

PAULO CESAR NAOUM
FLÁVIO AUGUSTO NAOUM

HEMATOLOGIA LABORATORIAL ERITRÓCITOS

2ª Edição

Edição da Academia de Ciência e Tecnologia (AC&T)
São José do Rio Preto - SP
2008

PREFÁCIO DA SEGUNDA EDIÇÃO

O lançamento em maio de 2005 do livro “Hematologia Laboratorial - Eritrócitos” revestiu-se de grande interesse acadêmico e profissional. A primeira edição com 1000 exemplares esgotou-se em menos de um ano. No período entre 2005 e 2007 não ocorreram mudanças de importância conceitual em relação às patologias eritrocitárias. Nesta nova edição foram realizadas algumas correções necessárias e continuamos com a certeza de que o assunto continua atraente.

Paulo Cesar Naoum, Biomédico

Professor Doutor, Livre-Docente e Titular pela
Universidade Estadual Paulista.

Diretor Científico da AC&T.

Flávio Augusto Naoum, Médico

Mestre pela USP e Professor Doutor
pela Faculdade de Medicina de Rio Preto.
Diretor Clínico da AC&T.

DADOS PARA CATALOGAÇÃO

Hematologia Laboratorial - Eritrócitos

Autores:

Paulo Cesar Naoum - Flávio Augusto Naoum

São José do Rio Preto:

2ª Edição da Academia de Ciência e Tecnologia, 2008

1ª Edição: 2005

Orientações acadêmicas e profissionais em
Hematologia Laboratorial.

Direitos reservados à AC&T de São José do Rio Preto, 2008

AC&T - Academia de Ciência e Tecnologia

Rua Bonfá Natale, 1860 - CEP 15020-130 - São José do Rio Preto - SP

Fone: (17) 3233 4490 - e-mail: a.c.t@terra.com.br

www.ciencianews.com.br

SUMÁRIO

| | |
|--|---------------|
| Capítulo 1 - Procedimentos Básicos | 7 |
| Recepção do paciente | 7 |
| Coleta de sangue | 9 |
| Esfregaço sanguíneo | 11 |
| Coloração de células | 14 |
| Contagens manuais e eletrônicas de eritrócitos, leucócitos e plaquetas | 14 |
| Emissão de resultados e comentários técnicos | 16 |
| Valores de referência no hemograma | 19 |
| Capítulo 2 - Série Vermelha | 25 |
| Dosagem da hemoglobina | 29 |
| Hematócrito | 30 |
| Contagem de reticulócitos | 31 |
| Eletroforese de hemoglobinas | 34 |
| Teste de fragilidade osmótica | 37 |
| Dosagens de ferro e ferritina | 38 |
| Capítulo 3 - Avaliação técnica da Série Vermelha | 41 |
| Morfologia normal e anormal dos eritrócitos | 41 |
| Quadro 3 – Terminologia hematológica | 44 |
| Inclusões nos eritrócitos | 54 |
| Resumo da eritropoiese | 55 |
| Sinopse das anemias | 61 |
| Anemia microcítica e hipocrômica | 66 |
| Anemia sideroblástica | 70 |
| Talassemias | 72 |
| Diagnóstico laboratorial das anemias microcíticas e hipocrômicas | 78 |
| Anemia normocítica e normocrômica | 80 |
| Anemia macrocítica | 80 |
| Outras anemias importantes | 83 |
| Anemias hemolíticas | 84 |
| Anemia megaloblástica | 91 |
| Anemia aplástica | 91 |
| Avaliação laboratorial das anemias | 96 |
| Policitemia e Eritrocitose | 101 |
| Referências bibliográficas | 105 |

CAPÍTULO 1

PROCEDIMENTOS BÁSICOS

RECEPÇÃO DO PACIENTE

A recepção do paciente é fundamental no conjunto de ações que envolvem as análises hematológicas e a credibilidade do laboratório. Toda pessoa que procura o laboratório busca resposta para algum questionamento de ordem fisiológica ou fisiopatológica. Assim, sempre há ansiedade que varia em grau de intensidade de pessoa para pessoa, bem como da causa que a levou a procurar o laboratório. Por essa simples razão, a recepção do paciente deve ser de respeitosa atenção. Após os procedimentos relativos às documentações de guias de convênios, ou da apresentação dos valores dos exames solicitados pelo médico, deve-se proceder à realização do registro do paciente, especialmente com referência à sua identificação que incluem o nome completo, sexo e idade. O endereço completo, e-mail e telefone para contato, também são importantes. Da mesma forma, o nome completo do médico solicitante das análises deve compor o registro.

Após a fase de identificação é importante observar se o cliente está bem ou se está ofegante, febril, pálido, ictérico, excitado e

asseado (limpo). Cuidados especiais devem ser dados a clientes gestantes.

A pessoa ofegante inclui o cansaço, a respiração dificultosa e a ansiedade. Todas essas situações devem ser anotadas na ficha laboratorial do paciente, pois podem alterar os resultados do hemograma, em especial a contagem total de leucócitos que pode apresentar leucocitose fisiológica. Da mesma forma, se o paciente procura o laboratório após ter realizado exercícios físicos, ou a gestante com pelo menos cinco meses de gestação, geralmente podem apresentar leucocitose fisiológica. Para minimizar esse efeito fisiológico, aconselha-se ao paciente descansar por 20 a 40 minutos antes da coleta do sangue. O paciente febril é mais complicado pois pode incluir alterações leucocitárias patológicas motivadas pela causa da febre (p. ex. infecção bacteriana). Para esses casos sugere que a coleta de sangue seja feita no paciente sem febre, solicitando ao mesmo que faça uso de antitérmico sob receita médica. Entretanto, há casos em que a coleta de sangue foi solicitada com urgência em paciente com febre e esse fato necessariamente deve ser anotado na sua ficha e no resultado emitido ao médico.

A palidez geralmente está associada com a diminuição da hemoglobina e, conseqüentemente, com anemia. Essa informação na ficha laboratorial do paciente é essencial para o profissional que realiza os exames hematológicos. O mesmo procedimento deve ser seguido para pacientes que apresentam icterícia. A icterícia se deve ao extravasamento da bilirrubina para o sangue devido à insuficiência da função hepática (p. ex.: hepatite), ou destruição maciça de eritrócitos (p. ex.: anemias hemolíticas). Assim, muitas vezes a icterícia pode estar associada a um processo anêmico que requer aplicação de exames específicos e nesses casos o laboratorista pode trocar experiência e sugestões com o médico do paciente.

A excitação também é um fator que deve ser levada em consideração, apesar de que não há base científica que suporta correlação com alterações de exames. Da mesma forma o asseio do paciente também deve ser anotado, especialmente em situações que se fazem por merecer. A falta de asseio indica desleixo, facilidade de se contaminar e se

infetar, condições que predispõe às alterações do hemograma com ampla interpretação e esses fatos justificam a anotação na ficha laboratorial do paciente.

Outras informações dadas espontaneamente pelo paciente, p. ex.: menstruação abundante ou prolongada, sangramentos, dores ósseas e articulares, indisposição, cansaço, taquicardia, dores nas pernas, dor ou desconforto abdominal, devem ser incluídos na ficha laboratorial. Informações solicitadas ao paciente, p. ex.: medicações em uso e tipo de trabalho (pessoas que trabalham com agrotóxicos, combustível, pintura automotiva, siderúrgicas, etc.) podem ser relevantes.

Após o preenchimento da ficha laboratorial, certifique-se o paciente está em jejum que, preferencialmente para o hemograma, deve ser superior a quatro horas. Para bebês que necessitam de se alimentarem com maior constância deve ser anotado o tempo entre a última refeição e a coleta de sangue. Sugere-se para esses casos o tempo mínimo de jejum de uma a duas horas.

COLETA DE SANGUE

A coleta de sangue usual é obtida do sangue venoso, extraído notadamente de uma veia da fossa antecubital. Na região antecubital a veia preferida é a cubital mediana, uma vez que é habitualmente grande e bem fixada nos tecidos, mas as veias cefálicas e basílicas também costumam ser satisfatórias. Podem ser usadas outras veias do antebraço, mas essas são mais móveis e difíceis de serem penetradas. As veias do dorso do punho e da mão têm um fluxo menor e a punção venosa nessas regiões tem maior probabilidade de causar hematomas.

A coleta pode ser efetuada com agulhas de calibre 0,8 ou 0,9mm para adultos e 0,7 ou 0,8mm para crianças ou adultos com veias finas. A coleta em tubo a vácuo são mais convenientes para múltiplas

amostras com diferentes anticoagulantes, assim vários tubos a vácuo podem ser aplicados sucessivamente. É desnecessário enfatizar que seringas e agulhas devem ser descartáveis e os tubos esterilizados.

Quando é necessária uma amostra volumosa, ou um grande número de amostras para diferentes análises com anticoagulantes diversos, o sangue pode ser colhido por meio de **butterfly** que é uma agulha fina conectada a uma pequena cânula flexível. A cânula pode ser facilmente removida permitindo que sejam ligadas várias seringas sucessivamente. Essa técnica também é útil em crianças e nos casos em que as veias são muito finas e dificultam a punção venosa.

O **anticoagulante para sangue venoso** preferencialmente é o ácido etileno-diamino-tetracético ou EDTA com sal sódico (EDTA- Na_2), ou sal potássio (EDTA- K_2). O anticoagulante recomendado é o EDTA- K_2 na concentração final de 1,5 a 2,2mg/ml de sangue, em pó ou em solução. A vantagem da solução é a facilidade de misturar-se com o sangue evitando sua coagulação. Quando a quantidade de sangue colhida no tubo é muito pequena, o EDTA líquido pode causar alteração dos resultados pela diluição. O excesso de EDTA também tem efeitos danosos sobre a morfologia celular no esfregaço de sangue. O EDTA- K_2 é mais solúvel que o EDTA- Na_2 . Há um outro tipo de EDTA ligado ao K (EDTA- K_3) que tem a desvantagem de provocar a desidratação do eritrócito e dessa forma reduzir o micro-hematócrito e volume celular. A heparina, usada como anticoagulante do sangue venoso, altera a morfologia dos eritrócitos e leucócitos, bem como as características tintoriais dessas células. O seu uso é recomendado somente para o teste de fragilidade osmótica.

A coleta de **sangue capilar** somente deve ser efetuada em situações excepcionais e feita somente com lancetas descartáveis. Usa-se essa forma de coleta quando bebês, lactentes e adultos têm veias difíceis. A coleta de sangue capilar se faz por meio de lanceta atingindo 1,5mm de profundidade da ponta do dedo de adultos e crianças, ou das áreas laterais da planta do pé (região do calcanhar) de bebês e lactentes. O sangue capilar é colhido por meio de tubos capilares e transferidos para pequenos tubos (eppendorf) com anticoagulante

EDTA. É importante destacar que as contagens de plaquetas no sangue capilar são freqüentemente mais baixas que as feitas no sangue venoso. Outros parâmetros também podem variar no sangue capilar, como é o caso da concentração da hemoglobina que resulta elevada.

O **sangue de cordão umbilical** é coletado por meio de seringa, agulha e anticoagulante EDTA-K₂. Os parâmetros hematológicos no sangue de cordão diferem daqueles obtidos por punção venosa no recém-nascido sem, entretanto, afetar estatisticamente os resultados.

Outros locais menos usuais de obtenção de sangue são as veias do tornozelo, veia femural e veia das jugulares externas.

ESFREGAÇO SANGUÍNEO

O esfregaço, ou distensão sanguínea, pode ser feito de sangue venoso sem anticoagulante, ou de sangue com anticoagulante EDTA durante o procedimento da coleta de sangue. A distribuição das plaquetas no sangue sem anticoagulante promove a formação de pequenos agregados, enquanto que no sangue com anticoagulante EDTA as plaquetas ficam individualizadas e homogeneamente distribuídas. Quando o sangue é obtido por punção capilar as agregações plaquetárias são volumosas, dificultando a análise morfológica e a quantificação.

As lâminas de vidro devem estar limpas e desengorduradas. É usado um distensor que deve ser um pouco mais estreito do que a lâmina.

A distensão do sangue na lâmina pode ser efetuada de duas formas: a **tradicional** e o esfregaço **italiano**. Para obter o esfregaço tradicional, cuja análise proporciona as avaliações qualitativa e quantitativa de leucócitos e plaquetas, bem como da morfologia eritrocitária, usa-se o distensor da gota de sangue inclinado em relação à lâmina num ângulo entre 25 e 30 graus. Por meio dessa forma de

esfregaço obtém-se visualmente a composição de três porções: fina, média e espessa. Na **porção fina** a disposição de eritrócitos e leucócitos é defeituosa, com células deformadas artefactualmente. Na **porção média** se concentram as células com distribuição homogênea, perfeitas para análise. Na **porção espessa** as células se congestionam, dificultando a análise. O esfregaço italiano é específico para análise da morfologia eritrocitária “a fresco”, sem uso de corante. É muito útil na avaliação do tamanho e forma dos eritrócitos. A foto 1 mostra o esfregaço e as três porções.

A foto 2 representa três esfregaços identificados pelas letras **a**, **b** e **c**. Nos esfregaços **a** e **c** as setas mostram os deslizamentos periféricos da objetiva do microscópio durante a análise citológica. Procedendo dessa forma, as contagens específicas para diferenciação dos leucócitos resultarão **artefactualmente** em maior número de neutrófilos, eosinófilos e monócitos, pois essas células estão em maior número nas regiões marginais do esfregaço. O correto é o esfregaço **b**, pois os linfócitos que se dispõem na região central são contados de forma equilibrada com as outras células, permitindo a **avaliação correta**.

Quando o sangue a ser analisado é proveniente de paciente com anemia grave, a gota de sangue deve ser um pouco maior que o habitual. Por outro lado, se o paciente tem hematócrito alto (policitemia) a gota deve ser menor, ou misturada (v:w) com solução salina (NaCl 0,8%).

As distensões de **camada de leucócitos** (buff coat) são úteis para concentrar células nucleadas, ou pesquisar bactérias no sangue. Obtém-se os leucócitos por meio da centrifugação do sangue em tubo de hemólise ou no tubo de Wintrobe (hematócrito) e sua coleta é efetuada por micro-pipetas ou pipeta Pasteur. Para que a distensão seja efetuada com viscosidade reduzida, mistura-se uma gota da camada de leucócitos com uma gota do plasma do paciente (autólogo).

A **gota espessa**, como o próprio nome indica, é feita pela deposição de uma gota de sangue, com ou sem anticoagulante, no centro da lâmina e espalhada num diâmetro de dois centímetros por meio de um palito ou haste de vidro ou de plástico. Esse teste é indicado para pesquisa de parasitas da malária e de outros hematozoários. A lâmina com a gota espessa não requer fixação e deve ser corada diretamente com solução aquosa de Giemsa para que haja hemólise, fato que permite a visualização mais clara dos parasitas no sangue.

Finalmente, a análise de parasitas móveis como as microfilárias é feita “a fresco” em sangue sob lamínula. Coloca-se entre a lâmina e lamínula uma gota de sangue com anticoagulante permitindo que os parasitas possam ser vistos no aumento 200 ou 400 vezes (x) agitando os eritrócitos.

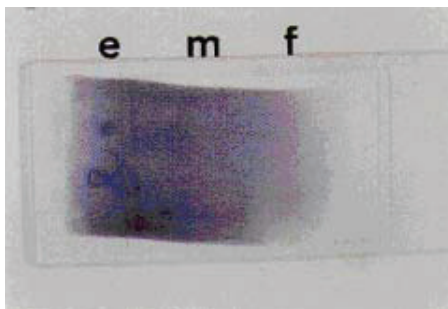


Foto 1 - Esfregaço tradicional com as três porções: **e**: espessa; **m**: média; **f**: fina

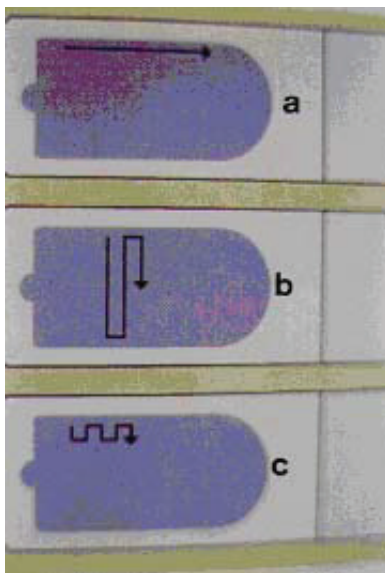


Foto 2 - Deslizamento do “charriot” do microscópio para a leitura e reconhecimento dos leucócitos. A forma aconselhável está representada na lâmina **b**

COLORAÇÃO DAS CÉLULAS

Há vários tipos de corantes hematológicos disponíveis no mercado para serem adquiridos. Esses corantes são compostos por duas misturas, o azul de metileno que fixa os componentes protéicos básicos (ex.: núcleos) e a eosina que revela as proteínas ácidas. Esses dois compostos são as bases para os principais corantes usados na maioria dos laboratórios brasileiros. Entre os corantes hematológicos destacamos o May-Grunwald-Giemsa, o de Wrigth e o de Leishman. Em qualquer dos três corantes há necessidade que sejam tomadas as seguintes precauções: (1) esfregaço totalmente fresco; (2) o pH do tampão fosfato (água tamponada) ajustado (pH 7 a 7.4) e a sua concentração apropriada (0,01M); (3) o tempo de coloração adequadamente padronizado. Quando o pH do tampão do corante está abaixo de 7.0 os componentes basófilos não se coram adequadamente, os leucócitos ficam pálidos e o esfregaço adquire coloração com tons vermelhos. Quando o pH está acima de 7.5 há excesso de coloração, com dificuldade de caracterizar os eritrócitos policromáticos e o esfregaço tem cor azul escuro.

CONTAGENS MANUAIS E ELETRÔNICAS DOS ERITRÓCITOS, LEUCÓCITOS E PLAQUETAS.

As contagens manuais e eletrônicas requerem necessariamente diluições precisas. A **contagem manual**, que na realidade é microscópica, é feita por meio de uma lâmina apropriada conhecida por câmara de Neubauer, cujas cavidades milimétricas associadas a cálculos de correção do sangue diluído, permitem expressar os valores em milhares (para leucócitos) e milhões (para eritrócitos) por milímetro cúbico de sangue. A contagem manual de eritrócitos é

desaconselhada quando há muitos hemogramas para serem avaliados. Nesses casos aumentam as possibilidades de erros na contagem devido principalmente ao cansaço óptico de quem as realiza. Para essas situações sugere-se a contagem de eritrócitos quando o paciente está com a hemoglobina diminuída. Para aqueles com hemoglobina e hematócrito normais, a contagem de eritrócitos pode ser dispensada – a não ser quando há solicitação médica. Por outro lado, a contagem manual de leucócitos, quando efetuada por pessoas bem treinadas, é confiável.

Atualmente, o mercado de equipamentos laboratoriais oferece **contadores eletrônicos** de células do sangue que avaliam de três parâmetros (eritrócitos, leucócitos e hemoglobina) até 40 ou mais parâmetros. Essas contagens podem ser efetuadas por impedância de um ou de múltiplos canais, até a medida de células por fluxo dirigido (citometria de fluxo). Na impedância o contador avalia os eritrócitos, leucócitos e plaquetas por meio de um sensor, enquanto que na citometria de fluxo há uma combinação de impedância e dispersão da luz laser. O fluxo se refere ao direcionamento específico para eritrócitos, leucócitos e plaquetas, dirigidos hidrodinamicamente para passarem em fila única através do feixe laser.

Obviamente as contagens eletrônicas são mais precisas e tecnologicamente mais informativas. Entretanto, se faz necessário a calibração periódica, checagem diária de valores conhecidos, suporte elétrico estável (estabilização da corrente elétrica) e manutenção técnica.

Atualmente há contadores eletrônicos que fornecem além dos resultados globais dos eritrócitos, leucócitos e plaquetas, a avaliação específica dos leucócitos com a determinação numérica dos neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos. E há também contadores que diferenciam e quantificam os linfócitos B e T, e sub-tipos de linfócitos T (CD4 e CD8) por meio de imunofenotipagem associada à citometria de fluxo.

A escolha por um desses dois meios de contagens de células (manual ou eletrônica) deve levar em consideração a viabilidade econômica e o volume de análise por dia. Para laboratórios pequenos que desejam substituir a contagem manual pela eletrônica há boas opções de equipamentos com três e cinco parâmetros. Para laboratórios médios

(com número superior a 50 hemogramas por dia) sugere-se equipamentos mais robustos com 7 a 20 parâmetros e que elaboram também a avaliação específica dos leucócitos. Para laboratórios em que a rotina de hemograma apresenta movimento diário superior a cem amostras, sugere-se equipamentos especiais com capacidade para analisar entre 90 a 120 exames por hora. É importante ressaltar que a contagem específica de leucócitos efetuada por vários tipos de contadores de células automatizados carecem de confiabilidade. Aconselha-se comparar as contagens específicas automatizadas com as efetuadas em microscópios.

EMIÇÃO DE RESULTADOS E COMENTÁRIOS TÉCNICOS

A emissão de resultados é uma das principais partes do trabalho da hematologia laboratorial. A exposição dos resultados deve ser clara, acompanhada dos valores de referências específicos para a idade, ou faixa etária e sexo (tabelas 1 e 2). Os valores de referência podem ser expostos no laudo dos resultados integralmente como nas tabelas 1 e 2, ficando a cargo do médico a identificação dos valores referenciais para o seu paciente, ou então o laboratorista destaca com caneta marcadora a coluna dos valores referenciais, específica para a faixa etária do paciente. Com a utilização de informática em laboratórios, a faixa etária pode ser destacada das tabelas 1 e 2 conforme a idade do paciente e assim facilitar a interpretação, por exemplo:

Paciente: C.G.P.
Médico: Dr. A.N.
Registro: 23594

Sexo: F
Coleta: 02/02/07
Idade: 69.00

Liberação: 04/02/07

HEMATOLOGIA

ERITROGRAMA

| Análise | Resultados | Padrão para sexo e idade |
|-----------------------------|------------|--------------------------|
| Eritrócitos ($10^{12}/L$) | 4.1 | 4.0 a 5.4 |
| Hemoglobina (g/dL) | 12.4 | 11.3 a 16.3 |
| Hematócrito (%) | 37 | 36 a 48 |
| VCM (fL) | 90 | 77 a 92 |
| HCM (pg) | 30 | 27 a 32 |
| CHCM (g/dL) | 33 | 30 a 35 |

Morfologia Eritrocitária: Normocitose, Normocromia

Comentário: Valores normais

LEUCOGRAMA

| Análise | Resultados | Padrão para sexo e idade |
|-----------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | (%)(x1000/mm ³) | (%)(x1000/mm ³) |
| Leucócitos total | 3.8 | 4.0 a 11.0 |
| Neutrófilo Bastonete | 4 0.15 | 2 a 4 0.1 a 0.4 |
| Neutrófilo Segmentado | 39 1.48 | 36 a 66 2.0 a 7.5 |
| Eosinófilo | 8 0.30 | 2 a 4 0.1 a 0.4 |
| Basófilo | 0 0.00 | 0 a 1 0.0 a 0.1 |
| Linfócito | 41 1.56 | 25 a 45 1.5 a 4.0 |
| Monócito | 8 0.30 | 2 a 10 0.2 a 1.5 |

Morfologia Leucocitária: Células conservadas

Comentário: Discreta leucopenia, Eosinofilia relativa, Neutropenia absoluta

Plaquetas: Granulares: 380.000 / mm³

Como se observa nesse exemplo, os resultados do hemograma foram impressos numa única folha, com valores referenciais para a idade (69 anos) e sexo (feminino), fatos que facilitam a interpretação pelo médico.

Há muitos laboratórios que imprimem os resultados da série vermelha em folha separada ao da série branca. O único inconveniente é o volume de papéis e o tempo dispendido para a sua confecção.

A inclusão ou não do comentário técnico nos resultados do hemograma é uma opção de cada laboratório, pois para interpretar o resultado laboratorial o profissional deve ter conhecimento sobre o assunto. Por ex.: A série vermelha apresentou valores abaixo do referencial normal nos exames de eritrócitos, hematócrito e hemoglobina, com índices hematimétricos (HCM, VCM e CHCM) normais, alterações morfológicas dos eritrócitos com anisocitose (células normocíticas e microcíticas) e anisocromia (normocromia e discreta hipocromia). Há aparelhos que fornecem o índice RDW que indica a média calculada das superfícies celulares de eritrócitos microcíticos, normocíticos e macrocíticos. Valores alterados de RDW indica, anisocitose, entretanto sua melhor análise é feita em conjunto com o valor de VCM do paciente. Exemplos iguais a esse serão abordados no capítulo 3 desse manual. Outro problema da inclusão ou não da conclusão dos resultados está na dependência da sua aceitação pelos médicos que usam o serviço do seu laboratório. Há médicos que não aceitam o comentário laboratorial nos exames solicitados, pois argumentam que para isso é necessário conhecer o estado (ou situação) clínica do paciente. Sob esse ponto de vista o laboratório deve evitar o confronto, pois se trata de posição estabelecida por formação profissional e assim os resultados devem incluir apenas os valores numéricos e a avaliação qualitativa da morfologia celular.

Os papéis contendo os resultados dos exames devem ser colocados em envelope lacrado, ou fechado com selo do laboratório. Os médicos, em geral, não aceitam que os resultados sejam avaliados inicialmente pelo paciente, pois podem tirar conclusões erradas e às vezes absurdas dos resultados. Caso o laboratório funcione dentro do hospital

não há necessidade de envelope e nesses casos costuma-se dobrar e grampear a folha contendo os exames, com os resultados na parte interna do papel.

VALORES DE REFERÊNCIA NO HEMOGRAMA

A interpretação do resultado de qualquer exame laboratorial requer que se avalie se o resultado é normal ou não. **Normal** significa que os resultados estão dentro dos parâmetros de normalidade (valores padrões) para sexo e idade. Assim, os valores de referência no hemograma e em outros testes laboratoriais são obtidos por meio de critérios definidos, oriundos de uma população clinicamente sadia que incluiu indivíduos que participaram desses critérios. Os valores de referência são os resultados dos exames feitos nos indivíduos de referência e obtidos estatisticamente dentro de limites que estabelecem a média, a mediana e a moda. A mediana revela numa curva de distribuição dos resultados os valores acima e abaixo da média. A moda indica os valores mais freqüentes da distribuição. Desses cálculos se obtém os valores normais que se distribuem numa faixa de normalidade, estabelecidos por valores normais mínimos e máximos, conforme podem ser apreciados nas tabelas 1 e 2. É importante destacar que para cada índice avaliado (ex.: contagem de eritrócitos, dosagem de hemoglobina, hematócrito, etc.) há unidades específicas que indicam a sua referência em relação ao espaço ocupado, conforme se segue nos quadros 1 e 2.

Quadro 1

| Índice | Unidade | Prefixo | Símbolo | Múltiplo |
|---------------|--------------------|------------|---------|------------|
| Eritrócitos * | $\times 10^{12}/L$ | litro | L | 1 |
| Hemoglobina | g/dL | decilitro | dL | 10^{-1} |
| Hematócrito | % | - | - | - |
| HCM ** | pg | picograma | pg | 10^{-12} |
| VCM ** | fL | fentolitro | fL | 10^{-15} |
| CHCM ** | g/dL | decilitro | dL | 10^{-1} |
| RDW ** | % | - | - | - |

** HCM (Hemoglobina Corpuscula Média), VCM (Volume Corpuscular Médio), CHCM (Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média), RDW (Distribuição da Amplitude dos Eritrócitos).

* Em muitos laboratórios ainda se usa a avaliação quantitativa de eritrócitos em milhões/ mm^3 (ex.: 5.000.000/ mm^3). Atualmente o convencional é por litro, entretanto devido ao número excessivo de zeros a representação é dada da seguinte forma: $5,0 \times 10^{12}/L$.

Quadro 2

| No caso do leucograma as avaliações quantitativas também obedecem as mesmas regras de índice e unidade, conforme se segue: | | | | |
|--|-----------------|---------|---------|----------|
| Índice | Unidade | Prefixo | Símbolo | Múltiplo |
| Leucócitos totais* | $\times 10^9/L$ | litro | L | 1 |
| Neutrófilo Absoluto | $\times 10^9/L$ | litro | L | 1 |
| Neutrófilo Relativo | % | - | - | - |

* ou $\times 1000/\text{mm}^3$

Para determinados exames há variações de acordo com idade, sexo ou origem étnica; por exemplo, em gestantes o hemograma sofre variações determinadas por situações fisiológicas (cansaço, esforço) e podem se agravar em situações patológicas (anemias carenciais). A tabela 3 indica algumas situações que alteram os resultados do hemograma.

A diferença do volume sanguíneo entre adultos do sexo masculino e sexo feminino se deve ao fato de que no homem há em média 75ml de sangue (plasma + células) por quilo de peso, enquanto na mulher é 65ml/kg peso. Assim, um homem com 60 quilos tem cerca de 4,5 litros de sangue e uma mulher com 60 quilos tem 3,9 litros, conforme representação abaixo:

| | Homem | Mulher |
|-------------------|---------|---------|
| Volume de Plasma | 40ml/Kg | 37ml/Kg |
| Volume de Células | 35ml/Kg | 28ml/Kg |
| Total | 75ml/Kg | 65ml/kg |

TABELA 1 - Valores mínimos e máximos dos valores eritrocitários, conforme a faixa etária e sexos masculino e feminino em adultos obtidos na região de São José do Rio Preto, SP.

| Eritrograma | RN* | 1 a 11 meses | 1 a 2 anos | 3 a 10 anos | 10 a 15 anos | Adulto** masc. | Adulto** fem. |
|-------------|----------|-----------------|---------------|----------------|-----------------|-------------------|------------------|
| Eritrócitos | 5.2 | 4.0 – 4.9 | 4.0 – 5.1 | 4.0 – 5.1 | 4.0 – 5.1 | 4.5 – 6.1 | 4.0 – 5.4 |
| Hemoglobina | 17.0 | 10.5 - 12.5 | 10.5 - 13.0 | 11.5 – 14.5 | 11.5 – 14.5 | 12.5 - 16.5 | 11.5 - 15.5 |
| Hematócrito | 52.0 | 33 – 41 | 33 – 41 | 34 – 42 | 34 – 42 | 40 – 54 | 36 – 48 |
| HCM | 27 – 31 | 25 – 29 | 25 – 29 | 26 – 29 | 26 – 29 | 27 – 29 | 27 – 29 |
| VCM | 80 – 100 | 75 – 90 | 75 – 90 | 77 – 90 | 77 – 90 | 77 – 92 | 77 – 92 |
| CHCM | 30 – 35 | 30 – 35 | 30 – 35 | 30 – 35 | 30 – 35 | 30 – 35 | 30 – 35 |
| RDW | 10 - 15 | 10 - 15 | 10 – 15 | 10 - 15 | 10 - 15 | 10 - 15 | 10 - 15 |

* Valores médios

** O termo adulto nesse caso é considerado quando os níveis hormonais estão bem estabelecidos e a massa corporal bem definida, geralmente acima dos 15 anos.

TABELA 2 - Valores mínimos e máximos dos valores globais (contagem absoluta) e específicos (contagem percentual) de leucócitos obtidos na região de São José do Rio Preto, SP.

| Leucócitos | 1 a 3 anos | | 4 a 14 anos | | Acima de 14 anos | |
|-------------------|------------|------------|-------------|------------|------------------|------------|
| | % | absoluta** | % | absoluta** | % | absoluta** |
| Leucócitos Totais | — — | 5.0 – 15.0 | — — | 4.5 – 13.5 | — — | 4.0 – 11.0 |
| N. Bastonete * | 2 - 8 | 0.1 – 0.6 | 2 - 4 | 0.1 – 0.4 | 2 - 4 | 0.1 – 0.4 |
| N. Segmentado * | 20 - 40 | 2.0 – 6.0 | 35 - 55 | 2.0 – 6.0 | 36 - 66 | 2.0 – 7.5 |
| Eosinófilo | 4 - 10 | 0.2 – 1.5 | 4 - 8 | 0.3 – 1.0 | 2 - 4 | 0.1 – 0.4 |
| Basófilo | 0 - 1 | 0.0 – 0.1 | 0 - 1 | 0.0 – 0.1 | 0 - 1 | 0.0 – 0.1 |
| Linfócito | 40 - 60 | 2.0 – 8.0 | 30 - 55 | 1.5 – 6.5 | 25 - 45 | 1.5 – 4.0 |
| Monócito | 4 - 10 | 0.2 – 1.5 | 4 - 10 | 0.2 – 1.0 | 2 - 10 | 0.2 – 0.8 |

* N: Neutrófilo

** : $\times 10^9/L$ ou $\times 1000/mm^3$

TABELA 3 – Situações mais conhecidas e comuns que alteram os resultados do hemograma.

| | |
|--------------------------|--|
| Recém-nascidos | - Elevação do hematócrito e hemoglobina. |
| Coleta de sangue capilar | - Leucocitose discreta. - Plaquetopenia. Elevação de Hb. |
| Posição do braço | - Eritrograma com valores mais elevados quando o braço está no nível do coração. |
| Uso do Garrote | - Aplicação prolongada do garrote eleva discretamente os valores do eritrograma. |
| Anticoagulante | - Anticoagulante líquido pode reduzir os valores de eritrócitos e leucócitos, especialmente quando o volume de sangue coletado está abaixo de 2ml. |
| Exercícios Físicos | - Leucocitose; neutrofilia e linfocitose absolutas. |
| Gravidez | - Leucocitose, neutrofilia e monocitose. |
| Menopausa | - Diminui os valores de leucócitos e neutrófilos. |
| Tabagismo | - Aumento dos valores do eritrograma, neutrofilia e monocitose. |

Várias influências são admitidas como normais quando estabelecidas previamente, como são os casos de etnia, altitude, idade e sexo. **Etnia:** o número de leucócitos em negros é menor que em brancos. **Altitude:** os valores da eritrograma são mais elevados em pessoas que vivem em regiões altas (acima de 3.000 metros). **Idade:** os valores normais em recém-nascidos, lactentes e crianças variam entre si e diferem amplamente dos encontrados nos adultos. **Sexo:** os valores do eritrograma estão mais elevados em homens que em mulheres após a adolescência. As mulheres em idade reprodutiva têm leucócitos em maior número que nos homens. Na menopausa os valores de leucócitos diminuem. Assim, ao analisar o hemograma é importante que se conheça a idade, tipo de trabalho e local de moradia (cidade, bairro). A importância de se conhecer a cidade e o bairro se deve ao fato de poder avaliá-lo em relação ao saneamento básico. Há bairros que não tem rede de esgoto e de tratamento de água e essas situações podem determinar leucocitoses ou leucopenias, bem como eosinofilias “inexplicadas”. Quando houver suspeita de anemia é importante saber a origem racial ou étnica. Por exemplo, entre descendentes de africanos destaca-se maior prevalência de anemia falciforme, enquanto entre descendentes de italianos, gregos e sírio-libaneses e cipriotas sobressai a talassemia tipo beta.

CAPÍTULO 2

SÉRIE VERMELHA

A série vermelha quantitativa é avaliada por meio da contagem de eritrócitos (CE), dosagem da hemoglobina (Hb) e hematócrito (Ht). Desses três valores se obtém três índices hematimétricos: Hemoglobina Corpuscular Média (HCM), Volume Corpuscular Médio (VCM) e a Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM). Apesar dos valores relativos à contagem de eritrócitos, dosagem de hemoglobina e hematócrito variarem com a idade e com o sexo na fase adulta, os índices hematimétricos se mantêm constantes na maior parte das faixas etárias e entre os sexos masculino e feminino (tabela 1).

A Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) se obtém pela aplicação da seguinte fórmula:

$$HCM = \frac{Hb(g/dL) \times 10}{CE (10^{12})/L} = pg \text{ (picograma)}$$

Exemplo: C.E.: $5,6 \times 10^{12}/L$ e Hb = 15,8g/dL

$$HCM = \frac{15,8 \times 10}{5,6} = 28,2 pg$$

O Volume Corpuscular Médio (VCM) é calculado da seguinte fórmula:

$$VCM = \frac{Ht \times 10}{CE (10^{12})/L} = fL \text{ (fentolitro)}$$

Exemplo: C.E.: $5,6 \times 10^{12}/L$ e Ht = 52%

$$VCM = \frac{52 \times 10}{5,6} = 92,8/L$$

A concentração da Hemoglobina Corpuscular Média é calculada pela aplicação da fórmula abaixo:

$$CHCM = \frac{Hb(g/dL) \times 100}{HT (\%) } = dL$$

Exemplo: Hb 15,8g/dL e Ht: 52%

$$CHCM = \frac{15,8 \times 100}{52} = 30,3g/dL$$

A série vermelha qualitativa é avaliada por meio de análise citológica da morfologia eritrocitária, como se verá no capítulo 3. Porém a análise final dos resultados referentes à série vermelha deve ser em conjunto, caso contrário podem ocorrer erros graves que depõem contra a credibilidade do laboratório. Para exemplificar o que foi dito acima, tomemos como exemplo o eritrograma de uma mulher adulta em que o laboratório “adultera” os resultados da série vermelha, tendo por base apenas o valor do hematócrito e desse se obtém, por cálculos

“mágicos”, a contagem de eritrócitos e a dosagem de hemoglobina, como se segue abaixo:

| | |
|-------------------------------------|--|
| Hematócrito “de fato”: | 36% |
| Hemoglobina adulterada: | $36 \times 3,5$ (fator de adulteração) $= 12,6\text{g/dL}$ |
| Contagem adulterada de eritrócitos: | $36 + 4$ (fator de adulteração) $= 4,0 \times 10^{12}/\text{L}$ |

Assim, essa pessoa, apresentou os seguintes resultados adulterados:

| | | |
|-------------------------|---|----------------------------|
| Contagem de eritrócitos | = | $4,0 \times 10^2/\text{L}$ |
| Dosagem de hemoglobina | = | $12,6\% \text{ g/dL}$ |
| Hematócrito | = | 36% |
| HCM | = | 31,5 pg |
| VCM | = | 90 fL |
| CHCM | = | 35 g/dL |

Como se observa, os resultados adulterados estão normais para os padrões de adulto feminino (ver tabela 1). Entretanto, a mulher desse exemplo se queixava de cansaço, dores nas pernas e discreta palidez. O médico, diante de tanta insistência, sugeriu que a mulher procurasse outro laboratório, onde foram repetidas a contagem dos eritrócitos, a dosagem da hemoglobina e o hematócrito. Dos resultados obtidos somente coincidiu o valor do hematócrito: 36%; os outros resultados foram os seguintes:

| | | |
|-------------------------|---|---------------------|
| Contagem de eritrócitos | = | $5,0 \times 10^2/L$ |
| Dosagem de hemoglobina | = | 11,1% g/dL |
| Hematócrito | = | 36% |
| HCM | = | 22 pg |
| VCM | = | 72 fL |
| CHCM | = | 30 g/dL |

Na análise desse último eritrograma, a mulher apresenta anemia microcítica e hipocrômica com VCM e HCM diminuídos, respectivamente (ver tabela 1). Evidentemente haverá alterações morfológicas dos eritrócitos na análise citológica. E agora? Como fica a credibilidade do laboratório que adultera resultados?

Diante do exposto fica evidenciado a necessidade de se realizar as análises da série vermelha de forma completa. Entretanto, há laboratórios que ainda não possuem contadores eletrônicos para células do sangue e se sabe que a contagem de eritrócitos em câmara de Neubauer é passível de erros, especialmente quando a rotina laboratorial é volumosa. Nesse caso específico, aconselha-se a dosar a hemoglobina e avaliar o hematócrito, uma vez que se define anemia pela diminuição da hemoglobina, além de realizar avaliação cuidadosa da morfologia eritrocitária. Os resultados liberados devem conter apenas as análises efetuadas, que nesse caso foram: hematócrito, hemoglobina, o cálculo de CHCM e a morfologia eritrocitária. Mesmo assim, para laboratórios não automatizados é fundamental a contagem eritrocitária em câmara de Neubauer para pacientes com suspeita de anemia.

Por fim, os aparelhos mais sofisticados para contagem de células do sangue incluem para a série vermelha um novo índice hematimétrico além dos três já citados, o RDW, cuja tradução significa (amplitude da distribuição dos eritrócitos). Esse índice é extraído pelo aparelho eletrônico da população de células contadas e que se distribuem dentro do padrão da curva de Gauss, ou distribuição gaussiana, expressando um valor variável de 11 a 15%. Valores superiores a 15% indicam que os eritrócitos têm morfologia heterogênea, ou

anisocitose. Há ainda muita controvérsia em se estabelecer relações entre valores RDW e alterações eritrocitárias que causam anemia, pois há muita subjetividade que também pode comprometer o diagnóstico laboratorial. Por isso se recomenda sempre a análise citológica dos eritrócitos (ver capítulo 3) em que as morfologias específicas de algumas alterações celulares podem auxiliar os diagnósticos de vários tipos de anemias. Apesar disso o quadro abaixo em que se relacionam valores de RDW e VCM pode auxiliar a expectativa que se terá numa análise citológica dos eritrócitos.

Quadro 3 – Relação entre VCM e RDW para constatação de normocitose, microcitose e macrocitose.

| RDW | VCM | | |
|--------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | NORMAL | DIMINUÍDO | AUMENTADO |
| NORMAL | Normocitose Homogênea | Microcitose Homogênea | Macrocitose Homogênea |
| ALTO | Normocitose Heterogênea | Microcitose Heterogênea | Macrocitose Heterogênea |

DOSAGEM DA HEMOGLOBINA

O método sugerido pelo Comitê Internacional de Hematologia para dosagem da hemoglobina é o da **cianometaemoglobina**. Esse método apresenta três importantes vantagens: a) a hemoglobina, a metaemoglobina e a carboxiemoglobina são convertidas em cianometaemoglobina, sendo todas incluídas na determinação; b) facilidade de obter padrões para calibração; c) a

cianometaemoglobina tem uma faixa de absorbância de 540nm, podendo ler a densidade óptica tanto em espectrofotômetro de faixa estreita como em fotômetro ou colorimento, com filtro verde-amarelo.

O método de referência exige a adição de um diluente que contenha: a) cianeto e ferricianeto de potássio, para conversão em metaemoglobina (líquido de Drabkin); b) fosfato de potássio hidrogenado para baixar o pH, acelerar a reação e permitir a leitura da absorbância após 3 minutos de reação; c) um detergente não-iônico para acelerar a hemólise e reduzir a turvação, incluindo a precipitação das lipoproteínas do estroma (proteínas de membrana) dos eritrócitos. O branco utilizado pode ser a água ou o próprio diluente.

Outros métodos que utilizam ázida sódica, ou sulfato lauril-sódio quase não são utilizados.

A dosagem de hemoglobina deve ser expressa em g/L (massa por volume) ou em mol/L (concentração molar), entretanto o usual em quase todos os laboratórios é expressar a Hb em g/dL ou g/100ml.

HEMATÓCRITO

O hematócrito corresponde ao volume ocupado pelos eritrócitos numa coluna de sangue centrifugado. Inicialmente, o termo real de “hematócrito” se deveu ao método original de Wintrobe que requeria 1ml de sangue colocado em tubo especial de vidro e submetido à centrifugação de 1500rpm por 30 a 60 minutos. Depois esse teste foi substituído pelo micro-hematócrito que é rápido, eficiente e necessita de pouco sangue. O micro-hematócrito separa a coluna de sangue em eritrócitos e plasma, com uma pequena camada de leucócitos e plaquetas (buffy coat) que se acomodam sobre a coluna de eritrócitos. A obtenção dessa separação se faz por meio da centrifugação dos tubos por 5 a 10 minutos em alta rotação (entre 10.000 a 15.000 rpm). A leitura é realizada usando uma escala apropriada que determina a porcentagem da coluna de eritrócitos em relação ao volume total de sangue. Alguns fatores

podem afetar o resultado do micro-hematócrito, conforme mostra a tabela 4.

TABELA 4 – Fatores que reduzem ou aumentam o micro-hematócrito.

| Fatores que Reduzem | Fatores que Aumentam |
|---------------------------------|-------------------------------|
| Solução anticoagulante de EDTA* | |
| Maior tempo de centrifugação | Menor tempo de centrifugação |
| Rotação acima de 15.000 rpm | Rotação inferior a 10.000 rpm |
| Tubos mais estreitos | |

* em proporção aumentada com relação ao volume do sangue no tubo.

CONTAGEM DE RETICULÓCITOS

Os reticulócitos são eritrócitos jovens, recém liberados pela medula óssea e que ainda contém RNA ribossômico. Os esfregaços ou células não fixadas pelos corantes (Giemsa, Wright, etc) ao serem tratados com o corante azul de crezil brilhante ou o novo azul de metileno, permitem que o RNA ribossômico dos reticulócitos seja corado. A identificação do reticulócito é variável desde um mínimo de dois ou três grumos (grânulos de RNA) até um volumoso grumo na célula (figura 1).

Geralmente contam-se os reticulócitos em relação a 100 eritrócitos.

Para essa contagem estimam-se quantos eritrócitos estão num campo microscópico e, entre esses, quantos reticulócitos podem ser contados. Normalmente contam-se dez campos microscópicos. Em esfregaços finos e homogêneos o número de eritrócitos por

campo varia entre 250 e 300 células. Por exemplo, em dez campos obteve-se a contagem de 2.500 eritrócitos e foram contados 18 reticulócitos. Estabelece-se que 2.500 eritrócitos correspondem a 100% do conjunto celular avaliado, e assim aplica-se a regra de três simples:

2.500 eritrócitos ————— 100%

18 reticulócitos ————— X

$$X = \frac{18 \times 100}{2500} = 0,7\% \text{ reticulócitos}$$

O número normal para reticulócitos, independente do sexo, idade ou etnia, varia de 0,5 a 2%. O aumento de reticulócitos (acima de 2%) é indicativo de eritropoiese aumentada. O aumento da eritropoiese se verifica nas anemias hemolíticas – devido reposição constante dos eritrócitos precocemente retirados da circulação e na resposta do tratamento de anemias não hemolíticas. A diminuição ocorre em anemias hipoproliferativas (p. ex.: ferropriva, megaloblástica, etc) e na anemia aplástica. Entretanto, quando o paciente a ser analisado padece de anemia, é importante que seja realizada a **correção da contagem de reticulócitos** usando a seguinte fórmula:

| |
|---|
| $\text{Contagem corrigida de reticulócito} = \% \text{ reticulócitos X } \frac{\text{hematócrito paciente}}{\text{hematócrito normal}}$ |
|---|

O valor considerado para hematócrito normal é 40% para mulher e 45% para homem.

Exemplo de contagem corrigida em homem com 38% de hematócrito e 0,7% de reticulócitos: CCR = $0,7 \times 38/45 = 0,59\%$

Valores acima de 2,0 nessa contagem corrigida são considerados elevados.

A interpretação da contagem percentual de reticulócitos estabelece que resultados elevados indicam que a medula óssea está sob estímulo da eritropoiese. Entretanto, o estímulo é dependente do grau de anemia, ou seja, numa pessoa com hematócrito de 45%, o reticulócito demora um dia no sangue periférico para se transformar em eritrócito. Em pessoas com hematócritos de 35%, 25% ou 15%, o reticulócito demora 1,5 dia, 2 dias e 2,5 dias, respectivamente, para se transformar em eritrócitos no sangue periférico. Há assim uma avaliação que se denomina por **índice de produção de reticulócitos (IPR)**, cuja fórmula é a seguinte:

$$\text{IPR} = \frac{\text{contagem corrigida de reticulócitos}}{\text{tempo de maturação em dias}}$$

A interpretação desse teste é importante para o acompanhamento de um paciente sob controle terapêutico, sendo, portanto, específico para cada pessoa. A pessoa sem anemia tem a maturação média de reticulócitos por volta de 3,5 dias na medula óssea e um dia no sangue periférico. Quando há aumento da eritropoiese como resposta a um processo anêmico ou terapêutico, o tempo de vida dessas células no sangue periférico aumenta, fato que caracteriza a reticulocitose. Nesses casos, há liberação de grande número de reticulócitos da medula para o sangue periférico e essas células são macrocíticas, visualizadas com discreta policromasia na análise do esfregaço.

ELETROFORESE DE HEMOGLOBINAS

A eletroforese de hemoglobinas é um teste laboratorial muito útil na detecção e identificação de hemoglobinas normais, anormais e talassemias.

Tecnicamente a eletroforese é realizada num pequeno aparelho conhecido por cuba de eletroforese que contém dois compartimentos separados e eletricamente diferenciados em pólo positivo e pólo negativo. A voltagem é regulável ou ajustável entre zero e 300 volts. A polaridade é estabelecida pela colocação de solução tampão com pH e concentração de sais bem definidos, em cada um dos compartimentos. A amostra que se deseja analisar é depositada num “suporte” de gel de agarose ou de acetato de celulose, com uma de suas extremidades mergulhada no pólo negativo e outra no positivo. Estabelece-se assim uma corrente elétrica do pólo negativo em direção ao positivo (quando o tampão tem pH acima de 8,0). Dessa forma, proteínas carregadas mais negativamente se movem em direção ao pólo positivo, enquanto que as com cargas positivas se movem para o pólo negativo. Pelo fato da hemoglobina ser um pigmento vermelho é possível acompanhar seu desenvolvimento no suporte durante a corrida eletroforética. Para obter a hemoglobina é necessário hemolisar os eritrócitos com saponina a 1%, ou por meio da mistura de água, clorofórmio e centrifugação de eritrócitos previamente lavados com solução de NaCl 0,8%.

A separação eletroforética permite diferenciar dois tipos de hemoglobinas normais, a Hb A com concentração variável de 96 a 98%, e a Hb A₂ com 2,0 a 4,0%. Uma outra fração, a Hb Fetal, comum na fase fetal e após o nascimento até os seis meses de vida, somente será visualizada se estiver acima de 1%, uma vez que sua concentração é próxima de zero (tabela 5). O portador de hemoglobinas normais é identificado por HbAA (figura 2).

TABELA 5 – Hemoglobinas normais na fase fetal e em diferentes faixas etárias.

| | Fase Fetal | 0 – 6 meses | 6 meses a 1 ano | Acima de 1 ano |
|-------------------|------------|-------------|-----------------|----------------|
| Hb A | Traços | 80 – 95% | 90 – 95% | 96 a 98% |
| Hb A ₂ | Ausente | traços | 2 a 3,5% | 2 a 4,0% |
| Hb Fetal | 90 – 100% | 5 – 20% | 0 a 5% | 0 a 1% |

As hemoglobinas anormais também são conhecidas por **variantes** das hemoglobinas normais devido a troca de um aminoácido por outro diferente. Geralmente essa troca altera a carga elétrica da hemoglobina, causando a sua separação por eletroforese (figura 2). As hemoglobinas variantes podem estar associadas à Hb A, situação genética caracterizada por heterozigose, p. ex.: Hb AS. A Hb S é uma variante cuja homozigose (Hb SS) causa a anemia falciforme. Assim a herança que é do tipo mendeliana, pode ocorrer conforme o tipo de cruzamento entre um casal de portadores de Hb AS (figura 2). Outras hemoglobinas variantes são identificadas na nossa população por ex.: Hb C (Hb AC, Hb CC), associação entre Hb S e Hb C, ou Hb SC que causa doença falciforme, Hb AJ, etc (figura 2).

As talassemias se devem a um defeito no controle quantitativo da Hb A e dessa forma é possível identificá-las pelo aumento da Hb A₂ (> 4% até 7%), geralmente associada à **talassemia beta menor** ou **heterozigota** e presença de anemia microcítica e hipocrômica de grau leve (figura 3). Quando a diminuição da produção de Hb A é intensa observa-se anemia grave com hipocromia acentuadíssima, Hb Fetal elevada entre 20 e 80% do total da concentração de hemoglobina, fato geralmente indicativo de **talassemia beta maior**. Um outro tipo de talassemia se identifica pela presença de uma hemoglobina anormal, a Hb H, que caracteriza a **talassemia alfa**. A talassemia alfa pode ser imperceptível (talassemia mínima), mas também pode apresentar graus variáveis de anemias entre discreto a acentuado. Informações detalhadas poderão ser obtidas no capítulo 3.

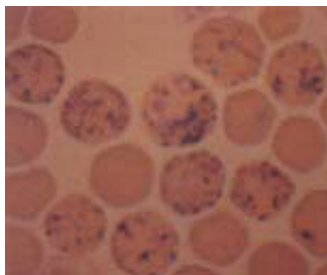


Figura 1 - Reticulócitos em sangue periférico de paciente com anemia hemolítica grave. **Reticulocitose**

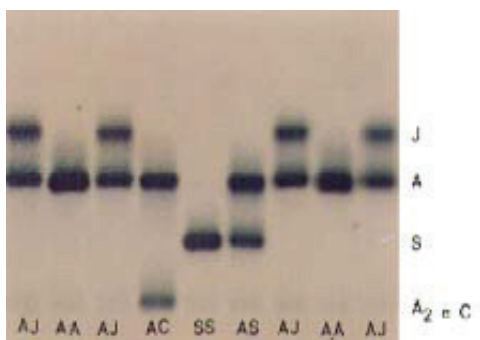


Figura 2 - Separação eletroforética de hemoglobinas.

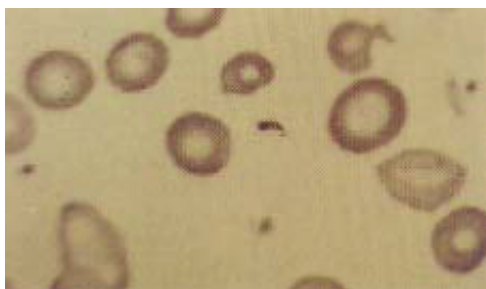


Figura 3 - Alterações morfológicas de eritrócitos na talassemia beta menor. Observar micrócitos e esquisócitos.

TESTE DE FRAGILIDADE OSMÓTICA

O teste de fragilidade osmótica mede a intensidade de hemólise dos eritrócitos submetidos às soluções de NaCl em concentrações que variam de 0,1% a 0,9%.

Os eritrócitos normais, que não tem defeitos na constituição protéica da membrana eritrocitária, apresentam graus de hemólises que se intensificam à medida que diminui a concentração de NaCl, conforme mostra o exemplo abaixo na tabela 6.

TABELA 6

| % NaCl | % de hemólise em eritrócitos normais | % de hemólise na esferocitose |
|--------|--------------------------------------|-------------------------------|
| 0,9 | 0 | 0 |
| 0,8 | 0 | 0 |
| 0,7 | 0 | 0 a 5 |
| 0,6 | 0 | 5 a 10 |
| 0,5 | 0 a 6 | 10 a 50 |
| 0,4 | 5 a 50 | 80 a 100 |
| 0,3 | 97 a 100 | 100 |
| 0,2 | 100 | 100 |
| 0,1 | 100 | 100 |

Conforme pode ser observado, o teste de fragilidade é um teste específico para a **esferocitose** (ou anemia esferocítica) e também para a **eliptocitose** ou ovalocitose, que são alterações da morfologia eritrocitária causadas por anormalidades hereditárias na constituição protéica das membranas dos eritrócitos.

O teste de fragilidade osmótica pode ser realizado de forma direta ou induzida. Na forma direta, o sangue deve ser coletado preferencialmente com anticoagulante heparina (pode ser também o EDTA-K₂) e colocado equitativamente nos tubos com as diferentes concentrações de NaCl variáveis de 0,1% a 0,9%, homogeneizado e deixado em repouso por 10 a 30 minutos, após o que é centrifugado. O sobrenadante de cada tubo é lido espectrofotometricamente em 540nm para obter o valor de hemólise. Na forma induzida, o sangue é colocado equitativamente nos tubos com diferentes concentrações de NaCl e adiciona-se glicose a 1% em cada um deles. A seguir os tubos são incubados a 37°C por duas horas, centrifugados e o sobrenadante é lido também espectrofotometricamente para avaliar o grau de hemólise.

Assim, os resultados são expressos em porcentagens de hemólise e colocados sob forma de um gráfico, também conhecido como curva de fragilidade osmótica, onde se relaciona ponto por ponto, o grau de hemólise com a concentração de NaCl.

O teste de fragilidade osmótica também é conhecido por teste de resistência globular osmótica, cuja interpretação tem um significado oposto, ou seja, quando o eritrócito é osmoticamente mais frágil ele é obviamente menos resistente.

DOSAGENS DE FERRO E FERRITINA

O ferro orgânico é o Fe⁺⁺ (ou estado ferroso), obtido pela alimentação e também pela reutilização proveniente de hemoglobinas que se degradaram com a morte de eritrócitos. Normalmente cerca de 66% do ferro total do corpo (2.000 a 2.500mg) está ligado à hemoglobina circulante, 30% (800 a 1.500mg) em órgãos e células que estocam ferro (fígado, principalmente) e 3 a 5% na mioglobina. Traços de ferro são encontrados em determinadas enzimas. Somente cerca de 3mg estão ligados à transferrina na

circulação, mas essa quantidade é substituída ou perdida várias vezes ao dia. A avaliação quantitativa de ferro pode ser obtida pela medida de ferro sérico saturado, da capacidade total de ligação do ferro (CTLFe) e da concentração de ferritina. A tabela 7 apresenta os valores normais da quantidade de ferro sérico e capacidade de ligação, em três unidades diferentes. Além disso, com os valores de ferro sérico e CTLFe possível obter a saturação da transferrina, aplicando a seguinte fórmula: $\frac{\text{ferro sérico} \times 100}{\text{CTLFe}} = \% \text{ de saturação}$.

CTLFe

O valor de normalidade para saturação da transferência varia entre 20 a 45%. Abaixo de 20% indica ferropenia e acima de 45% indica sobrecarga de ferro.

TABELA 7 – Valores de ferro sérico e capacidade total de ligação do ferro em pessoas saudáveis, utilizando três unidades diferentes.

| | mg/L | m mol/Litro | ug/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 e em algumas doenças crônicas e nas hipoproteinemias. Estão elevados na hemocromatose, nas anemias hemolíticas, após múltiplas transfusões e, frequentemente, na anemia perniciosa.

A capacidade total de ligação do ferro está aumentada na anemia por deficiência de ferro e na gravidez, diminuída nas 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. O nível de ferritina está diminuído na deficiência de ferro e elevado em pacientes com sobrecarga de ferro causada por hemocromatose primária e secundária, essa última devido principalmente aos processos

hipertransfusionalis como o que ocorre na talassemia beta maior. O aumento da ferritina sérica pode ocorrer também nas doenças hepáticas, nas doenças malignas e nas infecções.

Os valores normais de ferritina diferem entre populações, idade e sexo, conforme a relação abaixo.

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

A tabela 8 resume as principais patologias relacionados às alterações de ferro, CTLFe e saturação transferrina

Tabela 8 - Status de ferro e patologias.

| Patologias | Ferro | CTLFe | Saturação |
|----------------------|--------------|--------------|------------------|
| Deficiência de Ferro | D | A | D |
| Infecções Crônicas | D | D | D |
| Neoplasias | D | D | D |
| Menstruação | D | N | D |
| Gestação | D | A | D |
| Hepatite | A | A | A/N |
| Nefrose | D | D | A |
| Talassemia | A | D | A |

CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO TÉCNICA DA SÉRIE VERMELHA

MORFOLOGIA NORMAL E ANORMAL DOS ERITRÓCITOS

A morfologia normal dos eritrócitos analisada por microscopia óptica em esfregaço corado é uniformemente discóide. Quando a análise microscópica se procede “in vivo”, em gota fina sob lamínula ou na câmara de contagem, em aumento de 400x, é possível observar com clareza sua forma bicôncava.

O eritrócito é uma célula com 8 μ m de diâmetro, espessura periférica de 2,5 μ m e central de 1mm, a superfície total é de 160 μ m² e o volume de 90 μ m³. O peso é de 30 x 10⁻¹⁴g. Esses valores variam entre 5 e 10% das células normais. A cor dos eritrócitos “in vivo” é amarela. Alguns fenômenos naturais podem ser observados nos eritrócitos, entre os quais destacam-se:

- 1. Roleaux:** são formações de eritrócitos dispostos como se fossem moedas empilhadas devido ao significativo aumento de imunoglobulina, como ocorre em processos infecciosos e em doenças

neoplásicas, notadamente na hiperparaproteinemias (ex.: mieloma múltiplo).

2. Aglutinação: ocorre quando há altos títulos de anticorpos antieritrocitários (ex.: transfusão incompatível do sistema ABO).

3. Deformabilidade: situação normal observada “in vivo” no microscópio (análise em câmara de Neubauer ou em gota fina sob lamínula).

A função principal dos eritrócitos é o transporte de oxigênio dos pulmões para as células do organismo e do dióxido de carbono no sentido contrário. Na circulação do sangue periférico atuam cerca de 25 trilhões 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 decompõem por lise na circulação, entretanto a destruição efetiva ocorre no sistema reticuloendotelial, principalmente do baço, seguido do fígado e medula óssea, onde os macrófagos exercem a fagocitose.

A forma e a flexibilidade normais dos eritrócitos dependem da integridade da composição química e morfológica da célula (citoesqueleto), bem como da sua membrana. O aparecimento de uma forma anômala pode resultar de um defeito primário do citoesqueleto ou da membrana, ou ser secundário à fragmentação ou à polimerização, cristalização e precipitação da hemoglobina. Por outro lado, a membrana do eritrócito é constituída por dupla camada lipídica, atravessada por várias proteínas transmembrana, sendo as mais importantes a proteína 3 e as glicoforinas. A principal proteína do citoesqueleto é a espectrina, que se liga à anquirina e à proteína 3 da membrana. Essas interações promovem a formação de uma textura específica capaz de suportar a intensa flexibilidade do eritrócito durante seu período médio de vida.

Certos termos usados para descrever a morfologia das células do sangue requerem definição (Quadro 3). Para descrever as células que apresentam morfologia normal, são utilizados dois adjetivos: (a) **normocítico**, que significa que as células são de tamanho normal e (b) **normocrômico**, com significado de que as células contêm quantidade normal de hemoglobina, corando-se, portanto, normalmente. Outros termos descritivos da morfologia eritrocitária (ex.: microcítico, anisocitose, etc.) pressupõem que a morfologia é anormal. Há entretanto, uma situação em que o eritrócito é macrocítico, porém é normal; essa situação ocorre nos recém-nascidos cujos eritrócitos são normalmente maiores que os observados em pessoas com idade acima de 1 mês de vida.

De uma forma geral, a morfologia dos eritrócitos, **mesmo que normais**, deve ser descrita no eritrograma.

Os eritrócitos anormais se devem às alterações no tamanho pela presença de **microcitose** ou de **macrocitose**, ou de ambas conjuntamente. Quando se encontram eritrócitos de tamanhos normais juntamente com micrócitos, ou com macrócitos, denomina-se esse achado por **anisocitose**. Ao descrever no eritrograma a presença de anisocitose é importante destacar se há ou não predominância dos eritrócitos alterados, p. ex.: “Anisocitose associada à discreta microcitose”. Por outro lado, em situações de anemias multicarenciais por deficiências conjuntas de ferro e folatos, é possível observar na análise do esfregaço a presença de eritrócitos microcíticos e macrocíticos caracterizando a **anisocitose dimórfica**. Para esses casos é fundamental para o médico a informação de forma clara e completa, que poderia ser assim exposta: “Anisocitose eritrocitária dimórfica pela presença de micrócitos e macrócitos”. Para se ter idéia da importância em relatar a presença da microcitose e da macrocitose, consulte as tabelas 9 e 10 sobre as causas principais dessas alterações. É importante destacar que às vezes se usa o termo dimorfismo para presença de normocitose e microcitose, entretanto os autores sugerem para esse caso o uso do termo **anisocitose**, reservando a palavra **dimorfismo eritrocitário** somente nas associações de duas populações patológicas, ou seja microcitose e macrocitose.

QUADRO 3 – TERMINOLOGIA HEMATOLÓGICA

Prefixos e Sufixos comuns do Grego e Latim usados no vocabulário hematológico

| Prefixos | Significados |
|-------------------|--------------------------------|
| a - / an | falta, sem, ausente, diminuído |
| aniso - | desigual |
| cito - | célula |
| dis - | anormal, ruim |
| eritro - | vermelho |
| hemo - / hemato - | pertinente a sangue |
| hipo - | abaixo, deficiente |
| hiper - | acima, aumentado |
| iso - | igual |
| leuco - | branco |
| macro - | grande |
| mega - | muito grande, gigante |
| meta - | mudança |
| micro - | pequeno |
| mielo - | da medula |
| pan - | todos, global |
| poiquilo - | variado, irregular |
| poli - | muitos |
| esquiso - | partido, desintegrado |
| trombo - | coágulo |
| - cito | célula |
| - emia | sangue |
| - fílico | atraído, afinidade para |
| - ite | inflamação |
| - lise | destruição |
| - oma | tumor, inchaço |
| - opatia | doença |
| - ose | aumento anormal, doença |
| - penia | deficiência |
| - poiese | formação com desenvolvimento |
| - poietina | produção estimulada |

TABELA 9 – Algumas causas da microcitose ou presença de eritrócitos microcíticos.

Formas herdadas

- Talassemia alfa
- Talassemia beta
- Interações entre talassemia alfa/beta
- Interação entre:
 - Tal. alfa / Hb S
 - Tal. alfa / Hb C
 - Tal. beta / Hb S
 - Tal. beta / Hb C
- Hb Lepore (fusão de globinas delta/beta)
- Anemia sideroblástica congênita
- Atransferrinemia
- Deficiência de ferroquelatase

Formas adquiridas

- Deficiência de ferro
- Anemia das doenças crônicas
- Síndromes mielodisplásicas
- Anemia sideroblástica adquirida
- Hipertireoidismo
- Intoxicações pelo chumbo, cádmio e alumínio
- Anticorpo contra receptor de transferrina de eritroblasto

TABELA 10 – Algumas causas da macrocitose ou presença de eritrócitos macrocíticos.

| |
|--|
| <p>Associada à reticulocitose</p> <ul style="list-style-type: none"> - Anemia hemolítica - Hemorragia |
| <p>Associada à eritropoiese megaloblástica</p> <ul style="list-style-type: none"> - Deficiência de vit. B₁₂ - Deficiência de ácido fólico - Uso de drogas anti-fólicas, metotrexato, pentamidina, pirimetamina e trimetopim - Escorbuto - Drogas antineoplásicas e imunossupressoras |
| <p>Associadas à eritropoiese megaloblástica e macronormoblástica</p> <ul style="list-style-type: none"> - Síndromes mielodisplásicas - Síndrome de Di Guglielmo - Algumas leucemias mielóides agudas - Mieloma múltiplo - Ingestão orgânica de álcool (alcoolismo) - Hepatopatias - Terapia com fenantoína - Alguns casos de deficiência de cobre |
| <p>Associadas à eritropoiese macronormoblástica</p> <ul style="list-style-type: none"> - Anemias diseritropoiéticas congênitas - Aplasia eritróide pura congênita (síndrome de Blackfan-Diamond) - Anemia aplástica |
| <p>Mecanismos incertos</p> <ul style="list-style-type: none"> - Tabagismo - Síndrome de Down - Doença obstrutiva crônica das vias aéreas |

Os eritrócitos anormais também decorrem das alterações de suas formas, cujo termo geral designado é **poiquilocitose** ou **pecilocitose**. A poiquilocitose (termo mais usado) é indicativo da presença de células deformadas (esquisócitos), equinócitos, falcizadas, acantócitas, crenadas, estomatócitos, esferócitos, eliptócitos, codócitos (células em alvo), dacriócitos, leptócitos, queratócitos (células mordidas) e megalócitos. A célula **falcizada**, conhecida também por drepanócito se deve exclusivamente à presença da hemoglobina S (Hb S) no interior dos eritrócitos. Quando a célula falcizada tem a forma delgada é possível que esteja no seu estado irreversível, enquanto que na forma de meia-lua admite-se que pode ser do tipo reversível. O **codócito** é também conhecido por **célula em alvo** devido à maior concentração de hemoglobina no centro do eritrócito, porém esse fato se deve à inversão da concavidade da célula para um lado apenas, tomando a forma de “capuz” observável por microscopia eletrônica. O **dacriócito** é o eritrócito em forma de “gota” ou “lágrima”. O **leptócito** é o nome dado ao eritrócito extremamente afinado, com a área central hipocrômica. Os **queratócitos** são eritrócitos desprovidos de uma parte do seu disco e, por isso, com duas pontas que assemelham a “chifre”. O **megalócito** é um eritrócito enorme, com coloração bastante forte sem que seja hipercrômica, pois a concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) é normal. O **esferócito** pode ter tamanho normal ou microcítico. Quando microcítico se denomina por microesferócito. Por microscopia eletrônica observa-se que é uma célula esférica e, porisso, a coloração é sempre hipercrômica, com a concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) quase sempre elevada. A tabela 11 resume todas essas alterações morfológicas dos eritrócitos e as causas mais comuns que induzem as deformações.

TABELA 11 – Alterações morfológicas dos eritrócitos e suas principais causas.

| Denominação Técnica | Significado | Figura | Causas Associadas |
|---------------------|---|--------|--|
| Equinócito | Projeções regulares da superfície, células crenadas | 7 | Uremia. Deficiência de piruvatoquinase. Câncer de estômago. Sangramento de úlcera péptica, pH elevado do corante. Sangue “velho” (2 dias ou mais após a coleta). |
| Acantócito | Projeções irregulares da superfície | 10 | Abetalipoproteinemia. Cirrose hepática e mal absorção. Pós-esplenectomia. Enzimopatias. |
| Estomatócitos | Eritrócitos unicôncavos | 13 | Estomatocitose hereditária. Alcoolismo, cirrose, doenças hepáticas obstrutivas. Eritrócitos com alterações na bomba de Na^+ e K^+ |
| Esferócitos | Eritrócitos esféricos | 16 | Esferocitose hereditária. Anemias hemolíticas. Pós-transfusão. Hb instáveis e Deficiência de G-6PD. Hemólise por diluição aquosa. |
| Esquisócito | Eritrócitos fragmentados | 18 | Anemia hemolítica microangiopática. Vasculite, glomerulonefrite. Válvulas cardíacas (próteses ou patológicas). Queimaduras graves. Hemoglobínúria da marcha. |

| Denominação Técnica | Significado | Figura | Causas Associadas |
|---------------------|--|--------|---|
| Eliptócito | Eritrócito com forma oval | 5 | Eliptocitose hereditária. Anemias mielotísica e mieloblástica. |
| Falciforme | Eritrócitos com forma de foice ou meia-lua | 8 | Doenças falciforme (Hb SS, SC Hb S/talassemia, SD). |
| Codócito | Eritrócitos em alvo | 11 | Doenças obstrutivas do fígado. Hemoglobinopatias AC, SC, CC e talassemias. Deficiência de ferro. Pós-esplenectomia. |
| Dacriócito | Eritrócitos com forma de gota | 14 | Talassemias. Mielofibrose. Metaplasia mielóide |
| Leptócito | Eritrócitos com forma afilada | 17 | Deficiência de ferro. Doenças obstrutivas do fígado. |
| Queratócito | Eritrócito com forma de célula “mordida” ou chifre | 19 | Hemoglobinas instáveis. Deficiência de G-6PD. Válvulas cardíacas (próteses ou patológicas). |
| Megalócito | Eritrócito com grande tamanho e forma oval | 6 | Anemia megaloblástica. |

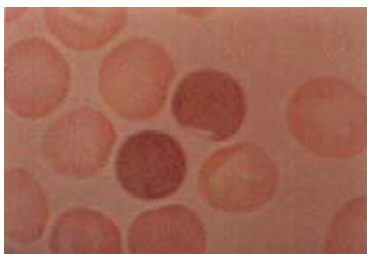


Fig. 4: Policromasia na anemia hemolítica

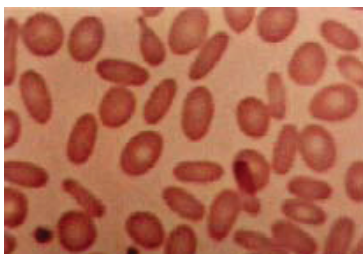


Fig. 5: Elíptócitos na eliptocitose hereditária



Fig. 6: Megalócito na anemia megalobástica

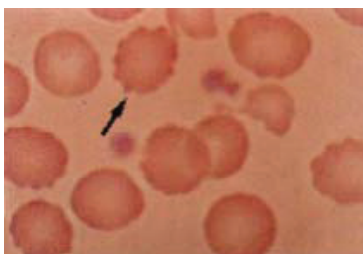


Fig. 7: Equinócitos

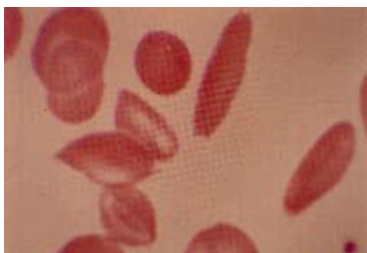


Fig. 8: Células falcizadas na anemia falciforme

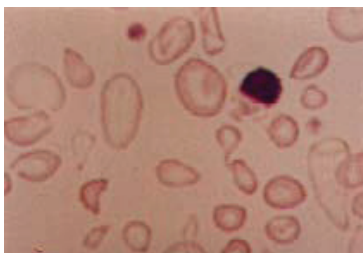


Fig. 9: Aniso-poiquilocitose e hipocromia acentuada na tal. beta maior

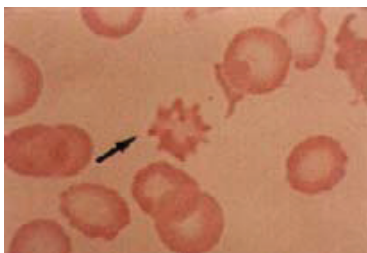


Fig. 10: Acanatócito na deficiência de Piruvato quinase

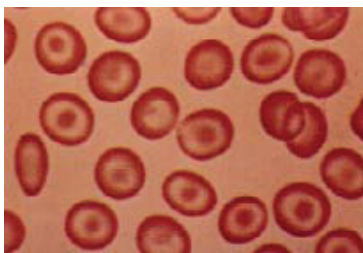


Fig. 11: Células em alvo (codócitos) na Hb CC

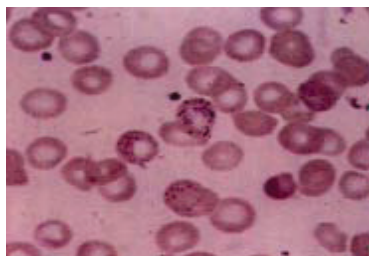


Fig. 12: Pontilhados basófilos na Talassemia beta maior



Fig. 13: Estomatócitos na estomatocitose hereditária

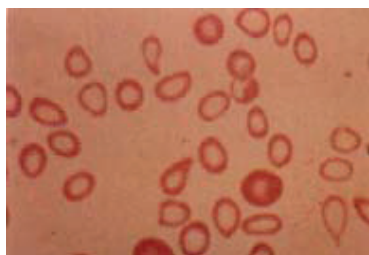


Fig. 14: Dacriócitos na talassemia beta menor

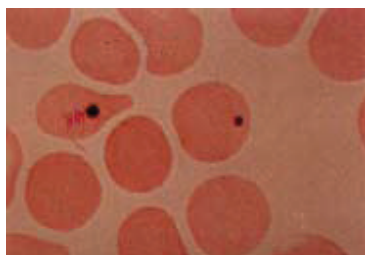


Fig. 15: Corpos de Howell-Jolly em esferócitos

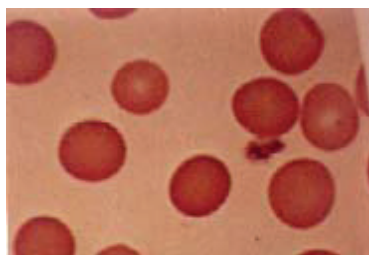


Fig. 16: Esferócitos na esferocitose hereditária

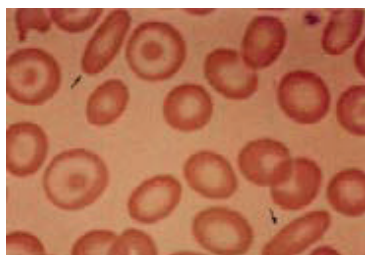


Fig. 17: Leptócitos na anemia ferropriva

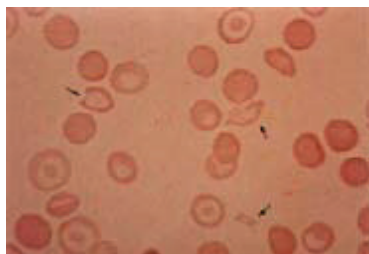


Fig. 18: Esquisócitos na talassemia beta menor

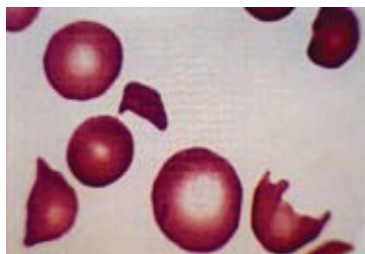


Fig. 19: Queratócitos ou célula mordida na Hb instável

As alterações referentes ao conteúdo da hemoglobina nos eritrócitos e que saem da característica normocrômica se devem basicamente à deficiência de hemoglobina, ou **hipocromia**; ou ao aumento da concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) a **hipercromia**. Por outro lado a hemoglobinizacão anormal do eritrócito pode ter características basofílicas e porisso é conhecida por **policromatofilia**.

A **hipocromia** é a redução da coloração do eritrócito e a palidez central da célula tem intensidade variável. A hipocromia visualizada no esfregaço pode ser generalizada, ou pode afetar apenas um grupo de células (remanescentes de uma anemia que foi tratada com sucesso). Quando a hipocromia é acentuada observa-se além da diminuição da HCM a redução do CHCM. É importante ressaltar que os eritrócitos de crianças sadias são em geral levemente hipocrômicos, quando comparado com adultos. Uma vez que a intensidade da coloração dos eritrócitos é determinada pela espessura da célula, bem como pela concentração de hemoglobina, a hipocromia também pode ser observada em células que são mais delgadas que as normais, mas tem volume e concentração de hemoglobina normais; tais células são os leptócitos (ver tabela 11 e figura 17).

A **hipercromia** é um termo raramente usado na descrição dos esfregaços ou distenções sanguíneas. Ele pode ser aplicado quando as células coram-se com intensidade maior que a normal, como são os casos dos esferócitos (figura 16) e micro-esferócitos da anemia esferocítica – geralmente a CHCM está aumentada. O uso de hipercromia na macrocitose é passível de erro, uma vez que o fato dos macrócitos serem maiores e mais espessos que o eritrócito normal, a luz do microscópio óptico tem maior dificuldade de atravessá-lo e porisso se tem a impressão artefactual de hipercromia.

A **policromatofilia**, ou **policromatocitose**, ou **policromasia** (figura 4) são termos usados para descreverem os eritrócitos que têm coloração róseo-azulada, em consequência da captação simultânea do corante eosina (pela hemoglobina) e dos corantes básicos (pelo RNA ribossômico). Assim, admite-se que os eritrócitos com policromatofilia são imaturos, recém liberados pela medula óssea,

com características de reticulócitos em transformação para eritrócitos. Em condições de estresse hematopoiético transitório por tratamento terapêutico com ferro ou folatos, ou no estresse hematopoiético persistente (anemia hemolítica) quando há altos níveis de eritropoietina, a presença de policromatofilia se torna mais evidente e até acentuada. Esse fato indica eritropoiese em atividade aumentada e geralmente está associada ao aumento do número dos reticulócitos (ver figura 1). Por outro lado, a ausência de policromatofilia e, conseqüentemente, de reticulocitose, em pacientes com anemia hemolítica (doença falciforme; talassemia intermédia, maior ou interativa; esferocitose, etc.), geralmente indica aplasia eritróide induzida por parvovirus.

Outro termo relacionado às alterações referentes à hemoglobinação dos eritrócitos é a **anisocromia**. Anisocromia descreve a variabilidade de eritrócitos que se diferenciam com relação à sua coloração, ou seja, alguns normocrômicos e outros hipocrômicos. A anisocromia indica, portanto, situação de mudança como a que ocorre na anemia ferropriva em tratamento, ou ainda a regressão da anemia de doença crônica. A tabela 12 resume as principais formas de alterações da hemoglobinação eritrocitária. A figura 9 mostra eritrócitos com acentuada hipocromia em um paciente com talassemia beta maior, enquanto que as figuras 14 e 17 destacam as hipocromias na talassemia beta menor e na anemia ferropriva, respectivamente.

TABELA 12 - Principais alterações da hemoglobinação eritrocitária.

| Denominação Técnica | Significado | Alteração Hematimétrica | Causas Principais |
|---------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------------------|
| Hipocromia | Diminuição da hemoglobina | HCM↓ CHCM↓* VCM↓** | Anemias ferroprivas. Talassemias. |

continuação da TABELA 12

| Denominação Técnica | Significado | Alteração Hematimétrica | Causas Principais |
|---------------------|---|-------------------------------------|----------------------------------|
| Hipercromia | Aumento da concentração da hemoglobina | CHCM↑ | Esferocitose Eliptocitose |
| Policromatofilia | Eritrócitos imaturos | VCM↑ ou N RDW↑ Reticulócitos↑ | Estresse hematopoiético. |
| Anisocromia | Duas ou mais populações de eritrócitos normais, hipo ou hiperocrômico | RDW↑ | Resposta a tratamento de anemia. |

(*) em casos graves; (**) geralmente associado à hipocromia. N: Normal

INCLUSÕES NOS ERITRÓCITOS

As inclusões nos eritrócitos são decorrentes de maturação anormal das células (eritroblastos e reticulócitos), intoxicações que afetam a síntese da hemoglobina, alterações genéticas da síntese de hemoglobina, desnaturação da hemoglobina, agregados de ferritina, e presença de microorganismos. As principais inclusões são as seguintes: **Pontilhados basófilo, Anel de Cabot, Corpos de Heinz, Cristais de Hb C, Corpos de Howell-Jolly, Corpos de Pappenheimer, Siderossomos e Microorganismos.** A tabela 13 descreve os principais corpos de inclusões, características celulares e causas principais.

A visualização de corpos de inclusões na análise do esfregaço sanguíneo deve ser relatada com destaque ao grau de intensidade (discreto, moderado ou acentuado).

As figuras 12, 15 e 22 mostram eritrócitos com algumas das inclusões descritas.

TABELA 13 - Corpos de inclusão em eritrócitos.

| Inclusão | Característica Celular | Causas Principais |
|------------------------|--|---|
| Pontilhado Basófilo | Grânulos azuis distribuídos irregularmente | - Intoxicação pelo chumbo. - Talassemia beta menor. |
| Anel de Cabot | Filamento fino em forma de anel | - Anemias graves. - Diseritropoiese. |
| Corpos de Heinz | Precipitados de hemoglobinas desnaturadas | - Hb Instáveis. - Metaemoglobina. - Drogas oxidantes. |
| Cristais de Hb C | Cristais de hemoglobina | - Hb C homozigota. - Hb SC. |
| Corpos de Howell-Jolly | Corpúsculos remanescentes de núcleo | - Anemia. - Esplenectomia. |
| Corpos de Pappenheimer | Complexo protéico ligado ao ferro | - Talassemia maior. - Anemia sideroblástica. |
| Siderossomo | Agregados de ferritina | - Distúrbio da síntese de hemoglobina. |
| Microorganismos | Parasitas, bactérias | - Malária. - Septicemia. |

RESUMO DA ERITROPOIESE

Nas pessoas adultas os eritrócitos são normalmente formados na medula óssea. Esse processo em situação patológica, como nos casos das 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 o ferro, ácido fólico e vitamina B₁₂. A piroxidina e ácido ascórbico também são considerados essenciais. A absorção do ferro é facilitada pelo ácido hidrocloreídrico 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 deles. 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 destruição dos eritrócitos inclui um hormônio, a **eritropoietina**, produzida nos rins. A eritropoietina é uma alfa-globulina cuja síntese está relacionada com a hipoxia celular. Especialmente a hipoxia renal induz a produção e liberação da eritropoietina, que por sua vez acelera a diferenciação da célula tronco mielóide pluripotente ou célula pluripotente primitiva (CPP) para a linhagem específica da célula-mãe eritróide blástica (UFB-E ou unidade formadora de blastos eritróides). Nesse processo que ocorre no sistema hematopoiético da medula óssea, deve ser ressaltado que ao acelerar a diferenciação da célula tronco mielóide pluripotente, outra célula similar deve apenas se dividir (sem se diferenciar) para evitar o esgotamento dessa célula na medula óssea. A regulação da produção de eritrócitos pela eritropoietina depende do consumo de oxigênio tecidual e notadamente da queda do PO₂ 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 di-fosfoglicerato (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 **proeritroblasto (PE)**, **eritroblasto basófilo (EB)**, **eritroblasto policromatófilo (EP)**, e **eritroblasto ortocromático (EO)**, **reticulócito (Ret)** e o eritrócito maduro conforme mostra o gráfico 1. 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 14.

TABELA 14 – Duração aproximada dos diferentes tipos celulares e o crescimento da concentração de hemoglobina durante a gênese eritrocitária.

| Células | Tempo médio em horas | Concentração de Hb μmg |
|------------------------|----------------------|-----------------------------------|
| Proeritroblasto | 20 | 0 – 7 |
| Eritroblasto basófilo | 40 | 7 – 25 |
| Policromático | 24 | 10 – 25 |
| Eritroblasto Acidófilo | 30 | 13 – 25 |
| Reticulócito | 72 | 25 – 30 |
| Eritrócito | 120 dias | 27 – 32 |

A seguir, apresentamos um sumário dos precursores dos eritrócitos caracterizados pelos aspectos morfológicos, organelas, conteúdo de hemoglobina e tempo médio de vida.

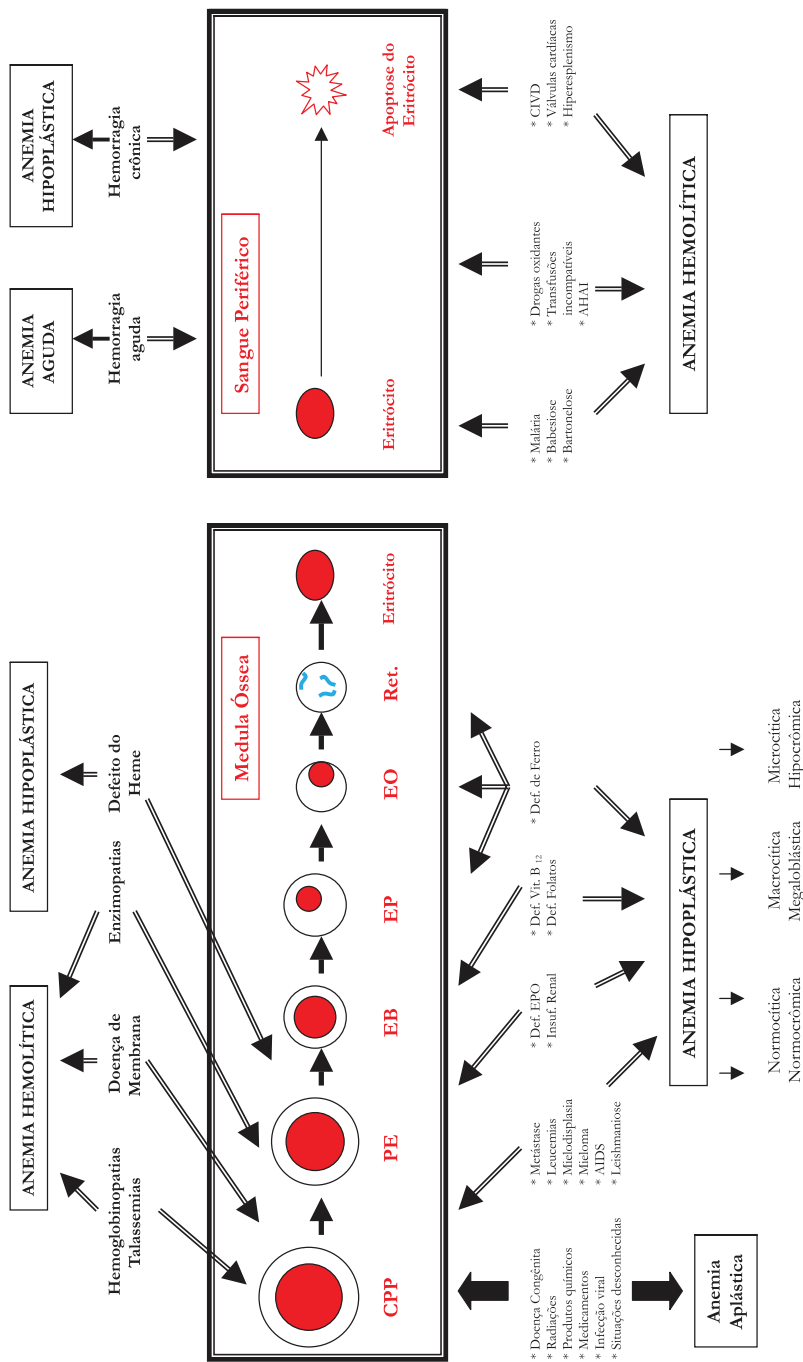


Gráfico 1 – Eritropoiese e situações que a afetam.

Proeritroblasto: é uma célula oval ou circular com diâmetro variável entre 20 e 25µm. 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 caracterizam áreas descoradas que correspondem aos locais em que se encontram os centrosomas, ou pequenas áreas claras onde se localizam as mitocôndrias. 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 7µg).

Cada proeritroblasto, 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 onde a cromatina se distribui homogeneamente em grumos. O fenômeno da mitose é freqüentemente observado nessas células quando por aspiração de sangue da medula óssea. Por microscopia eletrônica avaliam-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 25µg). Por mitose origina o eritroblasto policromatófilo.

Eritroblastos Policromatófilo e Ortocromático: o eritroblasto policromatófilo é uma célula menor que o basófilo e se destaca pela gradativa incorporação da acidofilia no citoplasma promovida pelo aumento da concentração de hemoglobina. O volume do núcleo dessa célula diminui proporcionalmente ao seu grau de envelhecimento, passando de 1/2 em relação ao volume da célula na fase

inicial, para $\frac{1}{4}$ na fase final, caracterizando assim o eritroblasto acidófilo. O tempo de vida do eritroblasto policromático é próximo de 24 horas e a célula sintetiza entre 10 a 25 μmg de hemoglobina.

O eritroblasto ortocromático inicialmente tem o núcleo central que ocupa $\frac{1}{4}$ do volume celular e a medida que vai envelhecendo se torna denso e se desloca para a periferia. Essa célula tem um tempo de vida médio de 30 horas e sintetiza entre 13 a 25 mmg de hemoglobina. A perda do núcleo ocorre por um processo denominado estrusão, que indica perda parcial do núcleo e o restante do núcleo é fagocitado por macrófagos que se dispõem no centro de vários eritroblastos (ilhotas de eritroblastos). 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.

Reticulócito: é a célula resultante da anterior, evidenciada pela perda do núcleo do eritroblasto acidófilo e de suas organelas, em especial as mitocôndrias e os ribossomos. Tem uma duração de 72 horas e capacidade para sintetizar entre 25 a 30 μmg de hemoglobina. O reticulócito contém porções do complexo de Golgi, mitocôndria e um número variável de mono e poliribossomos que contém RNA ribossômico. Moléculas de ferritina estão presentes nessa fase da série eritrocítica e o desaparecimento das organelas é progressivo (ver figura 1).

O reticulócito é uma célula que se caracteriza pela resposta do sistema eritropoiético a um grave “estresse medular”. Assim, seu aumento no sangue se deve ao estímulo da eritropoiese como se observa na anemia aguda e por injeções de substâncias que ativam ou estimulam a eritropoiese, por exemplo: vitamina B₁₂, folatos, ferro, eritropoietina. A fase seguinte ao do reticulócito é a do eritrócito, cujo assunto foi particularizado no início desse capítulo.

SINÓPSE

DAS ANEMIAS

Anemia é uma constatação clínica e laboratorial resultante de uma situação patológica. Define-se a anemia pela diminuição da hemoglobina circulante em comparação com os valores esperados em pessoas saudáveis do mesmo sexo e da mesma faixa etária, sob as mesmas condições ambientais. As causas que induzem a anemia são muito diversas, entretanto as principais se observam **como consequência** de vários tipos de doenças, bem como por alterações próprias da eritropoiese. De uma forma geral essas situações patológicas resultam na redução da síntese de hemoglobina ou na sua degradação precoce. Assim, as principais consequências da anemia podem ser resumidas em dois mecanismos que alteram o comportamento fisiológico normal:

a) o transporte deficitário de oxigênio devido à diminuição do teor da hemoglobina, motivando a diminuição da oxigenação tecidual e induzindo disfunções orgânicas generalizadas.

b) Particularmente nos processos crônicos de anemia o organismo procura se adaptar à situação patológica com evidentes desgastes fisiológicos, especialmente para o sistema cardio-respiratório.

Tomando-se por base apenas a concentração de hemoglobina em gramas por decilitros (g/dL), a literatura científica considera um processo anêmico quando os valores de hemoglobina estão inferior a 13g/dL no homem, 12g/dL na mulher, 11g/dL em gestantes, crianças e adolescentes, e 10,5g/dL em crianças abaixo de 6 anos, conforme mostra a tabela 15.

TABELA 15 – Valores normais para hemoglobinas em diferentes fases do desenvolvimento etário.

| Fases Etárias | Hb (g/dL) (*) |
|------------------------------|---------------|
| Sangue de cordão | 13,0 – 20,0 |
| Primeiro dia de vida | 15,0 – 23,0 |
| Crianças de 6 meses a 6 anos | 10,5 – 14,5 |
| Crianças de 6 anos a 14 anos | 11,5 – 14,5 |
| Homem acima de 14 anos | 12,5 – 16,5 |
| Mulheres acima de 14 anos | 11,5 – 15,5 |

* Obs.: Essas faixas de normalidades variam discretamente entre diferentes laboratórios.

Deve-se ressaltar, porém, que o eritrograma necessita ser avaliado da forma mais completa possível, incluindo a contagem de eritrócitos, dosagem de hemoglobina, hematócrito, índices hematimétricos (VCM, HCM e CHCM), contagem de reticulócitos (em casos de anemias) e o exame do esfregaço sanguíneo. Diga-se a propósito que o exame do esfregaço sanguíneo é parte essencial do eritrograma, pois permite a verificação de anormalidades morfológicas específicas que, de outro modo, não seriam percebidas.

Entre os principais sintomas que acometem as pessoas com anemia destacam-se os seguintes: desânimo, fadiga, cansaço, dores nas pernas, dispnéia, palpitação, angina dor de cabeça, náusea, distúrbio menstrual e perda do libido. Os sinais físicos mais importantes são: palidez, taquicardia, variação na pulsação e insuficiência cardíaca congestiva. Ainda nas anemias graves observam-se discreta proteinúria, alterações das funções renais e febre.

A classificação de anemias pode obedecer vários critérios, dos quais os mais utilizados se baseiam nas alterações fisiopatológicas (tabela 16) e laboratoriais (tabela 17).

TABELA 16 – Classificação das anemias baseada na alteração fisiopatológica.

| |
|---|
| <p>Hemorragica</p> <ul style="list-style-type: none"> - Aguda: sangramentos interno ou externo. - Crônica: sangramento gastrointestinal, urinário ou reprodutivo. - Fetal e Perinatal. |
| <p>Destruição precoce dos eritrócitos</p> <ul style="list-style-type: none"> - Hereditária: Esferocitose, Eliptocitose Enzimopatias Hemoglobinopatias - Adquirida: Isoanticorpos: transfusão, DHRN* Autoanticorpos: idiopática, Secundária a doenças malignas e do colágeno. Indução por drogas e produtos químicos. Traumáticas: queimaduras, válvulas cardíacas. Infecções: bactérias, parasitas, vírus. Hiperesplenismo. Hemoglobinúria paroxística noturna |
| <p>Diminuição da Produção dos Eritrócitos</p> <ul style="list-style-type: none"> - Deficiência nutricional: subnutrição, deficiências de ferro, B₁₂ e folatos. - Deficiência de absorção: diarreia, gastrectomia e síndrome de mal absorção. - Insuficiência medular: anemia aplástica, indução tóxica (drogas químicas e radiações) endócrinas, mielofiose (mielofibrose, mieloma, metástases, leucemias) |

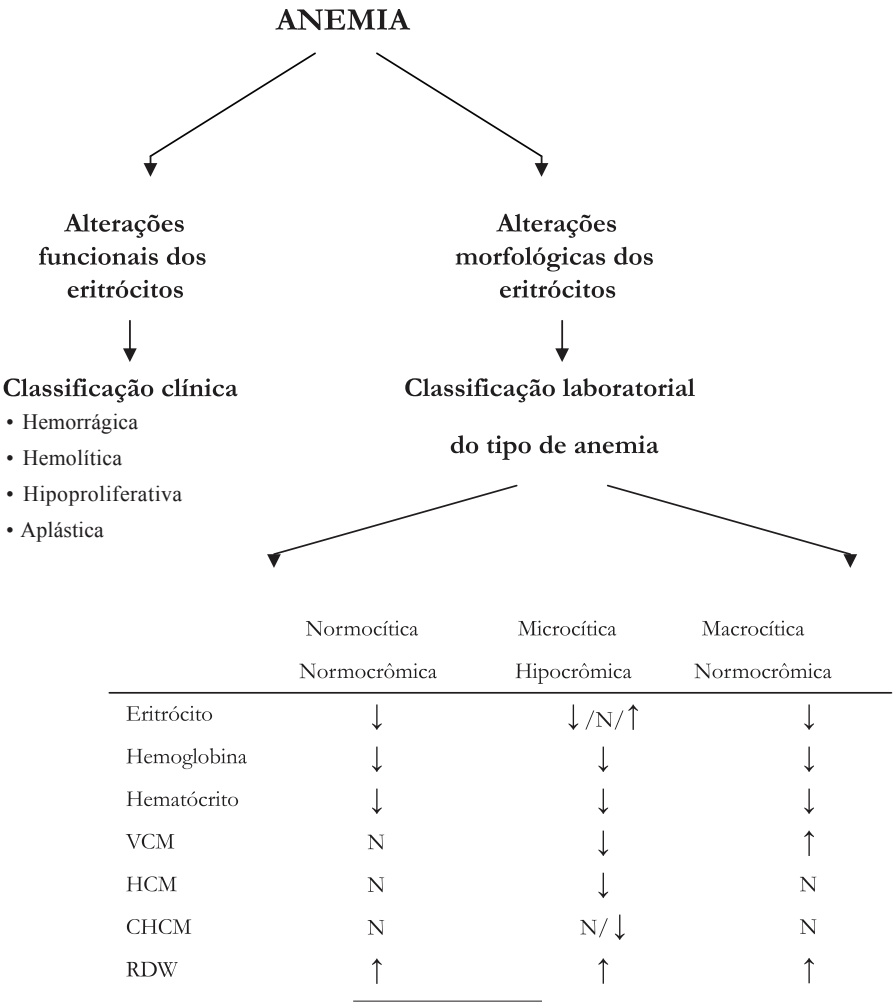
*** Doença Hemolítica do Recém-Nascido**

TABELA 17 – Diagnóstico laboratorial das anemias e suas relações com as causas.

| |
|---|
| Anemia Normocítica e Normocrômica |
| <p>Eritrócitos, Hemoglobina e Hematócrito: Diminuídos VCM e HCM: normais Ocorrência: Anemias Hipoproliferativas: por Doenças da Medula Óssea Doença Renal Inflamações Deficiência de ferro (fase inicial)</p> <p>Anemias Hemolíticas e Hemorrágicas</p> |
| Anemia Microcítica e Hipocrômica |
| <p>Eritrócitos, Normal, Diminuído ou Aumentado. Hemoglobina e Hematócrito: Diminuídos (*) VCM e HCM: Diminuído Ocorrência: Deficiência de ferro crônica Talassemias menor e intermédia Anemia sideroblástica hereditária (*) Eritrócitos elevados, porém microcíticos, é comum na talassemia beta menor</p> |
| Anemia Macrocítica e Normocrômica |
| <p>Eritrócitos, Hemoglobina e Hematócrito: Diminuídos VCM: Aumentado Ocorrência: Deficiência de Vit. B₁₂ ou Ácido Fólico Doenças Intrínsecas da Medula Óssea (Mielofibrose) Quimioterapia Doenças Hepáticas</p> |

As anemias distinguidas por meio das alterações fisiopatológicas se agrupam em três situações distintas: anemias hemorrágicas, anemias por destruição precoce dos eritrócitos (hemólise) e anemias por diminuição da produção dos eritrócitos (hipoproliferação).

Por outro lado, as anemias determinadas por **alterações morfológicas e quantitativas dos eritrócitos** também se resumem a três grupos de anemias: microcítica e hipocrômica, normocítica e normocrômica e, por fim macrocítica e normocrômica. Na realidade esses dois critérios se complementam e a elaboração de um laudo laboratorial seguro e competente está na dependência dos conhecimentos conceituais e da infraestrutura tecnológica disponível para o profissional de laboratório. O diagrama a seguir resume as classificações clínica e laboratorial das anemias.



ANEMIA MICROCÍTICA E HIPOCRÔMICA

A anemia microcítica e hipocrômica se deve basicamente à carência de ferro, alterações no metabolismo do ferro, anemia sideroblástica e síntese desequilibrada entre as cadeias de globinas alfa e beta que causam as talassemias dos tipos alfa e beta, respectivamente.

CARÊNCIA DE FERRO E METABOLISMO ALTERADO DO FERRO

O metabolismo do ferro inicia-se por meio da obtenção externa e de forma limitada do ferro alimentar e uma reutilização eficaz proveniente das fontes internas que o armazenam. Normalmente cerca de 66% do ferro total do corpo (2.000 a 2.500mg) está ligado à hemoglobina circulante; 30% (800 a 1.500mg) em órgãos e células que estocam o ferro sob forma de ferritina (ex: fígado) e 4% na mioglobina. Traços de ferro são encontrados em determinadas enzimas. Somente perto de 3mg estão ligados à transferrina na circulação, mas essa 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 a 60 minutos. Essa 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 1,0mg de ferro é absorvido dos alimentos diariamente. No período menstrual essa quantidade é cerca de 2,0mg, enquanto que na deficiência de ferro, a requisição orgânica 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 armazenado principalmente sob a forma de ferritina.

A alimentação humana pode fornecer diariamente de 10 a 15mg de ferro para o indivíduo adulto de países desenvolvidos. Entretanto, o conteúdo de ferro dos alimentos é muito variável, conforme mostra a tabela 18.

TABELA 18 – 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 leite explica a ocorrência freqüente de deficiência de ferro em lactentes, nos idosos e em algumas populações com alimentação desequilibrada. Por outra parte, as bebidas alcoólicas em geral contém quantidades variáveis e elevadas de ferro, cuja média é da ordem de 10mg por litro, fato que pode explicar em parte a freqüência de hemocromatose na cirrose alcoólica. A tabela 19 apresenta as principais causas da deficiência de ferro.

A avaliação quantitativa de ferro pode ser obtida por meio das dosagens de **ferro sérico**, **saturação de transferrina**, da

capacidade de ligação do ferro, e da concentração de ferritina sérica. A tabela 7 apresenta os valores normais de quantidade de ferro sérico e capacidade de ligação, em três unidades diferentes.

Os valores de ferro sérico estão diminuídos na anemia por deficiência de ferro, nas infecções crônicas e hipoproteinemias; e estão elevados na hemocromatose hereditária, anemia hemolítica, após múltiplas transfusões e na anemia perniciosa. O quadro 4 mostra a relação entre testes laboratoriais de avaliação de ferro e seus resultados em doenças específicas.

A capacidade de ligação do ferro está aumentada na anemia por deficiência de ferro e na gravidez; e diminuída nas infecções crônicas e na hemocromatose.

O nível da ferritina sérica reflete o ferro armazenado no organismo e os valores normais diferem entre populações, idade e sexo. No Brasil, aceita-se os valores expostos na página 40.

O nível de ferritina está diminuído na deficiência de ferro e elevado em pacientes com sobrecarga de ferro causada por hemocromatoses primária e secundária, essa última devido principalmente aos processos hipertransfusoriais como ocorre na talassemia beta maior. O aumento da ferritina sérica pode ocorrer também nas doenças hepáticas, doenças malignas e infecções (Quadro 4).

Um fato que merece destaque é a situação de uma pessoa com anemia ferropriva associada a um processo infeccioso ou inflamatório. Nesse caso a dosagem de ferro sérico pode estar diminuída (devido à anemia ferropriva) e a dosagem de ferritina pode estar elevada (devido à infecção ou inflamação).

Outras informações relativas às alterações de ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro (CTLFe) e saturação da transferrina podem ser vistas na tabela 8 da página 40.

TABELA 19 – Principais causas da deficiência de ferro.

| |
|--|
| HEMORRAGIA |
| <ul style="list-style-type: none">- Gastrointestinal: úlcera, diverticulose, nematódeos, etc.- Pulmonar: hemossiderose pulmonar- Uterina: menorragia, ante e pós-parto- Renal: hematúria, diálise crônica |
| GESTAÇÃO |
| <ul style="list-style-type: none">- Dificuldade de transferir o ferro para o feto |
| HEMOSSIDERINÚRIA |
| <ul style="list-style-type: none">- Hemodiálise crônica- Hemoglobinúria paroxística noturna |
| MAL ABSORÇÃO |
| <ul style="list-style-type: none">- Gastrite crônica- Gastrectomia parcial e total |
| DIETA DEFICIENTE |
| <ul style="list-style-type: none">- Lactação- Qualidade de alimentos ingeridos- Pobreza- Meio ambiente |

Quadro 4 – Testes para confirmar a anemia ferropriva.

| TESTE | RESULTADOS NA DEF. DE FERRO | COMENTÁRIOS EM OUTRAS SITUAÇÕES |
|---------------------------|-----------------------------|--|
| Ferritina | Diminuído | Aumenta nas inflamações e nas hepatopatias |
| Saturação de Transferrina | Diminuído | Diminuído na velhice e doenças crônicas |
| Ferro Sérico | Diminuído | Significantes flutuações nas doenças crônicas |
| CTLFe | Aumentado | Diminui nas anemias de doenças crônicas (Ex.: Câncer) |
| Zinco Protoporfirina | Aumentado | --- |
| Ferro Medular | Diminuído | Investigação útil nos processos invasivos (Ex.: Metástase medular) |
| Receptor de Transferrina | Aumentado | Aumentado nas hemólises |

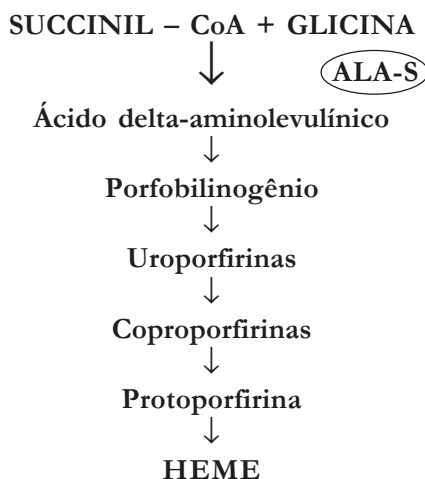
CTLFe: Capacidade total de ligação do ferro.

ANEMIA SIDEROBLÁSTICA

A anemia sideroblástica constitui um grupo heterogêneo de doenças que podem ser hereditárias ou adquiridas e são caracterizadas por anemia, presença de sideroblastos e aumento do estoque de ferro particularmente na medula óssea. Embora a

hipocromia e a microcitose sejam características comuns, observa-se também um quadro citológico dimórfico visualizado pela presença de microcitose, macrocitose, hipocromia, poiquilocitose, eliptocitose e siderócitos. Na medula óssea é possível encontrar a maioria dos normoblastos com ferro corável. A maioria dos pacientes com anemia sideroblástica tem diminuição da atividade da enzima ácido delta-aminolevulínico sintetase (ALA-S). A ALA-S é uma enzima mitocondrial que atua no início da formação do grupo heme (esquema 1). A diminuição do nível de ALA-S prejudica a continuidade da reação e, conseqüentemente, a formação de grupos heme se torna deficiente. Esse fato é a causa principal da não utilização do ferro que seria inserido no grupo heme. O ferro não utilizado pelo grupo heme se precipita no citoplasma dos eritroblastos e se torna visível com corantes específicos, daí a denominação de **sideroblastos** para essas células. Na análise do sangue periférico observam-se muitos eritrócitos microcíticos e hipocrômicos. A tabela 20 resume as principais causas que podem reduzir os níveis de ALA-S e produzir a anemia sideroblástica.

SÍNTESE DO GRUPO HEME



Esquema 1 – Síntese do grupo heme, com destaque à atuação de ALA-S, cuja deficiência é a causa principal da anemia sideroblástica

TABELA 20 – Classificação da anemia sideroblástica.

| HEREDITÁRIA | ADQUIRIDA |
|------------------------|---|
| Ligada ao cromossomo X | Idiopática |
| Autossômica | Associada a mielodisplasia Alcoolismo Drogas (clorofenicol, isoniazida) Deficiência de cobre Intoxicação por chumbo |

TALASSEMIAS

As talassemias são um grupo heterogêneo de doenças genéticas causadas pela redução da síntese de globinas alfa e não-alfa (beta, gama ou delta) que afetam a morfologia do eritrócito (figura 20) e a redução da vida média dessas células. Na realidade as formas mais comuns de talassemias se devem à redução de globina alfa ou de globina beta, situações que originam as talassemias alfa ou beta, respectivamente.

Ocorrências mais raras envolvem a redução da síntese conjunta de globinas delta e beta (talassemia delta/beta), ou de delta, gama e beta simultaneamente (talassemia delta/gama/beta). Em alguns casos de talassemias há redução total de síntese de globina alfa ou de beta, caracterizando as talassemias alfa-zero ou beta-zero. Por outro lado quando a redução de síntese afeta parcialmente os genes alfa ou beta, refere-se por alfa-mais ou beta-mais talassemias.

Pelo fato de a talassemia beta e as hemoglobinas variantes denominadas por Hb S, Hb C e Hb E serem as mais prevalentes respectivamente nos continentes europeu, africano e asiático, não é raro a ocorrência de interações entre talassemias e essas hemoglobinas

variantes: Hb S/Tal. Beta; Hb C/Tal. Beta; HbS/Tal. Alfa; HbC/Tal. Alfa; Hb E/Tal. Beta; Hb E/Tal. Alfa. No Brasil não é raro a presença de talassemias interativas por Hb S/Tal. Beta e Hb S/Tal. Alfa devido a intensa miscigenação racial que ocorre entre nossa população.

A maioria das talassemias obedece ao modelo de herança mendeliana, ou seja, caracterizada pela falta de sintomas clínicos nos heterozigotos e pela gravidade clínica nos homozigotos.

Assim, clinicamente, as talassemias alfa ou beta podem ser classificadas em **mínima**, **menor**, **intermédia** e **maior**, conforme o quadro abaixo.

Talassemia mínima: Geralmente é uma talassemia alfa com um ou dois genes parcialmente reduzidos na sua expressão. O paciente é assintomático, o eritrograma apresenta valores numéricos normais (Hb: 11 a 16g/dL) porém com discreta alteração na morfologia eritrocitária. O diagnóstico laboratorial se faz por meio de eletroforese de hemoglobina em acetato de celulose com tampão de pH alcalino, que revela traços de Hb H com concentrações entre 0,5 e 2,0% (figura 21). A pesquisa intraeritrocitária de Hb H também pode mostrar eritrócitos com precipitados de Hb H (figura 22). A frequência de talassemia mínima na população brasileira varia entre 15 e 30%.

Talassemia menor: Pode ser do tipo alfa ou beta. Em geral o paciente, embora assintomático, manifesta o desconforto do cansaço e dores nas pernas com relativa frequência. O eritrograma revela anemia microcítica e hipocrômica, com valores desproporcionais entre contagem de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito (exemplo: eritrócitos: $5,8 \times 10^{12}$ - L; Hb: 12g/dL; Hematócrito: 36%; VCM: 62; HCM: 20,6). A morfologia eritrocitária apresenta alterações de intensidades variáveis entre leve a moderado, com muitos esquisócitos, dacríócitos e pontilhados basófilos. Quando a talassemia menor se deve ao tipo “**tal. alfa menor**”, a revelação se dá pela presença de Hb H em eletroforese de hemoglobina em acetato de celulose de pH alcalino, com concentrações entre 3 a 8% e muitos precipitados intraeritrocitários de Hb H (figuras 23 e 24). A talassemia alfa menor se deve geralmente a lesões que reduzem

integralmente dois genes alfa (- $\alpha\alpha$ ou α - α -), ou que afetam parcialmente três genes alfa (α α / α α). Na população brasileira a prevalência de talassemia alfa menor é de 3%, em geral. Quando a talassemia menor se deve ao tipo beta “**tal. beta menor**”, a revelação se dá pelo aumento da concentração de Hb A₂ (> 4% a 7%) em 95% dos casos (figura 25). Os 5% dos casos restantes podem ter Hb A₂ com valores normais e elevação de Hb Fetal que apresenta concentração entre 2 a 5%; os valores normais para Hb Fetal é zero a 1% após o sexto mês de idade. A frequência de tal. beta menor no Brasil é, em média, 0,8%.

Talassemia intermédia: Esta é uma classificação clínica, de pacientes que sejam portadores de talassemia alfa ou beta, com manifestações clínicas mais evidentes que as observadas na talassemia menor e menos grave que na talassemia maior. Eventualmente há necessidade do paciente receber transfusão de sangue (uma ou duas vezes ao ano, em geral), com esplenomegalia evidente e anemia microcítica e hipocrômica de grau moderado (Hb: 7 a 10g/dL), muitas vezes com eritroblastos no esfregaço sanguíneo. Esses pacientes necessitam de assistência médica periódica.

Talassemia maior: É a forma mais grave das talassemias. Quando a talassemia maior se deve a lesões nos genes alfa, todos os quatro genes alfa estão integralmente afetados, ou seja, nenhum deles sintetiza globina alfa, e por isso é representado por (- - / - -); para efeito de comparação, pessoas normais sem talassemia alfa tem os quatro alfa ativos ($\alpha\alpha$ / $\alpha\alpha$). Assim, a **talassemia alfa maior** é a forma mais grave de todas as talassemias, pois os reflexos da doença acontecem durante a gestação, com aborto espontâneo, ou então ao nascer a criança apresenta a síndrome hidrópica que não lhe permite a vida (natimorto). A tal. alfa maior (síndrome da hidropsia fetal) é incomum no Brasil, porém é freqüente entre chineses, tailandeses, indonésios (sudeste asiático, em geral). Laboratorialmente o diagnóstico da tal. alfa maior ou síndrome hidrópica é feito por meio de eletroforese de hemoglobina do recém-nascido (ou sangue de cordão) que mostra entre 90 e 100% de uma hemoglobina anormal conhecida por Hb Bart's.

A talassemia maior por lesão no gene beta afeta os dois genes beta (normal: β/β ; **talassemia maior:** β/β ou $\beta/-$; ou $-/-$). O gene beta cortado ao meio indica que ele sintetiza pouca globina beta, enquanto que o traço (-) indica que o gene beta não produz nenhuma globina beta. Por essa razão a talassemia beta maior tem expressões clínicas variáveis entre grave a muito grave, com anemia intensa (Hb: 6g/dL) a muito intensa (Hb: 4g/dL). O paciente com talassemia beta maior requer a necessidade de contínuas transfusões de sangue, medicações e vacinações específicas, além do diagnóstico precoce. Quando todos esses requisitos são obedecidos, a talassemia beta maior evolui moderadamente bem até a idade adulta. O diagnóstico laboratorial se caracteriza por elevação de Hb Fetal entre 20 a 100% e anemia grave com muitos eritroblastos no esfregaço sanguíneo. É sempre muito importante a avaliação laboratorial dos pais e familiares. A prevalência de tal. beta maior no Brasil é de aproximadamente um caso para 40 mil pessoas. A tabela 21 resume as principais alterações laboratoriais encontradas em análises de sangue de pacientes com talassemia beta maior.

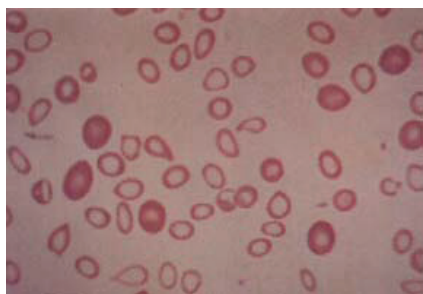


Figura 20 – Esfregaço de sangue periférico de paciente com talassemia beta menor. Aniso-poiquilocitose moderada e hipocromia acentuada. Presença de micrócitos, esquisócitos e dacriócitos. Os macrócitos se devem à presença de reticulocitose.

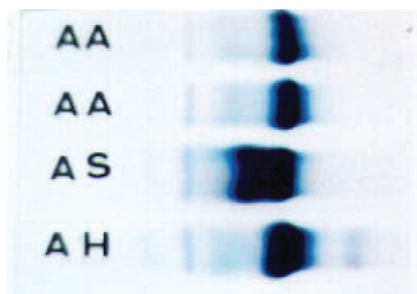


Figura 21 – Eletroforese alcalina (pH 8.6) de hemoglobina em acetato de celulose. A identificação de Hb AH é de um caso de talassemia alfa mínima em que a concentração de Hb H era de 1,8%.

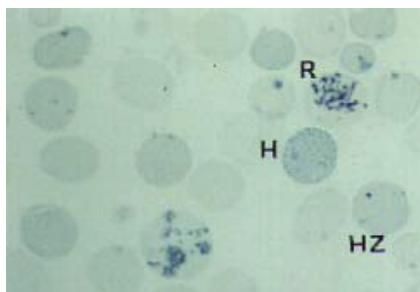
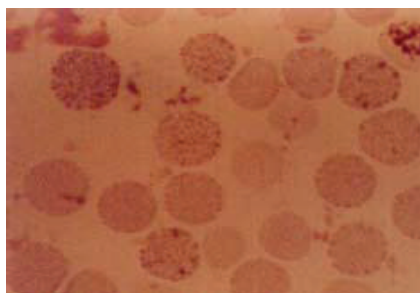


Figura 22 – Esfregaço de sangue incubado com azul de crezil brilhante a 1% para identificar reticulócitos (R), corpos de Heinz (HZ) e Hb H intraeritrocitária (H) na talassemia alfa mínima.



Figura 23 – Eletroforese de hemoglobina na talassemia alfa menor. Da esquerda para a direita: Hb AH; Hb AH; Hb A + Hb Fetal + Hb Bart's (recém-nascido); Hb A + Hb Fetal +



Hb Bart's (RN) e Hb AA (controle normal).

Figura 24 – Microscopia óptica de eritrócitos com precipitações de Hb H na talassemia alfa menor ou doença de Hb H.

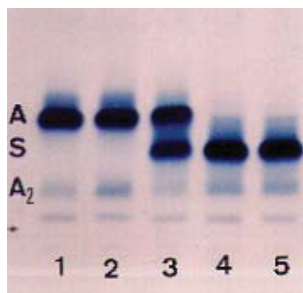


Figura 25 – Eletroforese alcalina (pH 8.6) de hemoglobina. A talassemia beta menor (amostra n° 2) se manifesta eletroforéticamente com o aumento da Hb A₂ (> 4% a 7%) em 95% dos casos dessa alteração hereditária.

- 1) HbAA;
- 2) HbAA₂ aumentado,
- 3) Hs AS;
- 4 e 5) HbSS.

TABELA 21 – Características laboratoriais da talassemia beta maior.

[Hb] Fetal = 10 a 90%

[] Anemia Hemolítica Microcítica e Hipocrômica (Hb < 7g/dL)

[] Morfologia Eritrocitária: Anisocitose – Poiquilocitose
 Células em Alvo – Esferócitos
 Formas Bizarras – Hipocromia
 Células fragmentadas
 Siderócitos – eritroblastos
 Pontilhado Basófilo – Anel de Cabot

[] Reticulócitos: Aumentados

[] Leucócitos: Frequentemente Elevados com Desvio à Esquerda

[] Plaquetas: Normais

[] Ferro Sérico e Capacidade de Transporte: Elevada

[] Ferritina: Elevada

[] LDH Sérico: Elevado

[] Bilirrubina Indireta: Elevada (1 a 3mg/dL)

[] Urobilinogênio na Urina: Elevado

[] Urobilinogênio Fecal: Elevado

[] Sobrevida dos Eritrócitos: Diminuída

[] Fragilidade Osmótica: Diminuída

[] Fragilidade Mecânica: Aumentada

[] Medula Óssea: Hiperplasia das Células Eritróides
 Eritropoiese Ineficaz

TABELA 22 – Exemplos de alterações hematimétricas em anemias microcíticas e hipocrômicas.

| | Ferropênicas | Talassemia Menor | Sideroblástica |
|-----------------------------|-------------------------------|---|---|
| Idade Prevalente | Criança | Todas | Hereditária ou adquirida (> 40 anos) |
| C.E. ($\times 10^{12}/L$) | 4,7 | 5,6 | 3,8 |
| Hb (g/dL) | 11,0 | 11,0 | 10,5 |
| Ht (%) | 34 | 36 | 31 |
| VCM | 73 | 64 | 81 |
| HCM | 23 | 20 | 27 |
| CHCM | 32 | 31 | 33 |
| Morfologia | micro/hipo | micro/hipo | dimórfica |
| Reticulócitos | diminuído | normal | diminuído |
| Ferro | diminuído | normal | aumentado |
| Diagnóstico diferencial | ferro sérico ↓ ferritina ↓ | eletrof. Hb Hb A ₂ ↑* Hb H** | coloração de ferro em eritroblastos (+) |

* - Na talassemia beta menor ; ** - Na talassemia alfa

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS ANEMIAS MICROCÍTICAS E HIPOCRÔMICAS

Muitas vezes o médico de um paciente com anemia microcítica e hipocrômica tem dificuldade em diagnosticar a causa da anemia. Nesses casos o laboratório tem importância no auxílio diagnóstico por meio de exames gerais (hemograma) e específicos, como mostra a tabela 22 e 23. Nessa tabela colocamos as quatro principais causas de anemias microcíticas e hipocrômicas relacionadas com os testes laboratoriais adequados para esse fim.

TABELA 23 - DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS ANEMIAS MICROCÍTICAS/ HIPOCRÔMICAS

| TESTES | DEF. FERRO | INFLAMAÇÕES CRÔNICAS OU MALIGNIDADES | TALASSEMIA ALFA OU BETA | ANEMIA SIDEROBLÁSTICA |
|--------------------|---------------------|--------------------------------------|-------------------------|-----------------------|
| VCM | DIMINUÍDO | DIMINUÍDO | DIMINUÍDO | NORMAL/DIMINUÍDO |
| HCM | DIMINUÍDO | DIMINUÍDO | DIMINUÍDO | DIMINUÍDO |
| FERRO SÉRICO | DIMINUÍDO | DIMINUÍDO | NORMAL | ELEVADO |
| CTLFe | ELEVADO | DIMINUÍDO | NORMAL | NORMAL |
| FERRITINA | DIMINUÍDO | NORMAL/ELEVADO | NORMAL | ELEVADO |
| FERRO MEDULAR | AUSENTE | PRESENTE | PRESENTE | PRESENTE |
| SIDEROBLASTOS | AUSENTE | AUSENTE | AUSENTE | PRESENTE |
| ELETROFORESE DE Hb | NORMAL | NORMAL | Hb A ₂ ↑ * | NORMAL |
| | Hb A ₂ ↓ | | Hb H ** | |

CTLFe - Capacidade total de ligação do ferro; * - Na talassemia beta menor; ** - Na talassemia alfa

ANEMIA NORMOCÍTICA E NORMOCRÔMICA

A anemia normocítica e normocrômica ocorre em muitas situações que envolvem desde doenças malignas, doenças específicas de órgãos, hemorragias e processos hemolíticos.

A contagem de reticulócitos na anemia normocítica e normocrômica geralmente fornece a resposta para avaliar o grau de atividade eritropoiética. Na presença de anemia normocítica e normocrômica, com reticulócitos normais ou diminuídos, sugere-se o exame citológico da medula óssea, que pode apresentar um quadro normal nas doenças crônicas, renal, hepática e endocrinológicas, bem como no início da deficiência de ferro. Quando a medula óssea se mostra hipoplástica, com baixa celularidade e infiltrada por células patológicas, suspeita-se principalmente de leucemia, mielofibrose, mieloma múltiplo e metástase na medula. Por outro lado, a reticulocitose na anemia normocítica e normocrômica ocorre em estados pós-hemorragicos, em processos hemolíticos hereditários devido a alterações da membrana eritrocitária (esferocitose, eliptocitose e estomatocitose), nas enzimopatias, em hemoglobinopatias (doenças falciformes e talassemias), na porfíria eritropoiética e nas hemólises adquiridas, incluindo aqui a hemoglobinúria paroxística noturna. A tabela 24 resume as relações entre valores de reticulócitos nas principais causas de anemia normocítica e normocrômica.

ANEMIA MACROCÍTICA

A anemia macrocítica se deve especialmente à anemia megaloblástica, por deficiência de vitamina B₁₂ e/ou ácido fólico e à

síntese deficiente de DNA. Esse último processo pode ser herdado ou induzido por drogas. Situações não megaloblásticas são observadas no hipotireoidismo, na hipoplasia medular, em doenças hemorrágicas e hemolíticas. De uma forma geral a macrocitose é caracterizada por um aumento do VCM, quase sempre superior a 100fL, enquanto que a saturação da hemoglobina nos eritrócitos é geralmente normal com o CHCM próximo de 35 g/dL. A análise da morfologia eritrocitária evidencia a presença de macrócitos, esquisócitos, macrovalócitos e anisocromia. O aumento do tamanho celular também atinge leucócitos e plaquetas, diminuindo-os na contagem total, com leucopenia moderada e plaquetopenia próxima a $100 \times 10^9/L$ (normal: 150 a $400 \times 10^9/L$). A contagem de reticulócitos é um importante meio para se chegar ao diagnóstico laboratorial, associado ao exame de medula óssea e à história do paciente (tabela 24). A causa mais comum das megaloblastoses se deve à deficiência de vitamina B₁₂ e/ou ácido fólico. Entre outras causas importantes dessa deficiência destacam-se as síndromes da mal absorção devido a:

- **Afecções gástricas**
 - Gastrite atrófica
 - Câncer gástrico
 - Gastrectomia parcial ou total
- **Afecções intestinais**
 - Ressecções extensas
 - Ressecções proximais e distais
 - Estenose
 - Fistulas
 - Diverticulose
 - Esteatorréia
 - Doença celíaca
 - Espru tropical

A carência da utilização de vitamina B₁₂ e ácido fólico pode ser agrupada em redução alimentar e necessidade aumentada, conforme mostra a tabela 25.

TABELA 24 – Diferenciação das causas básicas de anemias por avaliação dos reticulócitos.

| DIFERENCIAÇÃO DAS CAUSAS BÁSICAS DE AVALIAÇÃO POR CONTAGEM DE RETICULÓCITOS | |
|--|--|
| 1. Anemias normocíticas - normocrômicas | |
| com reticulocitose | <ul style="list-style-type: none"> • Hemorragias • Hemólises hereditárias e adquiridas • Leucemia (M.O. anormal) • I.R.C. (M.O. anormal) |
| sem reticulocitose | <ul style="list-style-type: none"> • Hepatopatias (M.O. normal) • Doenças crônicas (M.O. normal) • Início de ferropenia (M.O. normal) |
| 2. Anemias macrocíticas | |
| com reticulocitose | <ul style="list-style-type: none"> • Hemorragia • Hemólises adquiridas e hereditárias • Deficiência de vit. B₁₂ e folatos após tratamento médico |
| sem reticulocitose e medula megaloblástica | <ul style="list-style-type: none"> • Deficiência de vit. B₁₂ e folatos • Distúrbios na síntese do DNA eritroblástico |
| sem reticulocitose e medula não megaloblástica | <ul style="list-style-type: none"> • Hipotireoidismo • Aplasia de medula |

M.O. - Medula Óssea; I.R.C. - Insuficiência Renal Crônica

TABELA 25 – Desequilíbrio em obtenção e necessidade de vitamina B₁₂ e ácido fólico.

| | Redução Alimentar | Necessidade Aumentada |
|--------------------------|---|---|
| Ácido Fólico | Subnutrição Alcoolismo Hábitos culinários | Gravidez Anemia hemolítica Hemoglobinopatias Talassemia Cânceres Leucemias |
| Vitamina B ₁₂ | Idem | Hipotireoidismo |

OUTRAS ANEMIAS IMPORTANTES

Um grupo de anemias incluem as **hemolíticas**, **megaloblásticas** e **aplásticas**. Entre as anemias hemolíticas graves, além da talassemia beta maior (ver tabela 21) destacam-se a doença falciforme, esferocitose e anemias hemolíticas agudas causadas por hemoglobinas instáveis, malária, incompatibilidade de sistema ABO, auto-ímmunes, etc. As formas de anemia megaloblástica agrupam as deficiências específicas de vitamina B₁₂ e ácido fólico e a anemia aplástica por aplasia que envolve as três séries sanguíneas (eritrócitos, leucócitos e plaquetas) ou apenas a série eritróide. É comum designar por pancitopenia quando a aplasia de medula atinge conjuntamente os eritrócitos, leucócitos e plaquetas diminuindo suas quantidades em graus variáveis. Por outro lado, quando a aplasia é específica dos eritrócitos é usada a designação de “aplasia pura da série vermelha” com diminuição grave e específica dos eritrócitos.

ANEMIAS HEMOLÍTICAS

1) **Doença falciforme** – A doença falciforme é um termo usado clinicamente e envolve a **anemia falciforme** que é caracterizada pela herança homozigota da Hb S (ou Hb SS, figura 25, amostras 4 e 5); a **interação da Hb S com talassemias alfa ou beta** (também conhecidas como micro-drepanocitose); a **dupla hemoglobinoase SC**, a **dupla hemoglobinoase SD**; e a associação da Hb S com persistência hereditária da hemoglobina Fetal, ou **Hb S/PHHF**. Todas são muito importantes, com a característica comum da presença predominante de Hb S em eletroforese. A tabela 26 apresenta as principais alterações da morfologia eritrocitária nas diversas formas de doença falciforme diferenciadas pelos seus genótipos, enquanto que a tabela 27 mostra as características laboratoriais exclusivamente da anemia falciforme. É importante destacar que a prevalência da anemia falciforme na população brasileira é de 1 caso para 20 mil pessoas, em média. Entretanto, a forma heterozigota, também conhecida por traço falciforme ou Hb AS (figura 25, amostra 3) é prevalente em 2,1% da nossa população e entre os descendentes de africanos pode chegar a 10%. Felizmente o traço falciforme não causa anemia hemolítica e geralmente o eritrograma é normal, porém pode se tornar potencialmente patológica em portadores de Hb AS submetidos a desoxigenação prolongada (ex.: anestesia geral sem suplementação eficiente de oxigênio; intoxicação com éter, clorofórmio e drogas similares; mergulho prolongado em água fria, altitudes acima de 3000 metros).

TABELA 26 – Alterações da morfologia eritrocitária nos diferentes genótipos das doenças falciformes.

| Genótipo | Alterações da Morfologia Eritrocitária | Hb (g/dL) | VCM (fL) | % Hb S | % Hb Fetal |
|--------------|--|-----------|----------|---------|------------|
| SS | Cf, Cd, Hp, Pc, Eb, Hj | 5 a 9 | N – A | 90 – 98 | 2 – 10 |
| S/tal. Beta | Na, Mc, Pq, Cf, Dc, Cd, Hp, Pc | 7 a 11 | D | 50 – 90 | 5 – 20 |
| S/tal. Alfa* | Na, Mc, Pq, Cf, Hp, Pc | 9 a 11 | D | 80 – 90 | 10 – 20 |
| SC | Na, Pq, Hp, Cd | 9 a 13 | N | 45 – 50 | 1 – 5 |
| SD | Cf, Cd, Pc | 9 a 13 | N | 40 – 50 | 0 – 1 |
| S/PHHF | Na | 12 a 14 | N | 60 – 80 | 15 – 30 |

Cf: células falciformes; Cd: codócitos; Hp: hipocromia; Pc: policromasia; Eb: eritroblastos; Hj: corpos de Howell-Jolly; Na: anisocitose; Mc: microcitose; Pq: poiquilocitose; Dc: dacriócitos; N: normal; D: diminuído; A: aumentado;

*: presença de Hb H (1 a 5% de concentração).

Os valores hematimétricos nas anemias hemolíticas graves são muito variáveis e estão na dependência da causa básica que origina a anemia. Assim, é possível que um paciente com talassemia beta maior e outro com anemia falciforme apresentem o mesmo grau de anemia caracterizado pela concentração da hemoglobina, mas outros índices serão alterados de formas diversas pelas diferentes contagens de eritrócitos e de hematócritos, fator que também são comprovados pela heterogênea avaliação morfológica dos eritrócitos, conforme pode ser verificado na tabela 28. Exames laboratoriais específicos são fundamentais para a conclusão segura do diagnóstico laboratorial.

TABELA 27 – Características laboratoriais da anemia falciforme.

[] Hb S = 90 a 98%

[] Hb Fetal = 2 a 10%

[] Anemia Hemolítica: (Hb = 5 a 9g/dL), com VCM normal

[] Morfologia Eritrocitária: Células Falcizadas – Anisocitose
Poiquilocitose – Eritroblastos
Células em Alvo – Esferócitos
Corpos de Howell – Jolly

[] Reticulócitos: Aumentados (5 a 30%)

[] Aumentados durante as crises; pode ocorrer desvio à esquerda

[] Plaquetas: Aumentadas, com Formas Anormais

[] Fragilidade Osmótica: Diminuída

[] Fragilidade Térmica e Mecânica: Aumentada

[] Bilirrubina Indireta: Elevada (~6mg/dL)

[] Urobilinogênio Urinário: Elevado

[] Urobilinogênio Fecal: Elevado

[] Hematúria: Frequente

[] Ácido Úrico Sérico: Pode estar elevado

[] Fosfatase Alcalina Sérica: Elevada nas crises

[] Medula Óssea: Hiperplasia das Células Eritróides

TABELA 28 – Exemplos de hematemétricos nas anemias hemolíticas graves.

| | Talassemia Beta Maior | Anemia Falciforme | Anemia Hemolítica Aguda a esclarecer |
|-----------------------------|--|---|---|
| Idade prevalente | criança | criança | variável |
| C.E. ($\times 10^{12}/L$) | 1,5 – 3,5 | 2,5 – 3,8 | 1,5 – 4, |
| Hb (g/dL) | 4 – 7 | 5 – 9 | 4 – 10 |
| Ht (%) | 15 – 20 | 18 – 32 | 15 – 32 |
| VCM | normal | normal | variável |
| HCM | diminuído | normal | variável |
| CHCM | diminuído | normal | variável |
| Morfologia | anisocitose poiquilocitose hipocromia eritroblastos | anisocitose poiquilocitose falciformes eritroblastos | anisocitose poiquilocitose esferocitose ovalocitose, etc. |
| Reticulócitos | aumentado | aumentado | aumentado |
| Ferritina | aumentado | variável | variável |
| Exames específicos | eletroforese Hb Hb Fetal ↑↑ | eletroforese Hb Hb Fetal ↑ Hb S > 90% | Coombs Fragilidade osmótica Teste instabilidade corpos de Heinz eletroforese Hb |

2) Esferocitose – A esferocitose é um defeito genético que causa a síntese alterada de importantes proteínas que compõe a membrana dos eritrócitos, destacando entre estas a espectrina e anquirina que causam a herança genética autossômica dominante, enquanto que as deficiências das proteínas Banda 3 e Banda 4.2 são recessivas. Por ser um defeito autossômico dominante, todos os portadores manifestam alterações caracterizadas por anemia hemolítica com intensidade variável de discreta a acentuada. É importante destacar que entre membros de

uma mesma família a intensidade da anemia também é variável devido ao diferente grau de penetrância genética. Além das alterações morfológicas específicas (esferócitos) é comum os eritrócitos serem hipercrômicos, podendo nessas situações causar a elevação da CHCM. A tabela 29 mostra as principais características fisio-patológicas laboratoriais e de prevalência da esferocitose e a tabela 28, na coluna “anemia hemolítica grave a esclarecer”, exemplifica o eritrograma de esferocitose. Para estabelecer o diagnóstico laboratorial da esferocitose é necessário realizar o **teste de fragilidade osmótica** que se mostra com fragilidade aumentada.

3) Eliptocitose – A eliptocitose também é conhecida por ovalocitose e se deve à alteração estrutural da espectrina e Banda 4.1 da membrana eritrocitária. Apesar de geneticamente ser caracterizada como patológica de herança autossômica dominante na deficiência de espectrina, a maioria dos portadores são assintomáticos. Os defeitos da alteração estrutural da membrana são similares ao descrito na esferocitose (tabela 29). Laboratorialmente os heterozigotos assintomáticos podem apresentar valores eritrocitários normais ou com grau leve de anemia. Por outro lado nos homozigotos a anemia é grave e com hemólise e 75% das células eritrocitárias são morfolologicamente elípticas (figura 5). O teste de fragilidade osmótica pode resultar normal ou aumentado nos casos de eliptocitose.

4) Anemias hemolíticas auto-imunes – São anemias causadas pela presença de anticorpos (autoanticorpos) contra os eritrócitos da mesma pessoa. Esses anticorpos se ligam aos eritrócitos e alteram a sua estrutura de reconhecimento imunológico, sendo atacados por monócitos e macrófagos que causam hemólise. O teste de Coombs direto é positivo na maioria dos pacientes com anemia hemolítica auto-imune, entretanto alguns casos podem resultar negativo devido à baixa quantidade de anticorpos ligados à membrana do eritrócito. Laboratorialmente esse tipo de anemia pode ser classificada em anticorpo quente, anticorpo frio e hemoglobinúria paroxística ao frio, conforme mostra a tabela 30.

TABELA 29 – Características gerais da esferocitose hereditária.

| |
|--|
| <p>CAUSA</p> <ul style="list-style-type: none"> · Alterações das proteínas da membrana, p.ex.: deficiência isolada ou conjunta de espectrina e anquirina que causam herança autossômica dominante, ou das proteínas Banda 3 e Banda 4 que são geneticamente recessivas. |
| <p>EFEITOS</p> <ul style="list-style-type: none"> · Diminuição da camada fosfolipídica e alteração da área superficial da membrana. · Facilidade à entrada de sódio, exigindo excesso de energia para expulsá-lo e, assim, manter o equilíbrio. · Perda da capacidade do eritrócito mudar de forma na microcirculação do baço. · Destruição precoce das hemácias. |
| <p>CONSEQUÊNCIAS</p> <ul style="list-style-type: none"> · Anemia hemolítica de discreta a grave. · Icterícia. · Esplenomegalia. · Hepatomegalia e colelitíase (\pm). · Alterações esqueléticas e úlceras nas pernas (\pm). |
| <p>LABORATÓRIO</p> <ul style="list-style-type: none"> · Anemia discreta e moderada. · VCM normal e CHCM normal ou aumentado. · Microesferócitos. · Reticulócitos (5 a 30%). · Leucocitose variável e discreta. · Fragilidade osmótica aumentada (TESTE ESPECÍFICO). |
| <p>FREQUÊNCIA NO BRASIL</p> <p>· A heterozigose da esferocitose é prevalente em um caso para 500 pessoas, enquanto que nos homozigotos é variável de um caso para 30mil a 50mil pessoas. Nos portadores heterozigotos podem ocorrer esplenomegalia variável e nos homozigotos a esplenomegalia é comum.</p> |

TABELA 30 – Principais testes para anemia hemolítica autoimune (AHAI).

| TESTE | Anticorpos Quente | Anticorpos Frio | Hbnúria Paroxística ao Frio |
|-------------------------------|-------------------|-----------------------|--|
| Temperatura da reação | 37°C | 0 – 4°C | 0 – 4°C - início da reação 37°C - ocorre hemólise |
| Amplitude térmica | 20 – 37°C | 0 – 32°C | <15°C |
| Tipo de Ig* | IgG | IgM | IgG** |
| Tipo de Ac*** | Incompleto | Completo (aglutinina) | Hemolisina |
| Grupos sanguíneos específicos | Rh, Kell, outros | Ii | Pp |
| Intensidade da anemia | Grave | Moderada | Variável |

* Ig: imunoglobulina prevalente.

** IgG do tipo auto-anticorpo Donath-Landsteiner.

*** Ac: anticorpo.

5) Hemoglobinas instáveis – São formas variantes da hemoglobina normal (Hb A) causadas por mutações de aminoácidos geralmente hidrofóbicos e com poucas variações de cargas elétricas. Por essa razão a maioria das Hb Instáveis migram como se fossem hemoglobinas normais. Entretanto as conseqüências clínicas geralmente são muito evidentes devido à hemólise que pode ser intensa, à anemia muitas vezes grave, esplenomegalia e urina escura devido à excreção de grupos pirrólicos derivados da decomposição do heme da hemoglobina.

A pesquisa de corpos de Heinz intraeritrocitário é positiva (figura 22) e elevação da concentração de metaemoglobina.

ANEMIA MEGALOBLÁSTICA

A anemia megaloblástica resulta, geralmente, da deficiência da vitamina B₁₂ ou do ácido fólico, ou da administração de drogas que interferem na síntese de DNA, com destaque para: ciclofosfamida, citabirina e hidroxiuréia. Certos defeitos congênitos raros na absorção, no transporte, ou no metabolismo da vit. B₁₂, bem como do ácido fólico, podem causar anemia megaloblástica. A tabela 31 expõe as principais causas da anemia megaloblástica. Os achados hematológicos das deficiências de vitamina B₁₂ e ácido fólico são indistinguíveis. No esfregaço são observadas alterações morfológicas com destaque para a presença de macro-ovalócitos (tabela 32 e figura 6). Quando há deficiências de ferro e vitamina B₁₂ ou ácido fólico (ex.: anemia multicarencial), as características do esfregaço sanguíneo são variáveis. Além dos macrócitos podem estar presentes micrócitos hipocrômicos, caracterizando o dimorfismo eritrocitário. A análise citológica dos leucócitos mostra com frequência o neutrófilo hipersegmentado.

ANEMIA APLÁSTICA

Se deve à falta de tecido hematopoietico que pode decorrer da sua atrofia, ou da substituição do parênquima tecidual por gordura, ou da proliferação neoplásica, ou da fibrose medular ou da necrose medular.

Quando a lesão atinge as células eritróides exclusivamente, onde na maioria dos casos se deve à ocupação do tecido hematopoietico por gordura, se trata de **aplasia pura da série vermelha** ou aplasia

dos eritrócitos. As causas podem ser congênicas ou adquiridas (tabela 33).

Por outro lado, quando a lesão do tecido hematopoiético atinge as três séries celulares do sangue se denomina por **pancitopenia**. A pancitopenia é a combinação de anemia, leucopenia e trombocitopenia. A leucopenia deve-se, usualmente, à redução na contagem de neutrófilos, embora costuma estar reduzida também as dos outros granulócitos, dos monócitos e dos linfócitos. A pancitopenia é causada, como regra, pela insuficiência ou substituição da medula óssea, mas pode resultar de retenção esplênica ou da destruição periférica das células maduras. A tabela 33 mostra algumas das causas da pancitopenia. Na prática hospitalar, a pancitopenia é mais frequentemente resultante do uso de terapia citotóxica ou imunossupressora. A tabela 34 apresenta exemplos comuns de hemograma na pancitopenia e anemia aplástica.

TABELA 31 – Causas da anemia megaloblástica

| | |
|--|---|
| POR DEFICIÊNCIA DE VITAMINA B₁₂ | |
| • Dieta inadequada | |
| • Mal absorção gástrica: | Anemia perniciosa Gastrectomia parcial ou total |
| • Mal absorção intestinal: | Diverticulose Espru Síndrome congênita |
| POR DEFICIÊNCIA DE FOLATOS | |
| • Dieta inadequada | |
| • Mal absorção intestinal | |
| • Perdas excessivas: | Diálise Insuficiência cardíaca |
| • Medicamentos: | Barbitúricos Anticonvulsivantes |
| • Utilização aumentada: | Gravidez e prematuridade Anemia hemolítica Cânceres – Mieloma Artrite reumatóide |
| • Outros: | Alcoolismo Doença hepática |
| POR METABOLISMO ALTERADO DA VITAMINA B₁₂ | |
| • Hereditário: deficiência de Transcobalamina II | |
| • Adquirida: anestesia com óxido nítrico | |
| POR METABOLISMO ALTERADO DO ÁCIDO FÓLICO | |
| • Hereditário: deficiência do 5-Metil Tetra Hidro Folato | |
| • Adquirida: Metotrexato, Pirimetamina (medicamentos) | |
| POR ALTERAÇÃO NA SÍNTESE DO DNA | |
| • Hereditário: | Acidúria orótica Anemia diseritropoiética |
| • Adquirida por medicamentos: | Hidroxiuréia Citosina arabinosídeo 5-azacitidina |

TABELA 32 – Exemplos de valores hematimétricos nas anemias megaloblásticas.

| | Grave | Moderada |
|-----------------------------|--|-----------------|
| Idade prevalente | adulto | adulto |
| C.E. ($\times 10^{12}/L$) | 1,8 – 2,0 | 2,5 – 3,8 |
| Hb (g/dL) | 6,0 – 7,0 | 8 – 10 |
| Ht (%) | 18 - 20 | 22 – 32 |
| VCM | elevado | elevado |
| HCM | normal | normal |
| CHCM | normal | normal |
| RDW | elevado | normal |
| Morfologia: | anisocitose, poiquilocitose, macro-ovalócitos, neutrófilos hipersegmentados, plaquetopenia | |
| Reticulócitos | diminuído | diminuído |

TABELA 33 – Causas de anemias aplásticas.

| | |
|--|---|
| 1 – PANCITOPÊNICAS | |
| Associadas à: Anemia, Leucopenia e Plaquetopenia | |
| CONGÊNITA | <ul style="list-style-type: none"> • Fanconi • Não-Fanconi • Associada a disceratose |
| ADQUIRIDA | <ul style="list-style-type: none"> • Medicamento: Fenilbutazona Clorafenicol, etc. • Citotóxicos: Bussulfan Quimioterápicos • Tóxicos: Inseticidas Benzeno, etc. • Infecções • Irradiações |
| 2 – APLASIA PURA DA SÉRIE VERMELHA | |
| Diminuição somente dos Eritrócitos | |
| CONGÊNITA | • Síndrome de Diamond-Blackfan |
| ADQUIRIDA | <ul style="list-style-type: none"> • Associada a Timoma e Linfoma • Infecção por Parvovírus • Medicamentos |

TABELA 34 – Exemplos de valores hematimétricos nas anemias aplásticas pancitopênicas e eritropênicas (exemplos de dois casos específicos).

| | Pancitopênica | Eritropênica |
|--------------------------------|---|--|
| Tipo prevalente | hereditária (Fanconi) adquirida – id. variável | hereditária (D-Blackfan) adquirida – id. variável |
| C.E. ($\times 10^{12}/L$) | 2,1 | 1,9 |
| Hb (g/dL) | 7,0 | 6,1 |
| Ht (%) | 22 | 18 |
| VCM | 104 | 94 |
| HCM | 33 | 32 |
| CHCM | 31 | 33 |
| Morfologia | anicitose com presença de macrócitos | |
| Reticulócitos (%) | <05 | <05 |
| Leucócitos ($\times 10^9/L$) | 1,7 | 7,2 |
| Plaquetas ($\times 10^6/L$) | 28 | 200 |
| Exame específico | mielograma | mielograma |

AVALIAÇÃO LABORATORIAL DAS ANEMIAS

A avaliação laboratorial das anemias envolve desde análises comuns na rotina laboratorial até técnicas específicas, conforme se apresenta a seguir:

1 – ANÁLISES COMUNS NA ROTINA LABORATORIAL

a) Avaliação Quantitativa

- Contagem de eritrócitos

- Dosagem de hemoglobina
- Hematócrito
- Hemoglobina Corpuscular Média (HCM)
- Volume Corpuscular Médio (VCM)
- Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM)
- Amplitude da distribuição dos eritrócitos (RDW)

Obs.: O RDW somente é obtido em contadores automatizados.

b) Avaliação Qualitativa

- Morfologia eritrocitária (tamanhos e formas)
- Hemoglobinizacão eritrocitária

2 – TESTES GERAIS NA EVIDÊNCIA DE HEMÓLISE

- Análise da morfologia eritrocitária
- Contagem de reticulócitos
- Avaliação da concentração da hemoglobina
- Bilirrubina sérica
- Urobilinogênio fecal e urinário
- Hemossiderina no sedimento urinário
- DHL

(para diferenciação de hemólise extra ou intravascular, consultar tabela 35)

3 – AVALIAÇÃO PRODUTIVA OU REGENERATIVA DAS ANEMIAS

- Contagem de reticulócitos

4 – TESTES ESPECÍFICOS

- Fragilidade osmótica: esferocitose e eliptocitose
- Eletroforese de Hb: Hemoglobinopatias e Talassemias
- Dosagem de Hb Fetal: Talassemias e doença falciforme
- Dosagem de Hb A₂: Talassemia beta
- Pesquisa de Hb H: Talassemia alfa
- Teste de instabilidade da Hb: Hb Instáveis
- Screening de G6PD

(para diferenciação das hemoglobinopatias e talassemias, consultar tabela 36)

5 – TESTES PARA PRESENÇA DE ANTICORPOS

- Teste de Coombs
- Grupo sanguíneo: ABO e Rh
- Anticorpos livres no soro a 20°C e 37°C
- Anticorpos quentes e frios
- Determinação de imunoglobulinas IgG e IgM
- Determinação da atividade de complementos

TABELA 35 – Testes indicativos do aumento da destruição dos eritrócitos.

| |
|---|
| <p>Conseqüência Bioquímica na Hemólise Extravascular</p> <p>[Hiperbilirrubinemia [Aumento do urobilinogênio urinário [Aumento do urobilinogênio fecal [Diminuição da haptoglobina sérica</p> |
| <p>Conseqüência Bioquímica na Hemólise Intravascular</p> <p>[] Diminuição da haptoglobina sérica [] Hemoglobinemia [] Metaemoglobinemia [] Hemoglobinúria [] Hemossiderinúria</p> |
| <p>Evidências Morfológicas das Lesões Eritrocitárias</p> <p>] Microesferócitos] Fragmentos eritrocitários] Esquisócitos</p> |

TABELA 36 – Sequência técnica para situações específicas de suspeita clínica de hemoglobinopatias e talassemias.

| |
|--|
| <p>1 – Talassemia Alfa</p> <p>- Eletroforese de hemolisado de sangue com saponina a 1% em tampão alcalino. - Pesquisa eletroforética e citológica de agregados intraeritrocitários de Hb H. - Contagem de reticulócitos. - Dosagem de ferritina.</p> |
|--|

2 – Talassemia Beta

- Eletroforese de solução de hemoglobina ou hemolisado com saponina a 1% em tampão alcalino.
- Dosagem de Hb A₂.
- Teste de resistência globular osmótica em NaCl 0,36%.
- Dosagem de Hb Fetal.
- Contagem de reticulócitos.
- Dosagem de ferritina.

3 – Falcemias (Hb AS, SS, SC, SD, S/Beta Talassemia, SS/Alfa Talassemia, SS/PHHF)

- Eletroforese de solução de hemoglobina ou hemolisado com saponina a 1% em tampão alcalino.
- Eletroforese de solução de hemoglobina em agar/tampão ácido.
- Dosagem de Hb Fetal.
- Contagem de reticulócitos.
- Dosagem de ferritina.
- Pesquisa citológica de agregados intraeritrocitários de Hb H.

4 – Hemoglobinas instáveis

- Eletroforese de hemolisado de sangue com saponina a 1% em tampão alcalino.
- Teste de instabilidade térmica (50-60°C) e em isopropanol (37°C).
- Pesquisa de corpos de Heinz em eritrócitos incubados por 60 minutos.
- Contagem de reticulócitos.
- Dosagem de metaemoglobina.

5 – Hemoglobinas raras (J, N, G, I, etc.) e eritrocitoses inexplicadas

- Eletroforese de solução de hemoglobina ou hemolisado com saponina a 1% em tampão alcalino.
- Eletroforese de solução de hemoglobina em agar/tampão ácido.
- Eletroforese de globina.
- Eletroforese por isofocalização.
- Contagem de reticulócitos.
- Pesquisa de corpos de Heinz em eritrócitos incubados por 60 minutos.

OBS. IMPORTANTE: Em todos os casos acima citados é necessário ter os resultados do hemograma (C.E., Hb, VCM, HCM, CHCM) e realizar cuidadosamente análise da morfologia eritrocitária.

POLICITEMIA E ERITROCITOSE

Os termos policitemia e eritrocitose são ambos usados para descreverem as elevações dos valores da hemoglobina, hematócrito e contagem dos eritrócitos em relação ao normal. Entretanto, a **eritrocitose** é o termo mais apropriado para descrever um aumento dos eritrócitos sem que haja alterações nas linhagens leucocitárias e plaquetárias. A **policitemia**, apesar de ser o termo mais popular e usado pela maioria dos médicos, deve ser empregada para descrever qualquer condição que resulta no aumento da massa celular dos eritrócitos, leucócitos e plaquetas. Um exemplo típico para diferenciar ambos os termos é o seguinte: na talassemia beta menor pode ocorrer eritrocitose, em relação ao hematócrito e à hemoglobina, por exemplo:

Paciente: criança de 5 anos

Eritrócitos: $6,3 \times 10^6/\text{mm}^3$ (eritrocitose)

Hemoglobina: 11,8g/dL

Hematócrito: 38%

VCM: 60

HCM: 18

CHCM: 31

Morfologia: Acentuada aniso-poiquilocitose, com predomínio de células microcíticas e hipocrômicas. Presença de dacriócitos, leptócitos, codócitos e pontilhados basófilos.

Conclusão: Anemia microcítica e hipocrômica.

Como se vê nesse exemplo, há eritrocitose por aumento dos eritrócitos microcíticos, enquanto a hemoglobina e hematócrito estão normais para a idade. Os índices hematimétricos VCM e HCM

indicam microcitose e hipocromia, comprovado pela alteração da morfologia dos eritrócitos.

A **policitemia**, por sua vez, é considerada quando os níveis de hemoglobina ultrapassam 16,5g/dL no homem e 15,5g/dL na mulher. Geralmente a elevação acima desses níveis provoca o aumento marcante dos eritrócitos e, conseqüentemente, do hematócrito e da hemoglobina, causando maior viscosidade sanguínea. O aumento da viscosidade sanguínea representa um entrave para a oxigenação tecidual. A circulação cerebral e suprimento do oxigênio ficam significativamente reduzidos, produzindo dores na cabeça, mal-estar geral e cansaço. Quando o nível de hemoglobina ultrapassa 20g/dL, o paciente se torna pletórico com congestão nos olhos e conjuntiva.

A classificação da policitemia abrange dois grandes grupos: a **policitemia relativa** e a **policitemia absoluta**. A policitemia relativa se deve à diminuição salina, à perda protéica e ao estresse. A **policitemia absoluta**, por sua vez, pode ser subdividida em **policitemia por hipoxia tecidual** e **policitemia proliferativa primária** ou **policitemia vera**. A tabela 37 resume a classificação e as causas da policitemia.

A **policitemia vera** é uma doença mieloproliferativa e seu diagnóstico deve ser comprovado pela análise citológica do mielograma ou da biópsia de medula óssea. A citologia do sangue medular mostra exuberante celularidade com predomínio de precursores eritrocitários (eritroblastos em diferentes fases de maturação) e megacariócitos.

TABELA 37 – Resumo da classificação e das causas das policitemias.

| Tipos de Policitemia | Principais causas |
|--|--|
| Relativa | Diminuição salina (desidratação grave) Perda protéica Estresse medular |
| Absoluta por hipoxia tecidual (ou policitemia secundária) | Altitudes acima de 2.000 metros Doenças pulmonares Doenças cardíacas congênitas Carboxiemoglobina Hemoglobinas anormais (*) 2,3 DPG anormal (**) Estenose da artéria renal Obstrução ureteral Tumor renal secretor de eritropoietina |
| Policitemia primária ou Policitemia Vera (doença proliferativa da M.O.) | Hiperproliferação celular dos eritrócitos, leucócitos e plaquetas na medula óssea |

(*) Hemoglobinas anormais com afinidade aumentada pelo oxigênio.

(**) Deficiência de 2,3 di-fosfoglicerato.

M. O. Medula Óssea

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dacie JV & Lewis SM. **Practical Haematology**. 8th ed. Churchill Livingstone. Ed. Edinburgh, 1995.
2. Hilman RS & Finch CA. **Red cell manual**. 7th ed. F.A. Davis Co., Philadelphia, 1996.
3. Hoffbrand AV, Lewis SM & Tuddenham EGD. **Postgraduate Haematology**. 4th ed. Oxford, 1999.
4. Hoffbrand AV, Petit JE & Moss PAH. **Haematology Essential**, ed. Blackwell Science, Oxford, 2001.
5. Howard MR & Hamilton PJ. **Haematology**. Churchill Livingstone Ed. London, 1997.
6. Hughes-Jones NC & Wickramasinghe SN. **Lecture notes on Haematology**. 5th ed. Blackwell Scientific Publication, Oxford, 1993.
7. Kanp G. **Cell and molecular biology**. 2nd ed. John Wiley & Sons, Inc. 1999.
8. Lorenzi T. **Manual de Hematologia. Propedêutica e clínica**. ed. Medsi, 3^a ed., Rio de Janeiro, 2003.
9. Naoum PC. **Hemoglobinopatias e Talassemias**. Ed. Sarvier, São Paulo, 1997.
10. Naoum, PC. CD-Rom **“Doenças dos eritrócitos”** Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto, 2005.

11. Naoum PC & Naoum FA. **Doença das células falciformes**. ed. Sarvier, São Paulo, 2004.
12. Oliveira AGR & Poli Neto A. **Anemias e leucemias**. ed. Rocca, São Paulo, 2004.
13. Provan D & Henson A. **ABC of Clinical Hematology**. BMJ Publ. Group, London, 1998.
14. Provan D & Griubbean J. **Molecular Haematology**. Blackwell Science, Oxford, 2000.
15. Rodgers GP. **Sickle cell disease and thalassaemia**. ed. Ballière Tindall, London, 1998
16. Rowan RM, Assendelet Ow, Preston FE. **Advanced Laboratory methods in haematotology**. Arnold Ed. London, 2002.
17. Stiene-Martin EA, Steininger CAL & Koepke JA. **Clinical Hematology**. 2nd ed. Philadelphia, 1998.
18. Travers P., Jane Way Jr CA. **Imunobiologia**. 2^a ed. Artes Médicas, 1997.
19. Wintrobe MM, Lee GR, Boggs DR *et al.* – **Clinical Hematology**. 12th ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1996.

CONHEÇA A ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

A Academia de Ciência e Tecnologia (AC&T) é uma instituição particular de ensino de pós-graduação *lato sensu* e de pesquisas científicas na área de Hematologia e Análises Clínicas. Foi fundada em 1998 e, até a edição deste manual, recebeu em seus cursos cerca de 1000 alunos provenientes de 330 cidades do Brasil, além de alunos estrangeiros do Paraguai e Colômbia.

Além da estrutura funcional de alto nível acadêmico que inclui auditórios, laboratórios, museu do laboratório e biblioteca, oferece aos seus alunos, durante os dias de curso, acomodação gratuita em seu Flat Residence e transporte também gratuito, efetuado por meio de vans.

A atualização científica e pedagógica das aulas dos cursos da AC&T se destacam pela introdução do Photo-Motion e de apresentações científicas marcantes.

Para os nossos alunos direcionamos todas as aulas em CD, totalizando perto de mil slides.

Conheça a AC&T por meio do nosso site:

www.ciencianews.com.br

ATIVIDADES CIENTÍFICAS DA ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

- Cursos de pós-graduação *lato sensu* em:

Análises Clínicas

Hematologia Laboratorial

Hematologia Avançada

Hematologia e Banco de Sangue

Imunologia

Microbiologia

Biologia Molecular

- Pesquisas científicas em:

Hemoglobinopatias

Doenças hematológicas

Radicais livres

Biologia molecular

- Cursos de curta duração:

Citologia hematológica

Hematologia para estudantes

Hemoglobinopatias e Talassemias

- Simpósios científicos:

Análises Clínicas

Transplante de Medula Óssea



AC&T - Academia de Ciência e Tecnologia

Rua Bonfá Natale, 1860 - CEP 15020-130 - São José do Rio Preto - SP

Fone: (17) 3233 4490 - e-mail: a.c.t@terra.com.br

www.ciencianews.com.br