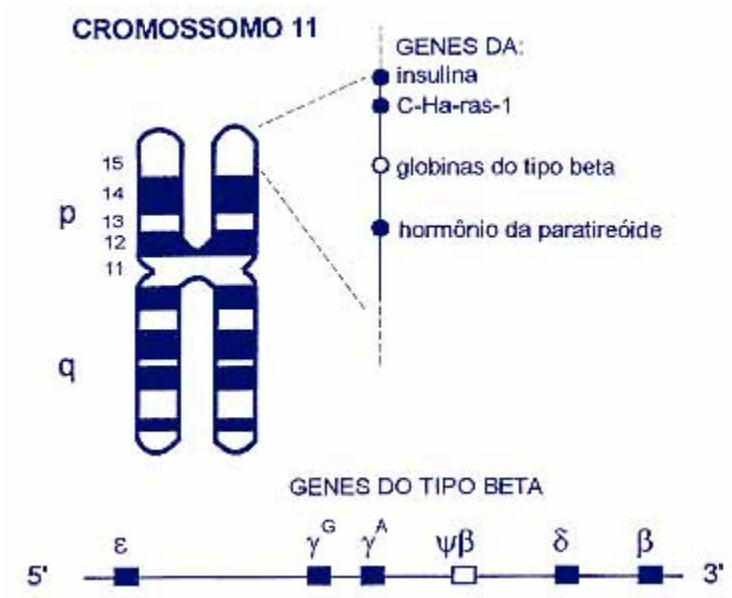

Figura 3.9. Agrupamento de genes tipo beta.

A molécula de hemoglobina é formada por notável sintonia entre as sínteses de globinas alfa, beta e gama, juntamente com o grupo heme, a partir do eritroblasto basófilo. A concentração da hemoglobina aumenta proporcionalmente à medida que os eritroblastos se desenvolvem e amadurecem, e continua até a fase de reticulócitos. A síntese das milhões de moléculas de hemoglobinas que se formam em cada uma dessas células se caracterizam pelo equilíbrio entre as globinas alfa e não-alfa (beta, delta e gama), cuja estabilização ocorre após o sexto mês de vida (**figura 3.10**). As concentrações dessas hemoglobinas podem ser avaliadas eletroforeticamente (**figura 3.11**).

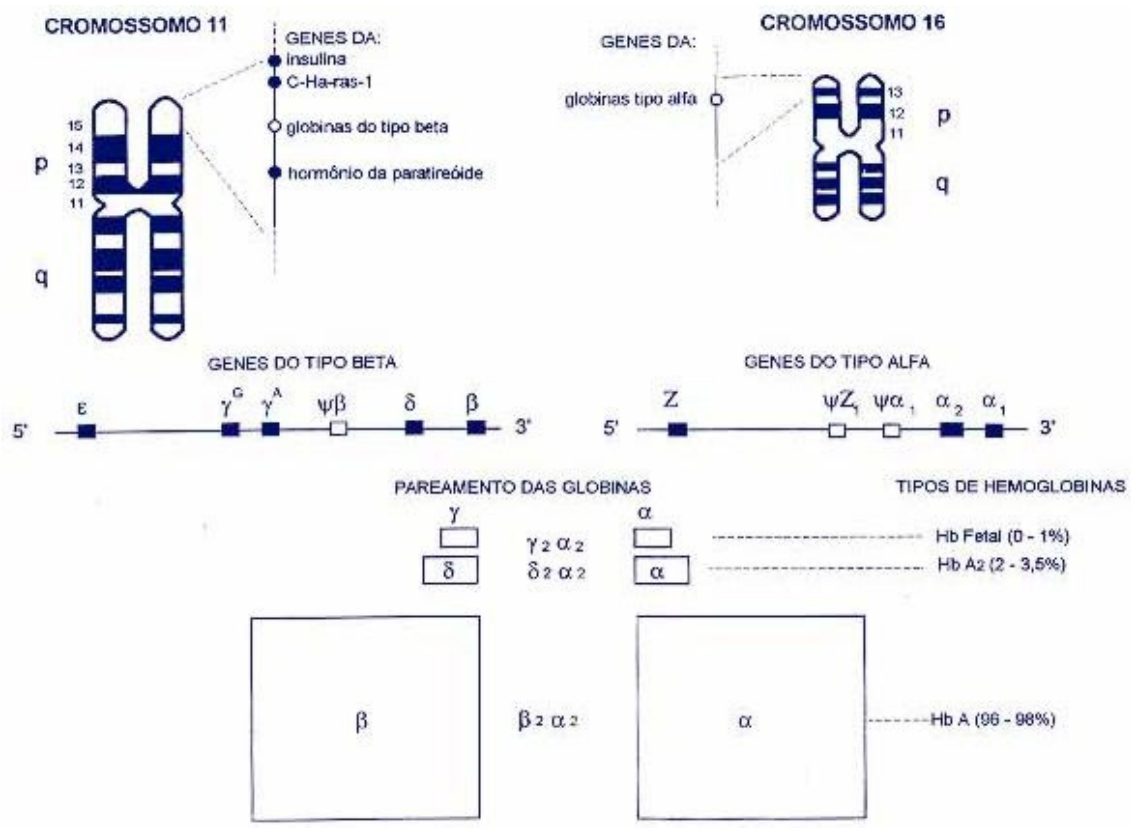

Figura 3.10. Esquema da síntese equilibrada das globinas alfa e não-alfa (beta, gama e delta) após o sexto mês de vida.

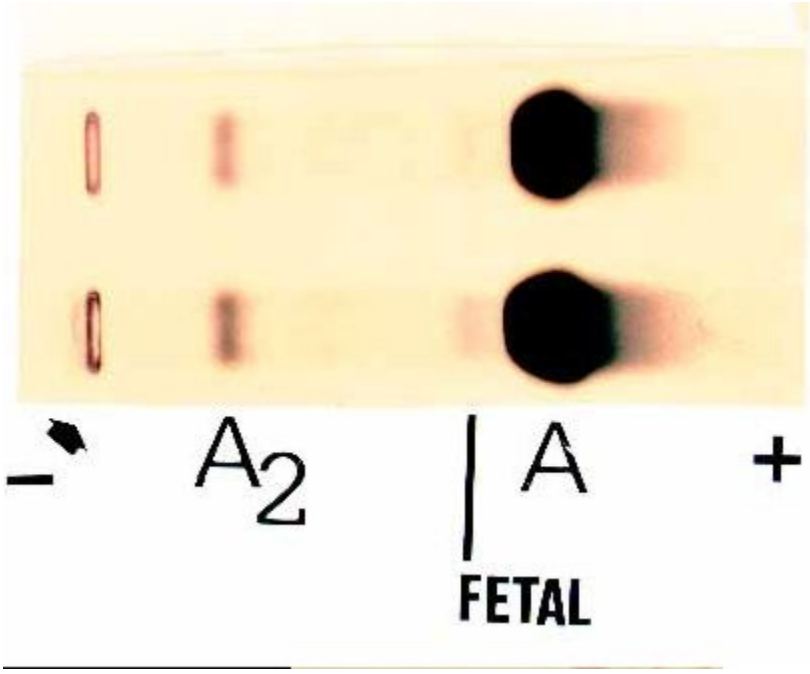

Figura 3.11. Eletroforese de hemoglobinas normais.

A Síntese do Grupo Heme

O heme é formado por quatro núcleos pirrólicos, que estão unidos entre si por radicais metanílicos ·CH. Um átomo de ferro está unido por quatro valências aos quatro átomos de nitrogênio da protoporfirina (**figura 3.12**).

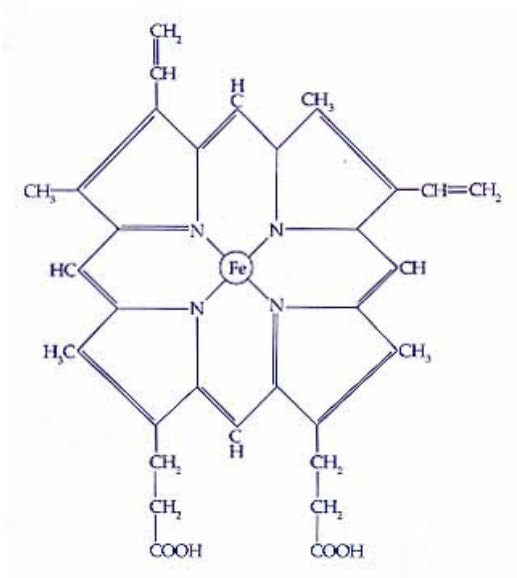

Figura 3.12. Grupo heme. O ferro na molécula porfirínica.

A biossíntese do heme tem como início um metabolismo do ciclo de Krebs, a succinil coenzima A, e um aminoácido (glicina). Esses dois substratos se combinam por uma reação catalisada através da enzima mitocondrial, a delta-amino levulinato sintetase, ou ALA sintetase, e cuja coenzima é o fosfato de piridoxal, derivado da vitamina B6. Nesse processo forma-se um composto instável, o ácido alfa-amino-beta-adípico, que se descarboxila espontaneamente em ácido-delta-aminolevulínico-ALA (**figura 3.13**). A seguir, duas moléculas de ALA se condensam, com a perda de duas moléculas de água, formando o porfobilinogênio (PBG). Quatro moléculas de PBG se juntam sob a ação da PBG desaminase, resultando na perda de aminas das cadeias laterais formando o uroporfirinogênio-I. Sob ação da enzima uroporfirinogênio-III-cosintetase, forma-se o uroporfirinogênio-III (URO-III). Os URO-I e III sofrem descarboxilações transformando os quatro grupos acetilas e metilas, dando origem aos coproporfirinogênios I e III, sob ação da enzima URO descarboxilase. As coproporfirinas se descarboxilam e se oxidam, mediadas pela enzima COPRO oxidase, e sintetizam o protoprofirinogênio (PROTO-GENE). A ação da enzima PROTO gene oxidase promove a oxidação do PROTO-GENE, resultando as protoporfirinas (PROTO), que fixam o ferro catalisado pela ferroquelatase, e resultam o grupo HEME. A origem do ferro é proveniente do seu transporte pela transferrina e dos depósitos de ferritina.

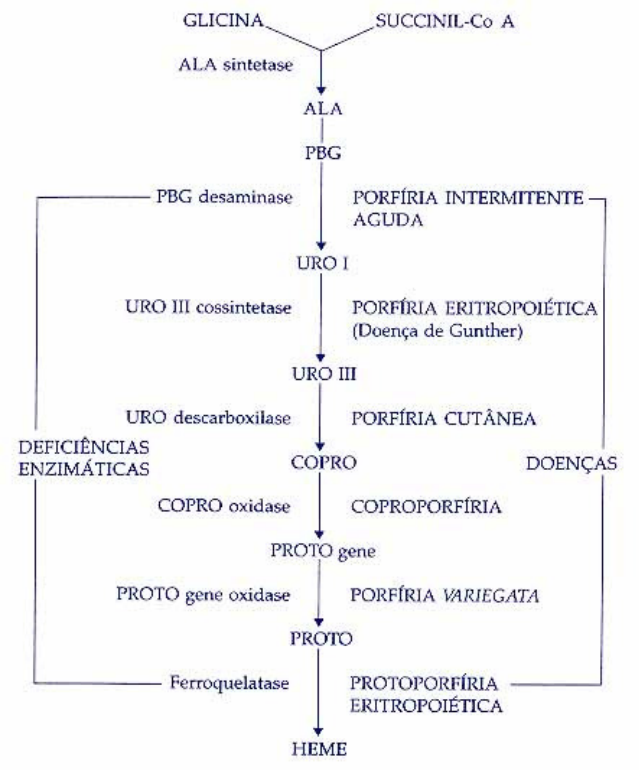

Figura 3.13. Síntese do grupo heme. Relação entre os defeitos enzimáticos e as doenças porfirínicas.

As alterações do grupo heme são decorrentes de dois processos: defeitos enzimáticos hereditários e deficiência de ferro.

Os defeitos enzimáticos hereditários causam as doenças conhecidas por porfirias.

As porfirias constituem um grupo de doenças geralmente hereditárias, devido às alterações durante o processo de formação das porfirinas. As três porfirinas de importância clínica são: protoporfirina, uroporfirina e coproporfirina. A protoporfirina está amplamente distribuída pelo corpo e desempenha a função de precursor do grupo heme na composição da hemoglobina e mioglobina, bem como da catalase e dos citocromos. A uroporfirina e a coproporfirina, que são precursoras da protoporfirina, são normalmente excretadas em pequenas quantidades pelas fezes e urina. Os eritrócitos contêm pequena concentração de protoporfirina e coproporfirina.

Os portadores de porfirina se caracterizam pela fotossensibilidade, dores abdominais agudas, neuropatias, excreção aumentada de porfirinas e seus precursores.

As porfirinas participam do armazenamento e utilização de energia.

As principais síndromes das porfirias são:

- porfiria eritropoiética – hereditária
- protoporfiria eritrocitária – hereditária
- porfiria (hepática) intermitente aguda – hereditária
- porfiria (hepática) *variegata* – hereditária
- coproporfiria (hepática) – hereditária
- porfiria (hepática) cutânea tardia – adquirida
- porfirinúria: doenças malignas, infecções, poliomielite.

As porfirias podem ser agrupadas em eritropoiéticas e hepáticas. Os tipos, as características e a idade de manifestações das porfirias eritropoiéticas estão resumidos na **tabela 3.1**. As fisiopatologias da porfiria eritropoiética congênita (ou doença de Gunther) e da protoporfiria eritropoiética estão resumidas nas **tabelas 3.2** e **3.3**, respectivamente. As porfirias hepáticas estão representadas na **tabela 3.4**.

Tabela 3.1. As porfirias eritropoiéticas.

Tipo	Característica	Idade
Porfiria eritropoiética congênita	rara; intensa fotossensibilidade; anemia hemolítica; esplenomegalia	0 a 5 anos
Prognóstico:	ruim	
Protoporfiria eritropoiética	comum; fotossensibilidade discreta	0 a 5 anos
Prognóstico:	bom	
Coproporfiria eritropoiética	muito rara; fotossensibilidade discreta	variável
Prognóstico:	bom	

Tabela 3.2. Fisiopatologia da porfiria eritropoiética.

• Herança	autossômica recessiva
• Causa	deficiência de co-sintetase de uroporfirinogênio III
• Efeitos	produção excessiva de uroporfirinogênio, pigmentos de uroporfirina e coproporfirina na urina
• Conseqüências	alta fotossensibilidade, lesões vesiculares e ulcerativas na pele, anemia hemolítica com esplenomegalia
• Prognóstico	ruim
• Laboratório	urina vermelha ou rosada, fluorescente, ossos e dentes fluorescentes, eritroblastos fluorescentes, uroporfirina e

	coproporfirina na urina, anemia

Tabela 3.3. Fisiopatologia da proporfiria eritropoiética.

• Herança	autossômica dominante
• Causa	deficiência de ferro quelatase
• Efeitos	produção excessiva de protoporfirina com acúmulo nos eritrócitos e fígado
• Conseqüências	fotossensibilidade leve, prurido, edema dermatose, colestase, hepatite, cirrose
• Prognóstico	bom
• Laboratório	urina normal ou com pigmentos, anemia ausente ou discreta, protoporfirina elevada nos eritrócitos, normoblastos fluorescentes

Tabela 3.4. Porfirias hepáticas.

Tipo	Característica	Idade
Porfiria intermitente aguda (PIA)	• Comum – autossômica dominante • Ausência de fotossensibilidade, dor abdominal aguda, neuropatia, indução por medicamentos, infecções, não há lesões cutâneas • Prognóstico bom após 30 anos • Urina vermelha ou escura sob luz solar • Contém porfobilinogênio	15 a 40 anos
Porfiria *variegata*	• Rara – autossômica dominante • Sintomas variáveis, em geral similares anos da PIA, lesões cutâneas • Prognóstico bom • Urina: aumento de coproporfirina, uroporfirina e protobilinogênio	10 a 30 anos
Coproporfirina hereditária	• Rara – autossômica dominante • Sintomas similares aos da PIA	variável
Porifiria cutânea tardia	• Rara – adquirida • Intensa fotossensibilidade, lesões cutâneas, hepatopatias	variável

Ontogenia das Hemoglobinas

A síntese dos diferentes tipos de hemoglobinas nos períodos do desenvolvimento humano, e caracterizados por fases embrionária, fetal e pós-nascimento, obedece ao rígido controle genético das regiões controladoras de genes dos respectivos agrupamentos de genes tipo alfa (no cromossomo 16) e tipo beta (no cromossomo 11). Essas regiões controladoras de genes ativam os genes embrionários **zeta** e **epsilon** durante a fase em que o embrião se forma e se desenvolve. O tetrâmero x_2e_2 forma a Hb Gower-1. Outras duas hemoglobinas embrionárias, presentes até a 12ª semana do desenvolvimento embrionário são as Hb Portland (x_2g_2) e Hb Gower-2 (a_2e_2). Todas as três hemoglobinas embrionárias são específicas sob o ponto de vista funcional para o embrião. De tal forma que ao passar para a fase fetal, uma outra hemoglobina é sintetizada – a Hb Fetal (a_2g_2) – e as hemoglobinas embrionárias têm suas sínteses diminuídas gradativamente, até o total desaparecimento. A síntese da Hb Fetal inicia-se, portanto, a partir da quarta semana da vida fetal, com elevação progressiva de sua concentração até o nascimento, chegando próximo a 100%. Fisiologicamente a hemoglobina do feto é muito importante para esta fase, pois apresenta alta afinidade por oxigênio. A partir da 10ª semana de vida fetal inicia-se a síntese da HbA (a_2b_2), que chega à concentração máxima de 10% no nascimento. A Hb A_2 (a_2d_2) , por sua vez, começa a ser sintetizada na 25ª semana em concentrações reduzidas (<1%) até o nascimento, aumentando até se estabilizar no sexto mês de vida, conforme mostra a **tabela 3.5**.

Tabela 3.5. Concentrações das hemoglobinas embrionárias, Fetal, A e A_2, nos períodos embrionário fetal e seis meses após o nascimento.

Período	Hemoglobina	Concentração
Embrionário	Gower-1	20 – 40%
	Portland	5 – 20%
	Gower-2	10 – 20%
Fetal	Fetal	90 – 100%
	A	5 – 10%
	A_2	< 1%
Pós-nascimento	A	96 – 98%
(acima de 6 meses de idade)	A_2	2 – 4%
	Fetal	0 – 1%

Hemoglobinas Variantes

A maioria das variantes estruturais é originada por simples substituições de aminoácidos, resultantes de mudanças nas seqüências de nucleotídeos. As alterações estruturais, com conseqüências nas atividades físico-químicas da molécula, estão na dependência da extensão do processo mutacional e dos locais em que esses ocorrem. Dessa forma, as hemoglobinas variantes podem originar-se por:

a. Substituições de um aminoácido por outro, de características diferentes, na superfície externa da molécula. Pode ocorrer também a substituição de dois aminoácidos por outros dois, em uma mesma cadeia, sendo, entretanto, condição muito rara. As substituições de aminoácidos na superfície externa, com exceção feita à Hb S (ver capítulo "Célula Falciforme"), não produzem alterações significantes no funcionamento da molécula. As principais hemoglobinas variantes desse grupo são: Hb C, Hb G, Hb J, etc.
b. Substituições de aminoácidos na superfície interna da molécula envolvendo resíduos polares e não polares. Essa substituição tem ocorrido preferencialmente nos locais invariantes da molécula, incluindo aqueles que fazem parte do "pacote" do grupo heme, cuja principal função é protegê-lo da entrada de água, bem como dos aminoácidos que participam dos contatos a_1b_1. Qualquer substituição na superfície interna causa instabilidade molecular, geralmente iniciando-se pela oxidação do grupo heme com formação excessiva de metahemoglobina e precipitação da globina instável. Citologicamente é possível observar a precipitação intra-eritrocitária da globina instável por meio da presença de corpos de Heinz (ver capítulo sobre "Corpos de Heinz").
c. Substituições de aminoácidos que participam dos contatos a_1b_2 das ligações químicas com o 2,3-DPG e do resíduo histidina C-terminal da cadeia beta promovem a formação de hemoglobinas variantes com alterações na sua afinidade pelo oxigênio, geralmente causando eritrocitoses com alterações da curva de dissociação de oxigênio.
d. Substituições dos resíduos de histidina distal ou proximal, que estão ligados ao grupo heme, causam anormalidades que se caracterizam pela oxidação espontânea e contínua do ferro, com formação excessiva de metahemoglobina proveniente das hemoglobinas variantes do tipo M (Hb M). A formação de metahemoglobina desencadeia a degradação oxidativa da hemoglobina, com formação de corpos de Heinz.
e. Adição de um ou mais aminoácidos ao último aminoácido (C-terminal) das globinas alfa e beta, tornando-as longas e manifestando-se como fenótipos talassêmicos alfa e beta.
f. Fusão entre duas cadeias de globinas diferentes, em especial das cadeias delta-beta que resultam na formação de hemoglobina variante conhecida por Hb Lepore. A fusão inversa, ou seja, beta-delta, é conhecida por Hb anti-Lepore. Outras fusões têm sido descritas na literatura e todas essas ocorrências se devem ao "crossing-over" desigual no pareamento dos cromossomos 11.

Assim, somam-se atualmente perto de 500 variantes estruturais, poucas delas associadas com manifestações clínicas e alterações hematológicas, que podem ser agrupadas em:

- hemoglobinas de agregação;
- hemoglobinas sem alterações fisiológicas;
- hemoglobinas instáveis;
- hemoglobinas com alterações funcionais;
- hemoglobinas com fenótipos talassêmicos (adição de aminoácidos, e fusão entre cadeias de globinas diferentes).

As hemoglobinas de agregação formam tactóides e cristais, com repercussões clínicas e laboratoriais variáveis. As hemoglobinas S e C participam desse grupo (ver capítulo "Célula Falciforme").

As hemoglobinas variantes que não causam alterações funcionais são a maioria, perto de 350 tipos diferentes, e embora apresentem importância bioquímica, genética e antropológica, não produzem efeitos clínicos e laboratoriais significantes.

As hemoglobinas instáveis (cerca de 130 tipos diferentes) apresentam graus variáveis de manifestações clínicas e hematológicas, expressando-se laboratorialmente de forma diversificada entre os diferentes tipos descritos na literatura.

As hemoglobinas com alterações funcionais (cerca de 20 tipos diferentes) causam metahemoglobina por Hb M, cianose e alteração de afinidade da hemoglobina pelo oxigênio.

As hemoglobinas com fenótipos talassêmicos são as variantes provocadas por falhas no processo de regulação da síntese de globina pela adição de aminoácidos ao C-terminal das globinas alfa e beta e pelo pareamento desigual do cromossomo 11 no processo da mitose celular.

Com exceção das Hb variantes sem alterações fisiológicas, as demais causam anormalidades morfológicas nos eritrócitos: falcização (Hb S), células em alvo (Hb C), corpos de Heinz (Hb instáveis e metahemoglobinemias), células "mordidas" (Hb instáveis), microcitoses e hipocromias (Hb Lepore e anti-Lepore).

Talassemias

As globinas alfa e beta constituem, em conjunto, perto de 98% do conteúdo de hemoglobinização eritrocitária. A principal hemoglobina humana, a Hb A, é formada por dímeros de globinas alfa (a_2) e beta (b_2), sintetizadas sincronizada e equilibradamente. Alterações genéticas são as principais origens de desequilíbrios que podem ocorrer na síntese dessas globinas e, conseqüentemente, causam doença de intensidades variáveis conhecidas por talassemia. Denomina-se **talassemia alfa** quando há diminuição na síntese de globina alfa, e **talassemia beta** se a diminuição for da globina beta. Quanto maior for o grau de diminuição de uma das globinas, as conseqüências patológicas e fisiopatológicas também serão maiores, pois esse processo produz deficiência na hemoglobinização dos eritrócitos, que se manifesta por hipocromia de intensidades variáveis (**figura 3.14**). Por outro lado, a globina que teve sua síntese normal não se une integralmente a outra globina correspondente, pois esta foi diminuída em sua síntese. Diante disso, a globina despareada precipita-se nos eritroblastos e eritrócitos circulantes, causando-lhes lesões que alteram a morfologia celular e abreviam o período de vida. As lesões eritrocitárias atraem a ação fagocitária dos macrófagos que atuam tirando as partes lesadas. Esse processo de "saneamento" celular modifica a configuração dos eritrócitos, tornando-os menores (microcitose) e disformes (dacriócitos e leptócitos) (**figura 3.15**). Essas alterações modificam os índices hematimétricos, notadamente a HCM e VCM, diminuindo-os. Informações adicionais poderão ser obtidas no capítulo sobre "Alterações Eritrocitárias nas Talassemias".

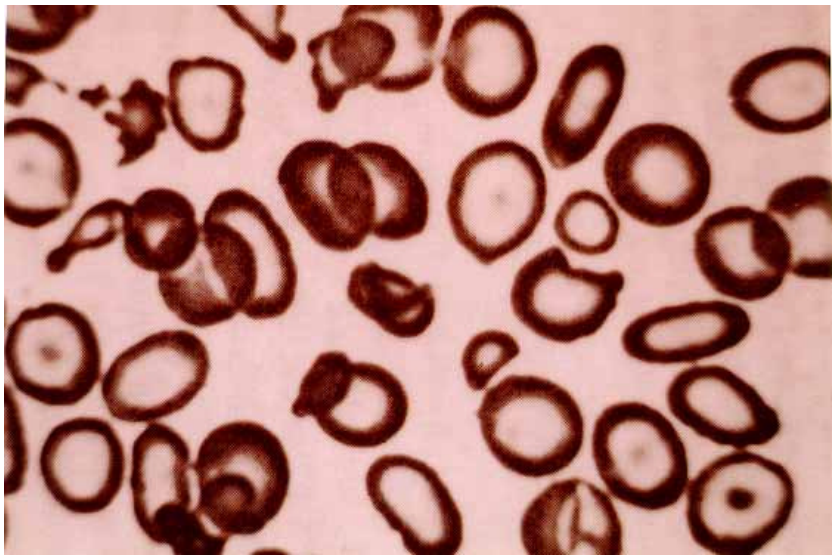

Figura 3.14. Hipocromia acentuada na talassemia beta maior (ou homozigota). Na talassemia beta maior a síntese de globina beta pode estar totalmente ou parcialmente ausente. No presente caso, a figura representa uma situação em que o paciente com talassemia beta maior não tinha Hb A, somente Hb Fetal e Hb A_2.

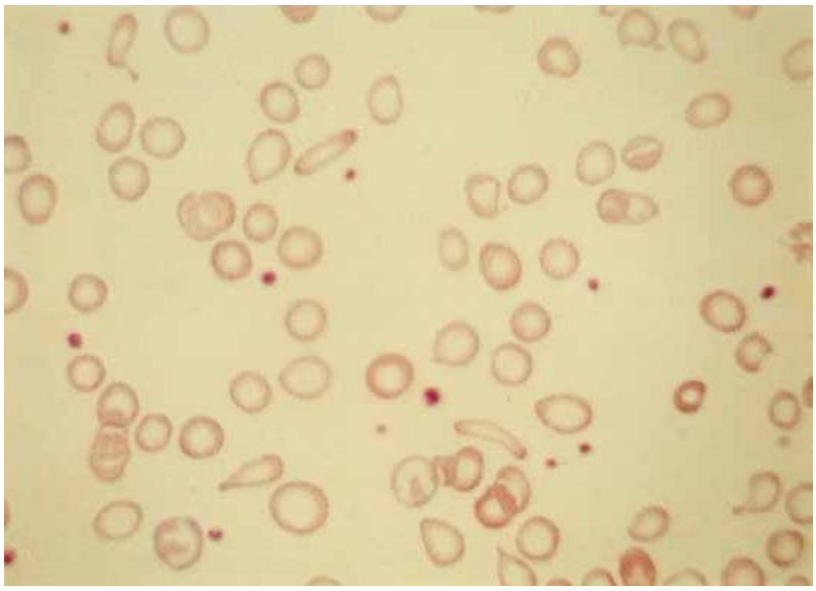

Figura 3.15. Hipocromia acentuada na talassemia beta maior onde se observa eritrócitos microcíticos, esquisócitos, dacriócitos, leptócitos, entre outras deformações. Na ausência ou diminuição da síntese de globina beta "sobra" a globina alfa, pois não há beta para se combinar (consultar figura 3.10 deste capítulo). Como conseqüência, as globinas alfa despareadas se precipitam nos eritrócitos, causam lesões oxidativas na membrana, e atraem a ação dos macrófagos do S.R.E. que, ao retirarem partes lesadas dos eritrócitos, deformam essas células em esquisócitos.

A Membrana

Estrutura Química da Membrana

A membrana do eritrócito é composta de uma dupla camada lipídica, com a qual várias proteínas estão associadas. Essa estrutura permite que a célula mantenha separado o fluído intracelular no líquido extracelular, além de selecionar nutrientes, gases e íons, bem como permitir a excepcional deformabilidade do eritrócito quando necessário.

A composição química da membrana lipídica se resume principalmente ao colesterol livre e fosfolipídeos. Os fosfolipídeos, por sua vez, são constituídos pelos seguintes elementos:

- Fosfatidilcolina (FC): 28%
- Fosfatidiletanolamina (FE): 27%
- Esfingomielina (EM): 26%
- Fosfatidilserina (FS): 13%
- Fosfatidilinositol (FI): 4%
- Pequenos fosfolipídeos: 2%

Estruturalmente, o colesterol livre, a fosfatidilcolina e esfingomielina estão localizados principalmente na camada externa da dupla membrana, enquanto que a fosfatidilserina e a fosfatidiletanolamina estão presentes na camada interna, do lado citoplasmático.

A disposição em dupla camada da membrana, com participação aproximadamente igual de componentes lipídicos e protéicos, produz uma característica de bipolarização frente à presença da água. Assim, em direção ao meio aquoso interno (citoplasma celular) e externo (líquido plasmático do sangue), se forma a **camada de fosfolipídeos hidrofílicos,** enquanto que orientados para a região interna da dupla camada (onde não há água) estão os **ácidos graxos hidrofóbicos** (**figura 3.18**). Como ilustra a **figura 3.19**, cerca da metade da massa estrutural da membrana é composta por três classes de proteínas, diferenciada em **integrantes** ou **estruturais periféricas** ou **citoesqueléticas,** e as **proteínas âncoras** (**tabela 3.6**). As **proteínas integrantes** mais importantes são a **glicoforina A** e a **Banda-3**. A glicoforina A se projeta para a parte externa da célula, apresenta-se com maior concentração, é composta em grande parte por carboidratos, e é responsável pela determinação do grupo sangüíneo ABO. Três outras glicoforinas identificadas por B, C e D também fazem parte da membrana, porém em baixíssimas concentrações. As glicoforinas se apresentam, também, como elementos receptores utilizados pelos protozoários (*P. falciparum*) da malária para se fixarem e penetrarem no eritrócito (**figura 3.20**). Dessa forma, admite-se que as pessoas que apresentam carência de glicoforinas na composição da membrana eritrocitária são resistentes às infecções de plasmódios da malária. A proteína Banda 3 é a mais volumosa das proteínas integrantes na membrana do eritrócito (**figura 3.21**), e serve como um "canal" para a troca passiva de ânions através da membrana.

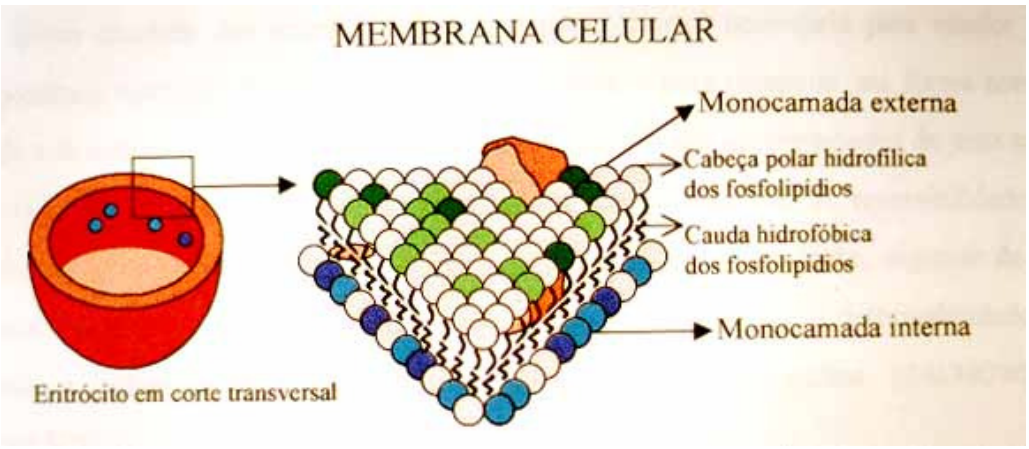

Figura 3.18. Esquema da distribuição dos principais fosfolipídeos na membrana celular de eritrócito normal, com destaque para as regiões hidrofílicas e hidrofóbicas.

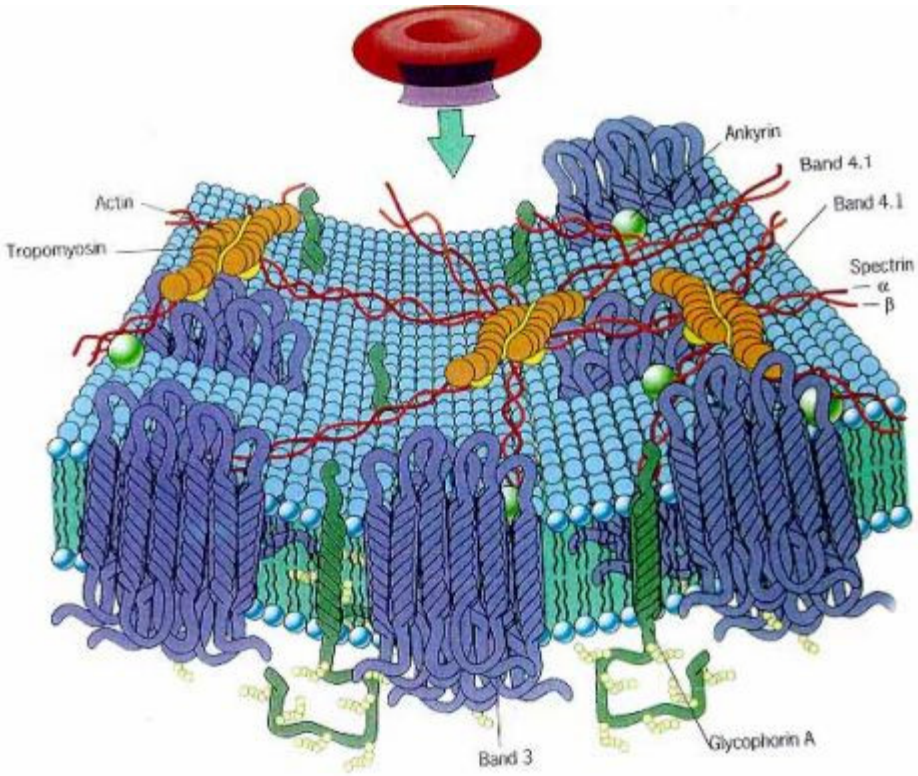

Figura 3.19. Esquema da composição estrutural da membrana eritrocitária.

Figura 3.20. Microscopia eletrônica de ovos de plasmódios no interior de eritrócitos.

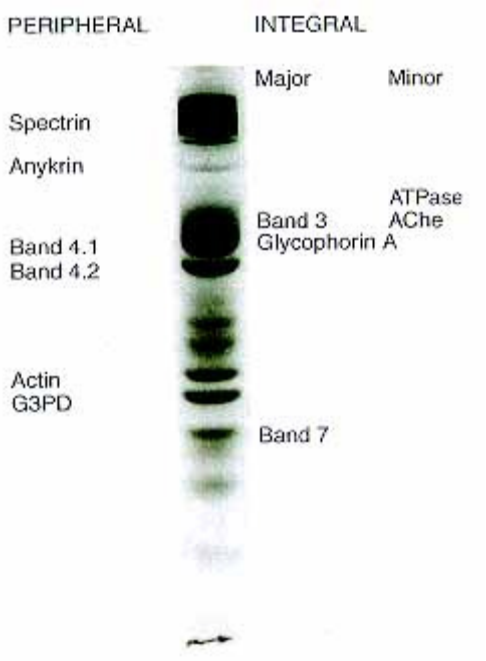

Figura 3.21. Fracionamento das proteínas de membrana de eritrócitos normais, por eletroforese em gel de poliacrilamida. As proteínas com maiores concentrações são: Espectrina, Banda-3, Glicoforina A, G3PD e Actina; e as com concentrações menores são: Banda 4.1, Banda 4.2, Actina e Banda 7.

As **proteínas periféricas** e **âncoras** estão localizadas em direção ao interior da célula e constitui o esqueleto fibrilar da membrana eritrocitária, fato que permite a manutenção da forma do eritrócito e restringe o movimento das proteínas integrantes. O maior componente do esqueleto da membrana eritrocitária é uma proteína flexível e fibrosa, denominada por **espectrina**. A espectrina está ligada à superfície interna da membrana por meio de ligações não covalentes a uma outra proteína, a **anquirina**, que por sua vez se liga à proteína Banda-3 (**figura 3.19**). A porção terminal da espectrina se liga a duas outras proteínas: **actina** e **tropomiosina**, ambas envolvidas na contratilidade do eritrócito. As proteínas periféricas, por sua disposição espacial na membrana, facilitam o movimento de substratos e co-fatores de dentro para fora da célula e vice-versa. Dois desses importantes sistemas enzimáticos são o Na^+, K^+-ATPase e Ca^{++}, Mg^{++}-ATPase. O primeiro sistema, conhecido por **bomba de sódio-potássio** regula a quantidade desses íons no eritrócito, ou seja, o aumento de sódio sem a perda de potássio causa um ganho de água na célula, fazendo-a aumentar de volume, e conseqüente hemólise; enquanto que o aumento de potássio produz a sua retração ou encolhimento. O segundo sistema, conhecido por **bomba de cálcio**, expulsa o cálcio para fora da célula, evitando o aumento da sua concentração intracelular. O cálcio está envolvido na regulação e estabilização da estrutura fosfolipídica da membrana. Concentrações elevadas de cálcio no interior da célula torna-a menos deformável, e produzem alterações da sua forma.

A característica da superfície externa da membrana eritrocitária pode ser definida de acordo com sua **estrutura antigênica**, que tem resultado em um complexo processo de diferenciação de tipagem sangüínea. Calcula-se em mais de 300 antígenos eritrocitários já identificados; muitos desses antígenos constituem os quinze sistemas de grupos sangüíneos. Em alguns desses sistemas (ex.: A, B, O e P) os determinantes antigênicos são ricamente constituídos por grupos prostéticos de oligossacarídeos das proteínas integrantes da membrana. Quase todos os antígenos são componentes intrínsecos da membrana, aparecendo durante o início da eritropoiese. O sistema Lewis é uma exceção, porque seus antígenos estão nos glicolipídeos presentes nos fluidos teciduais, e são absorvidos pelos eritrócitos. Outros antígenos "passageiros" que podem aparecer na superfície dos eritrócitos sob condições patológicas incluem polissacarídeos bacterianos e certas drogas (ex.: penicilinas).

Deformabilidade da Membrana

A deformabilidade celular é dependente das proteínas de membrana da rede citoesquelética ou proteínas periféricas, e também da fluidez da membrana, que é inteiramente dependente da natureza e composição dos lipídeos de membrana (fator enrijecedor).

Alterações envolvendo as proteínas de membrana podem alterar a sua composição estrutural e, conseqüentemente deformar a célula. Alguns estados patológicos tais como a completa deficiência da proteína banda 4.2 devido a uma mutação da Alanina ® Treonina na posição 142 do polipeptídeo dessa proteína, podem causar instabilidades das propriedades biofísicas da membrana, com formação microagregados de proteínas citoesqueléticas e enrijecimento da sua estrutura. Da mesma forma, na deficiência da proteína espectrina ocorre o desarranjo do citoesqueleto celular, com desorganização da sua disposição estrutural. Esses exemplos induzem a deformabilidade do eritrócito, associado à incapacidade da sua recuperação morfológica (**tabela 3.7**).

Alterações que reduzem a fluidez da membrana, tornando-a rígida, também se devem às anormalidades dos componentes lipídicos, abaixo destacados:

- conteúdo aumentado de colesterol livre
- conteúdo diminuído de fosfatidilcolina
- conteúdo aumentado de ácidos graxos com muitas moléculas de carbono
- conteúdo aumentado de cadeias acil.

Em contraste à exposição acima, os fatores que aumentam a fluidez da membrana também induzem à deformação eritrocitária, com destaque para os seguintes:

- conteúdo diminuído de colesterol livre (**figura 3.22**)
- conteúdo aumentado de fosfaticilcolina (**figura 3.23**)
- conteúdo aumentado de ácidos graxos com poucas moléculas de carbono
- conteúdo aumentado de cadeias acil insaturadas.

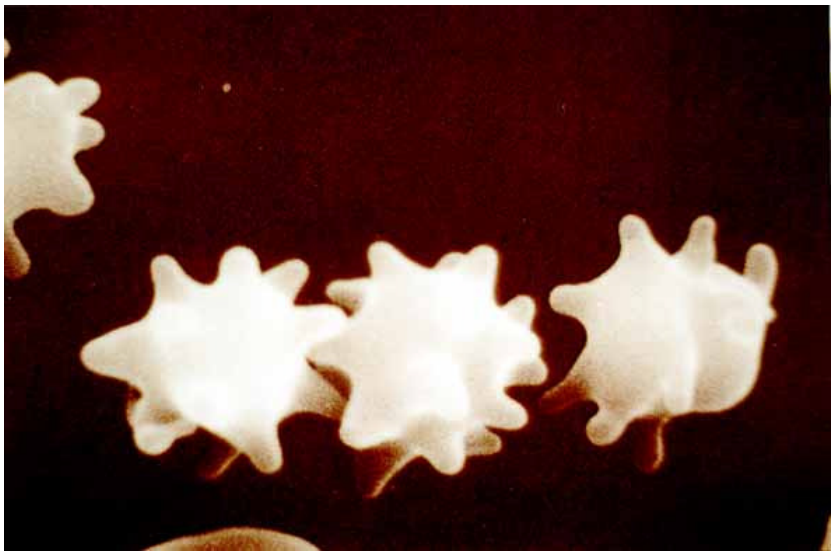

Figura 3.22. Microscopia eletrônica de varredura mostrando eritrócitos acantócitos (acantocitose) em sangue de pessoa com deficiência de colesterol livre na membrana da célula.

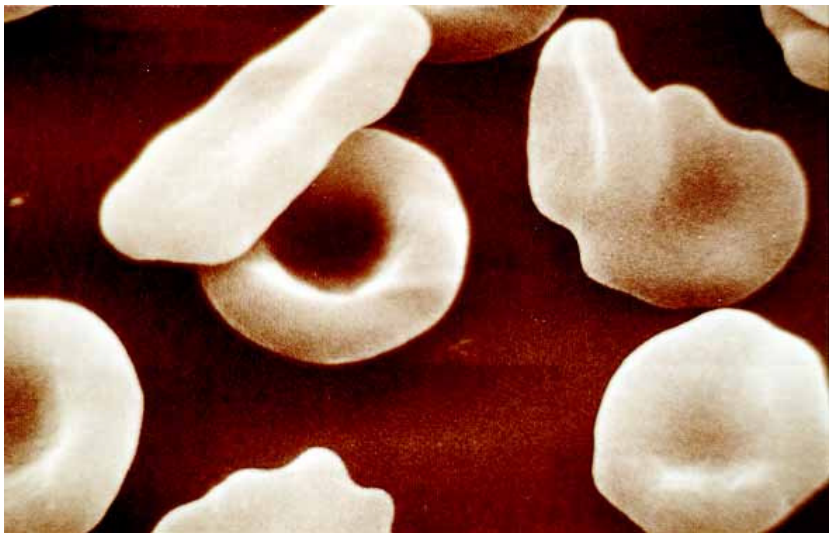

Figura 3.23. Microscopia eletrônica de varredura mostrando eritrócitos deformados, geralmente grandes, com VCM elevado, e presença de codócitos (células em alvo), em pessoa com conteúdo aumentado de fosfatidilcolina na membrana da célula.

Os defeitos de outros componentes da membrana eritrocitária, notadamente aqueles que fazem parte da estrutura antigênica, podem estar associados a deformações dos eritrócitos. Um exemplo desse tipo de defeito é a perda de qualquer antígeno que compõe o sistema Rh, fato que caracteriza as "células nulas Rh". Este tipo de alteração causa deformação eritrocitária e diminui o seu tempo de vida. Além disso, a presença de anticorpos contra antígenos específicos de superfície de membrana pode elevar o grau de destruição celular (auto-hemólise), com ou sem deformação celular.

Tabela 3.6. Principais proteínas da membrana dos eritrócitos, dispostas em subgrupos.

Subgrupos	Tipos de Proteínas
Integrantes ou Estruturais	Banda-3
	Glicoforina A, B, C e D
	GFI (*)
Periféricas ou Citoesqueléticas	Espectrinas
	Banda 4.1
	Actina
	Tropomiosina
Âncoras	Anquirina
	Banda 4.2

(*) GFI: proteínas ligadas ao glicosilfosfatidilnositol

Tabela 3.7. Anormalidades hereditárias da membrana do eritrócito.

Patologia	Proteínas Anormais	Forma de Herança
Esferocitose	Espectrina, Anquirina	Autossômico dominante
	Banda 3, Proteína 4.2	Recessivo (rara)
Eliptocitose	Espectrina	Autossômico dominante
	Proteína 4.1	Recessivo (rara)
Piropoiquilocitose	Espectrina	Recessivo
Estomatocitose	Defeito na permeabilidade do Na^+	Autossômico dominante

As Principais Enzimas Eritrocitárias

O eritrócito, por ser uma célula anucleada e desprovida de organelas, apresenta o seu metabolismo suportado especialmente na degradação da glicose, fato que permite a contínua geração de energia durante todo o perído de vida da célula. Esta atividade metabólica pode ser subdividida em uma via anaeróbica principal, conhecida por **via de Embden-Meyerhoff**, que é do tipo não-oxidativa, e três vias menores conhecidas por **via Fosfogluconato** (ou **via das pentoses**) do tipo oxidativa, **via de Metahemoglobina redutase**, e finalmente a **via Rapoport-Luebering**. Todas essas vias são interligadas e interdependentes, qualificando o eritrócito a desenvolver sua função de transporte de oxigênio durante o seu período vital.

VIA EMBDEN-MEYERHOF: esse processo envolve 90% da degradação da glicose em lactato (**figura 3.24**). Para cada molécula de glicose usada, são geradas duas moléculas de adenosina trifosfato (ATP) e duas ligações de fosfatos (Glicose-6-Fosfato e Frutose-6-Fosfato). As moléculas de ATP emite energia para a manutenção do volume do eritrócito, da sua forma discóide e da sua flexibilidade. O eritrócito tem uma pressão osmótica cinco vezes maior que o plasma e a integridade da membrana é mantida por intensa troca de sódio e potássio, realizada pela bomba de sódio-potássio-ATPase, com rígido controle desses íons (ver item **3.3.1** desse capítulo – "Estrutura Química da Membrana"). A via de Embden-Meyerhof também gera NADH, que é necessária para a enzima metahemoglobina redutase evitar o aumento da oxidação do ferro da hemoglobina – normalmente cerca de 3% da oxihemoglobina se transforma em metahemoglobina. Nesse processo o gliceraldeído, pela redução de NAD ® NADH, gera a molécula de 1.3 difosfoglicerato (1.3 DPG) que é metabolizada por um sistema que a transforma em 2,3 DPG e, logo a seguir, pela ação da enzima fosfatase, modifica-a em 3-Fosfoglicerato (**figura 3.22**). Esse processo de transformação que caracteriza a via Luebering-Rapoport, com geração de 2,3 DPG e tem importância fundamental na fixação do oxigênio pela hemoglobina. Como se sabe, a molécula de 2,3 DPG fica instalada dentro da molécula de hemoglobina, especificamente entre as duas globinas beta (consultar a **figura 3.5** desse capítulo). Quando o 2,3 DPG está dentro da hemoglobina não há fixação do oxigênio pelo ferro do grupo heme. A "expulsão" do 2,3 DPG num complexo sistema químico da hemoglobina, permite que o oxigênio seja fixado e transportado pela hemoglobina. Quando a hemoglobina libera o oxigênio para as células e tecidos, o 2,3 DPG volta a ocupar o seu espaço no interior da molécula de hemoglobina.

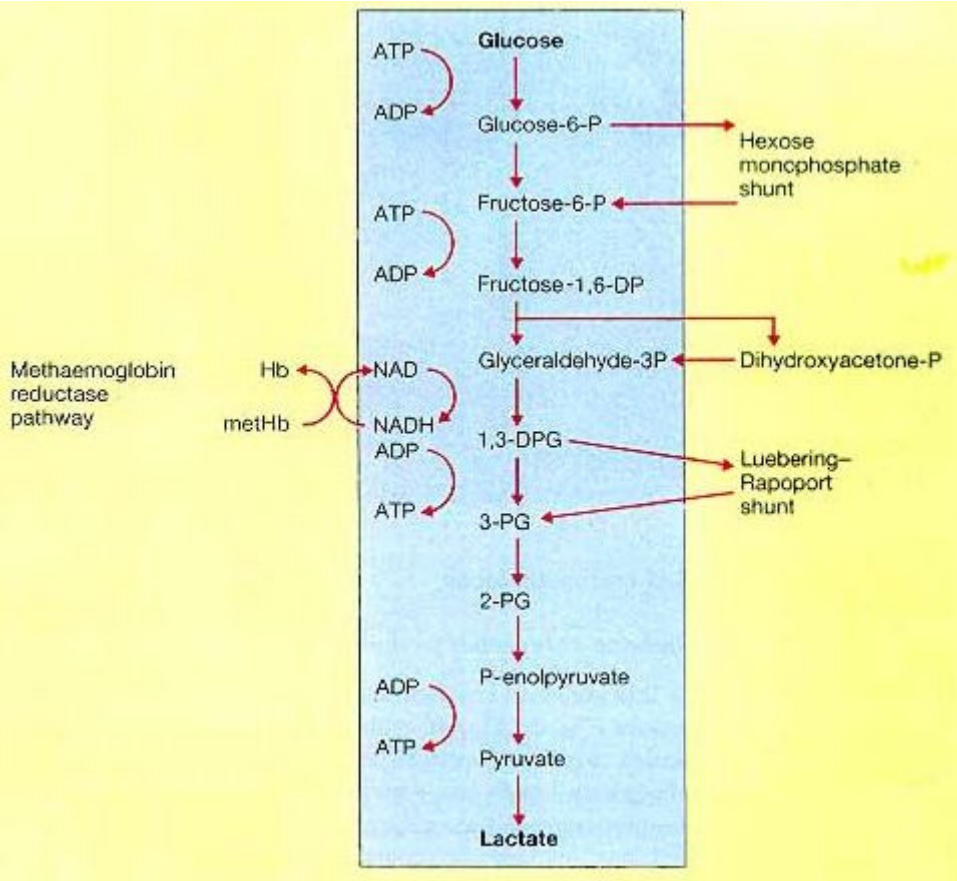

Figura 3.24. Via glicolítica de Embden-Meyerhof.

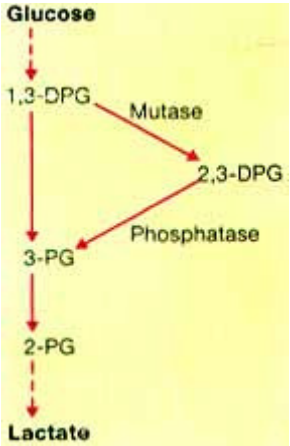

Figura 3.25. Via Rapoport-Luebering.

VIA FOSFOFLUCONATO (OXIDATIVA): é também conhecida por desvio (ou "shunt") das pentoses. Cerca de 5% da degradação da glicose ocorre por esta via oxidativa (**figura 3.26**). A NADPH (nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-fosfato reduzido) é gerado como processo final da transformação do glutatião peroxidase (GPx) em glutatião reduzido (GSH). Esse processo mantém a integridade da célula contra processos oxidativos (consultar capítulo sobre "Corpo de Heinz"). Dessa via faz parte uma importante enzima, a **glicose-6-fosfato desidrogenase** (G-6-PD). A G-6-PD converte a glicose-6-fosfato (glicose 6-P) para 6-fosfogluconato (6-PG), permitindo a produção de NADPH e glutatião reduzido (GSH). A G-6-PD é necessária para proteger a hemoglobina contra a oxidação.

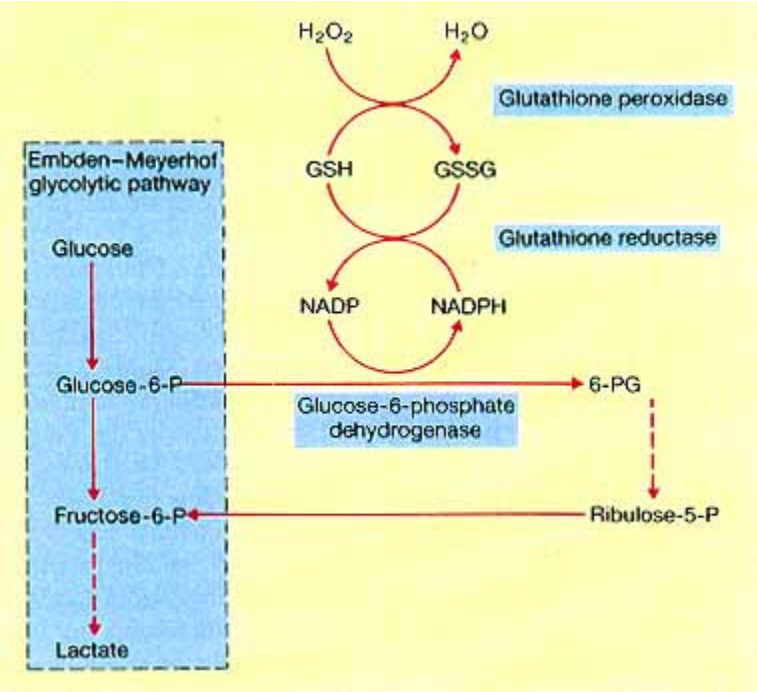

Figura 3.26. Via fosfoglucanato ou desvio ("shunt") das pentoses.

As principais alterações das enzimas eritrocitárias se devem às suas deficiências com destaque para:

- deficiência de G-6-PD
- deficiência de piruvato-quinase
- deficiência de metahemoglobina-redutase
- deficiência de enzimas antioxidantes

Com exceção à deficiência de piruvato-quinase, as deficiências de G-6-PD, meta Hb-redutase e de enzimas antioxidantes (SOD, GPx e catalase), produzem a formação e precipitação intra-eritrocitária de corpos de Heinz. Assim, outros detalhes sobre as deficiências dessas enzimas poderão ser encontradas no capítulo sobre "Radicais Livres e danos eritrocitários".