

Estudo da deformabilidade eritrocitária através da ectacitometria

Nascimento, Francisco Oliveira¹ • Gualandro, Danielle Menosi²
Gualandro, Sandra Fátima Menosi² • Santiago, João Alexandre Gomes¹
Vilariño, Fabia Lima¹ • Silveira, Paulo Augusto Achucarro³

FILIAÇÃO:

1. Francisco Claudino do Nascimento e Ogapil de Oliveira
2. Geraldo Gualandro e Sandra Fátima Menosi Gualandro
3. Francisco Menosi e Leonora Mary Menosi
4. João Gilberto Santiago e Walkiria Domingues Santiago
5. José Manoel Vilariño e Maria de Jesus Lima Vilariño
6. Paulo Silveira e Filomena Achucarro Silveira

Laboratório de Hematologia Geral da
Fundação Pró-Sangue/Hemocentro
de São Paulo HCFMUSP

RESUMO

A deformabilidade eritrocitária foi estudada através da ectacitometria em uma série de pacientes portadores de esferocitose hereditária e de anemia falciforme, e comparados com os achados de indivíduos normais. A ectacitometria foi realizada no aparelho LORCA (Laser assisted rotational cell analyser - R&R Mechatronics, Holanda). Observamos diminuição da deformabilidade

celular, medida através do índice de alongação (ou de deformabilidade) em todos os pacientes portadores de esferocitose hereditária e de anemia falciforme. O grau de diminuição da deformabilidade esteve relacionado à maior gravidade clínica, havendo correlação com a porcentagem de células microcíticas e hiperdensas, verificado na esferocitose hereditária e também na anemia falciforme. A perda de material da membrana, com conseqüente alteração da geometria celular, desidratação celular e aumento da viscosidade citoplasmática, concorrem para a diminuição da deformabilidade observada na esferocitose hereditária. Na anemia falciforme a diminuição da deformabilidade está relacionada ao aumento da densidade celular, secundária às características da hemoglobina S, à desidratação celular e a danos da membrana eritrocitária.

Unitermos: Eritrócito; deformabilidade celular; ectacitometria.

INTRODUÇÃO

O glóbulo vermelho, para cumprir a sua função de oxigenação tecidual, deve alterar a sua forma discóide e sofrer extensa deformação passiva durante a passagem pela microcirculação. A deformabilidade celular é, portanto, um importante determinante do fluxo da microcirculação, já que é responsável pela taxa de entrada das células

1 - Acadêmicos da Faculdade de Medicina da Fundação do ABC2 -Chefe do Serviço de Cabeça e Pescoço do Hospital de Ensino da Fundação ABC

2 - Mestre e Doutora em Hematologia pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Professora Doutora da Disciplina de Hematologia do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

3 - Mestre e Doutor em Hematologia pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Médico Supervisor do Serviço de Hematologia do HCFMUSP.

vermelhas nos pequenos capilares. Isto, por sua vez, influencia a pressão de escoamento através dos pequenos vasos e a distribuição do fluxo. (Mohandas,1994)

A ciência que estuda o comportamento do sangue é a hemorreologia. Seu principal campo de interesse é a viscosidade do sangue, ou seja, a propriedade física do sangue, que é dependente do atrito entre os seus componentes à medida que eles deslizam uns sobre os outros. A distribuição e a adequação do fluxo são influenciadas pela viscosidade, a qual, por sua vez, é influenciada pela deformabilidade eritrocitária (Mokken,1992). Quando uma pressão é aplicada sobre um fluido, as camadas de moléculas deslizam umas sobre as outras e isso é chamado de cisalhamento (shear). As camadas do fluido se movem com diferentes velocidades e o gradiente de velocidade entre as camadas é chamado de taxa de cisalhamento (shear rate). A força que faz com que as camadas deslizem umas sobre as outras é chamada de tensão de cisalhamento (shear stress). A razão entre o shear stress e o shear rate representa a viscosidade do fluido. O sangue é um fluido não newtoniano, composto por uma suspensão de muitos elementos de diferentes tamanhos. A viscosidade do sangue depende do shear rate. À medida que a velocidade do fluxo diminui, a viscosidade aumenta.

Como já citado, um importante fator determinante da viscosidade do sangue é a forma e a elasticidade dos glóbulos vermelhos. O interesse pelo estudo da deformabilidade eritrocitária vem aumentando nos últimos anos. A deformabilidade eritrocitária, isto é, a resposta das hemácias às forças dos fluidos, é um fenômeno complexo que depende de diferentes características celulares, tais como a geometria celular, a viscosidade citoplasmática e as propriedades dos constituintes da membrana (Mohandas,1993). A geometria celular incluindo a relação área/volume permite que a célula sofra intensa deformação, mantendo a superfície constante. A maioria das deformações que ocorrem in vivo ou in vitro envolvem pequeno ou nenhum aumento na área da superfície celular. Tanto a perda de membrana, que leva à redução da área, quanto o aumento da água intracelular, com aumento do volume, criam uma forma esférica com uma relação área/volume reduzida, tendo como consequência uma diminuição da capacidade de se deformar.

A viscosidade citoplasmática é regulada pela concentração intracelular de hemoglobina que varia de 27 a 37g/dl. Nessa faixa normal, a contribuição da viscosidade para a deformabilidade celular é desprezível. Entretanto, a partir de 37 g/dl a viscosidade aumenta exponencialmente. Nesses níveis, a contribuição da viscosidade à deforma-

bilidade torna-se predominante. Assim, a insuficiência em manter o conteúdo normal de água intracelular, como ocorre em algumas hemoglobinopatias, pode resultar em limitações importantes da deformabilidade. A manutenção do estado normal de hidratação da célula é, portanto, essencial para manutenção da deformabilidade celular ótima.

A membrana é altamente elástica, respondendo rapidamente às forças aplicadas, e é capaz de sofrer grandes extensões lineares sem se fragmentar. A dupla camada lipídica e as proteínas transmembrana isolam e regulam quimicamente o interior celular. O citoesqueleto, trama protéica que forra a parte interna da membrana, fornece o suporte rígido, a estabilidade à dupla camada lipídica e a capacidade de mudar de forma. Acredita-se que as proteínas integrais, proteínas que atravessam a dupla camada lipídica, transfixando e reforçando a membrana, também possam influenciar profundamente a rigidez e estabilidade mecânica da membrana. (Mohandas,1993)

Uma grande variedade de doenças tem sido descritas em associação com glóbulos vermelhos menos deformáveis.(Mokken,1992). Intervenções clínicas como injeção de contraste (Sutera, 1985), expansores plasmáticos, drogas (Harris,1957), etc. também podem afetar a deformabilidade eritrocitária. A deformabilidade celular é uma descrição qualitativa do comportamento das células durante o fluxo. Para obter uma medida quantitativa dessa característica, muitas técnicas foram desenvolvidas nas quais as células são submetidas a uma variação de forças e as mudanças da forma celular são medidas. Por exemplo, em técnicas de filtração, a deformabilidade é medida determinando a taxa na qual as hemácias atravessam poros de dimensões definidas em valores variados de pressão aplicada. Já no ectacitômetro, isto é medido através da habilidade das células transformarem sua forma de repouso em uma forma elipsóide em um campo de fluxo laminar. Apesar desses dois métodos fornecerem medidas quantitativas da deformabilidade celular sob certas condições experimentais definidas, não é possível comparar diretamente os valores obtidos por essas técnicas. Cada uma dessas técnicas tem sensibilidade evidentemente diferente aos variados componentes celulares que regulam a habilidade da célula de sofrer deformação. (Mohandas,1993)

Os métodos utilizados até há pouco tempo eram restritos ao campo da pesquisa. Recentemente foi desenvolvido e comercializado um instrumento, baseado no princípio da ectacitometria, de operação simples e parâmetros automatizados (L.O.R.C.A.- Laser-assisted optical rotational cell analyser), que permite o estudo das alterações da

deformabilidade celular em inúmeras situações clínicas (Hardeman, 1994). Poucos são ainda os relatos referentes a este tipo de investigação laboratorial e suas implicações.

É objetivo deste estudo determinar valores da deformabilidade eritrocitária em indivíduos normais e em duas doenças que envolvam alterações dos determinantes dessa deformabilidade: esferocitose hereditária e anemia falciforme.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

Após consentimento escrito e informado, o sangue (3ml) de 16 indivíduos voluntários assintomáticos, sem história pessoal ou familiar de anemia, de 8 pacientes com diagnóstico de anemia falciforme e de 8 pacientes com diagnóstico de esferocitose hereditária acompanhados no ambulatório de anemias do Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, foi coletado utilizando o anti-coagulante EDTA (ácido etileno diaminotetracético).

Os 8 casos de anemia falciforme foram diagnosticados através de eletroforese de hemoglobina em acetato de celulose, confirmados em ágar ácido, com quantificação de hemoglobina A₂ por eluição e de hemoglobina fetal pelo método de Betke (Dacie e Lewis, 1984) e os 8 casos de esferocitose, pela presença de esferócitos no esfregaço de sangue periférico corado pelo Leishman, pelo aumento da fragilidade osmótica determinada pela curva de resistência globular osmótica (Lewis e Dacie, 1984), pela história familiar e através do teste de Coombs D.

As 32 amostras foram submetidas às seguintes técnicas:

1. Determinação de hemoglobina, hematócrito, índices hematimétricos e contagem de reticulócitos utilizando o contador de células automatizado Technicon H3 RTXTM (Bayer Diagnostics). Nesse sistema o volume e a concentração de hemoglobina dos eritrócitos é medida por laser light scattering. A partir das medidas dos valores de volume e concentração de hemoglobina de cada eritrócito, são construídos histogramas de volume, conteúdo e concentração de hemoglobina. A análise do histograma de volume (V) nos fornece a porcentagem de células microcíticas (V<60fL) e macrocíticas (V>120fL), enquanto que a análise dos histogramas de concentração de hemoglobina (HC) nos fornece a porcentagem de células hipocrômicas (HC<28g/dL) e hiperdensas (HC>41g/dL).

2. Avaliação da deformabilidade eritrocitária através da ectacitometria. Neste método uma suspensão de hemácias em solução de PVP (polivinilpirrolidona), diluído em PBS, com osmolalidade de 300mOsm, é submetida a diferentes níveis de shear stress, em um ectacitômetro (L.O.R.C.A., R&R Mechatronics, Holanda). A suspensão de sangue em solução de PVP 300mOsm (1,5mL) é colocada em um viscosímetro tipo Couette, que consiste em dois cilindros de vidro, um dentro do outro, formando um espaço entre eles de 0,3mm. O sangue a ser estudado deve ser colocado nesse espaço. O cilindro externo gira movido por um motor e a solução é submetida a diferentes níveis de tensão de cisalhamento (shear stress). Essa tensão faz a célula se deformar e a deformação é medida pela difração obtida através da passagem de um feixe de raio laser. As informações são transmitidas a um computador acoplado ao aparelho. Os padrões de difração são projetados em uma tela monitorizada por uma vídeo câmera. (Nos 8 casos de anemia falciforme, por ocasião do estudo da deformabilidade eritrocitária foi realizado eletroforese de hemoglobina em acetato de celulose, ágar ácido e determinação quantitativa de hemoglobina A₂ e de hemoglobina fetal (Dacie e Lewis, 1984) para comprovar a ausência de hemoglobina A, que apareceria em caso de transfusão de sangue.)

3. Análise estatística: Para cada parâmetro analisado foram calculados as médias e os desvios-padrão. Foi usada análise de variância para comparação múltipla entre os grupos. Os coeficientes de correlação foram derivados a partir de análise de regressão linear.

RESULTADOS

Os resultados dos dados hematimétricos, com respectivas médias e desvios-padrão dos 16 indivíduos normais e dos pacientes portadores de esferocitose hereditária (n=8) e anemia falciforme (n=8) estão apresentados na tabela 1.

Na tabela 2 estão apresentados os valores dos índices de deformabilidade nas diferentes tensões de cisalhamento observados nos indivíduos normais. Observamos que o padrão de deformabilidade de indivíduos normais foi uniforme, com aumento progressivo do Índice de Elongação (ou de deformabilidade) à medida que se aumentava a tensão de cisalhamento até a obtenção do Índice Máximo. Na maioria dos indivíduos, o Índice Máximo foi obtido no shear stress de 5,34 Pa. Além desse ponto, houve a tendência à formação de um

**TABELA 1 - Pacientes de 1 a 16 foram diagnosticados como normais;
de 17 a 24 como portadores de esferocitose hereditária; 25 a 32 como portadores de anemia falciforme.**

Dados Hematimétricos em 32 Pacientes - HCFMUSP, 1998

Iniciais	Sexo	Eritr	Hb	Ht	VCM	HCM	CHCM	RDW	% Macro	% Micro	%Hiper	% Hipo	Micro/Hiper	Macro/Hipo	
1	RAC	M	4,89	14,4	40,1	82,1	29,4	35,8	12,6	0,2	1,1	1,4	0,3	0,1	0
2	FG	M	5,11	15,5	42,3	82,8	30,2	36,5	13,9	0,2	1,8	1,9	0,6	0,2	0,1
3	CAA	F	4,78	13,8	40,3	84,3	28,9	34,3	12,5	0,1	0,9	0,7	0,5	0,1	0
4	MA	M	5,62	16,3	46,1	82,0	28,9	35,3	12,8	0,1	1,6	0,7	0,4	0,1	0
5	ERC	M	5,63	17,7	45,3	80,5	31,4	39,0	13,5	0,2	2,5	12,4	0,2	0,5	0
6	DSGS	M	4,66	14,6	41,8	89,9	31,3	34,8	12,4	0,5	0,3	0,9	0,5	0	0,1
7	MJGFC	F	4,56	12,9	38,2	83,8	28,3	33,8	13,7	0,2	1,3	0,6	1,8	0,1	0,1
8	MRJ	F	4,57	13,7	40,8	89,3	30,1	33,6	13,3	0,5	0,9	0,4	1,2	0	0,2
9	NPC	M	5,32	14,7	44,8	84,2	27,5	32,7	13,9	0,2	1,6	0,8	2,2	0,2	0,1
10	CHPM	F	4,69	14,4	41,8	89,1	30,6	34,4	13,6	0,7	0,4	1,3	0,7	0	0,2
11	JCE	M	5,21	15,0	45,3	86,9	28,7	33,0	14,0	0,4	1,1	1,0	1,4	0,2	0,1
12	LGT	M	4,88	14,0	37,1	76,0	28,7	37,7	13,3	0	4,9	7,3	0,2	0,7	0
13	MT	M	5,81	16,4	41,9	72,2	28,3	39,2	14,1	0	10,2	21,7	0,3	3,9	0
14	NML	M	5,22	15,0	43,1	82,5	28,6	34,7	13,5	0,2	1,4	2,0	0,5	0,2	0,1
15	PMT	F	5,00	13,6	37,2	74,3	27,2	36,6	13,2	0	6,5	6,5	0,2	1,1	0
16	SF	F	4,82	14,2	40,9	84,8	29,4	34,7	11,7	0,2	0,6	0,7	0,2	0,1	0,1
17	FVM	M	5,11	15,1	42,4	83,1	29,6	35,7	13,3	0,2	1,4	3,5	0,5	0,3	0,1
18	MCBA	F	2,62	8,4	24,9	94,9	32,1	33,8	17,7	5,5	2,1	2,4	7,8	0,4	1,8
19	CHRI	M	4,13	12,2	32,0	77,4	29,5	38,1	14,9	0,1	5,9	15,9	0,2	1,5	0
20	CLS	M	5,92	16,2	49,1	83,0	27,4	33,0	13,9	0,1	2,0	0,7	3,7	0,3	0,1
21	DAS	F	5,40	15,2	43,9	81,3	28,2	34,6	14,0	0,1	2,6	2,7	2,8	0,4	0,1
22	GSF	F	4,37	13,5	35,7	81,5	31,0	38,0	19,9	1,1	8,9	24,9	1,4	2,1	0,3
23	JOA	M	3,88	13,2	35,8	92,2	34,0	36,9	19,6	5,6	2,5	17,9	2,1	0,7	0,8
24	ROA	M	5,29	16,9	47,6	89,9	31,9	35,6	12,5	0,5	0,3	0,6	0,4	0	0,1
25	AFC	M	4,98	14,3	43,2	86,7	28,7	33,1	12,5	0,2	0,5	0,9	0,3	0,1	0,1
26	HLF	F	2,50	7,3	22,7	90,8	29,2	32,2	23,0	7,7	5,9	5,8	14,7	1,0	3,8
27	LBS	F	2,67	7,4	23,4	87,8	27,8	31,7	26,0	7,6	11,0	6,2	25,1	1,6	4,9
28	NARF	M	2,25	7,4	22,7	100,7	32,7	32,5	22,5	16,6	3,9	5,4	16,4	0,7	6,6
29	RI	M	3,04	8,3	26,3	86,4	27,2	31,5	21,3	3,2	7,4	5,0	18,1	1,2	1,8
30	SS	F	2,97	7,4	24,3	81,8	24,8	30,3	22,4	2,0	12,0	2,0	18,0	0,4	1,2
31	CAN	F	2,10	7,6	23,1	110,3	36,3	32,9	19,4	28,3	1,4	2,8	18,3	0,3	12,6
32	RJA	M	3,33	9,7	30,0	90,0	29,2	32,4	19,9	3,6	5,3	1,7	10,3	0,4	1,5

Fonte: Fundação Pró-Sangue - HCFMUSP - 1988

platô, seguida pela rápida queda dos índices de deformabilidade. Na tabela 3 estão representados os valores de deformabilidade eritrocitária em pacientes com esferocitose hereditária e anemia falciforme. Observamos que para os diversos valo-

res de shear stress, as hemácias dos pacientes portadores de esferocitose hereditária e anemia falciforme apresentaram sempre menores índices de alongação quando comparados com os valores obtidos nos indivíduos normais.

TABELA 2 - Índice de elongação eritrocitária em 16 pacientes normais.

		Shear Stress (Pa)								
	Iniciais	0,300	0,530	0,950	1,690	3,000	5,340	9,480	16,860	30,050
1	RAC	0,121	0,217	0,275	0,318	0,336	0,350	0,357	0,285	-0,001
2	FG	0,121	0,212	0,270	0,315	0,335	0,348	0,357	0,290	0,019
3	MA	0,115	0,201	0,257	0,289	0,295	0,297	0,276	0,134	-0,029
4	CAA	0,113	0,210	0,268	0,313	0,334	0,346	0,326	0,197	-0,009
5	NPC	0,079	0,230	0,274	0,310	0,331	0,342	0,325	0,154	-0,017
6	MRJ	0,134	0,244	0,301	0,344	0,361	0,362	0,314	0,102	-0,003
7	MJGFC	0,144	0,215	0,271	0,320	0,342	0,356	0,352	0,228	0,008
8	DSGS	0,146	0,224	0,289	0,334	0,351	0,358	0,341	0,234	-0,015
9	CHPM	0,129	0,238	0,290	0,332	0,355	0,373	0,376	0,269	0,008
10	JCE	0,083	0,221	0,268	0,312	0,339	0,355	0,351	0,164	-0,020
11	NML	0,100	0,192	0,230	0,260	0,273	0,279	0,262	0,111	0,000
12	SF	0,147	0,231	0,291	0,339	0,362	0,379	0,380	0,270	-0,015
13	FVM	0,109	0,226	0,262	0,291	0,300	0,308	0,294	0,191	0,013
14	CLS	0,094	0,179	0,237	0,286	0,310	0,323	0,324	0,215	0,024
15	ROA	0,085	0,216	0,284	0,327	0,353	0,370	0,369	0,230	-0,008
16	AFC	0,102	0,218	0,270	0,311	0,332	0,341	0,330	0,210	0,040

Fonte: Fundação Pró-Sangue - HCFMUSP - 1988

TABELA 3 - Índice de elongação eritrocitária em pacientes com esferocitose (1 a 8) e com anemia falciforme (9 a 16).

		Shear Stress (Pa)								
	Iniciais	0,30	0,53	0,95	1,69	3,00	5,34	9,48	16,86	30,05
1	MT	0,164	0,200	0,223	0,220	0,212	0,208	0,189	0,108	-0,003
2	PMT	0,147	0,210	0,255	0,277	0,281	0,279	0,248	0,117	0,005
3	LGT	0,139	0,209	0,255	0,271	0,271	0,273	0,261	0,178	0,016
4	ERG	0,145	0,219	0,267	0,287	0,289	0,289	0,272	0,179	-0,030
5	JOA	0,143	0,200	0,244	0,265	0,275	0,282	0,263	0,166	0,027
6	DAS	0,096	0,158	0,198	0,229	0,241	0,241	0,216	0,105	-0,037
7	GSF	0,113	0,153	0,182	0,196	0,198	0,196	0,182	0,127	0,041
8	CHRI	0,168	0,174	0,222	0,261	0,275	0,275	0,268	0,234	0,130
9	MACBA	0,042	0,110	0,148	0,172	0,191	0,206	0,184	0,043	-0,063
10	HLF	0,029	0,080	0,110	0,121	0,125	0,116	0,092	0,027	-0,048
11	RI	0,008	0,052	0,071	0,078	0,079	0,075	0,066	0,023	-0,052
12	NARF	0,016	0,093	0,116	0,127	0,125	0,115	0,078	-0,022	-0,079
13	LBS	0,017	0,089	0,102	0,108	0,103	0,092	0,069	-0,001	-0,059
14	SS	0,014	0,074	0,096	0,117	0,138	0,151	0,135	0,066	-0,033
15	RJA	0,012	0,070	0,097	0,117	0,130	0,136	0,118	0,026	-0,068
16	CAM	0,056	0,101	0,119	0,133	0,142	0,135	0,096	0,030	-0,050

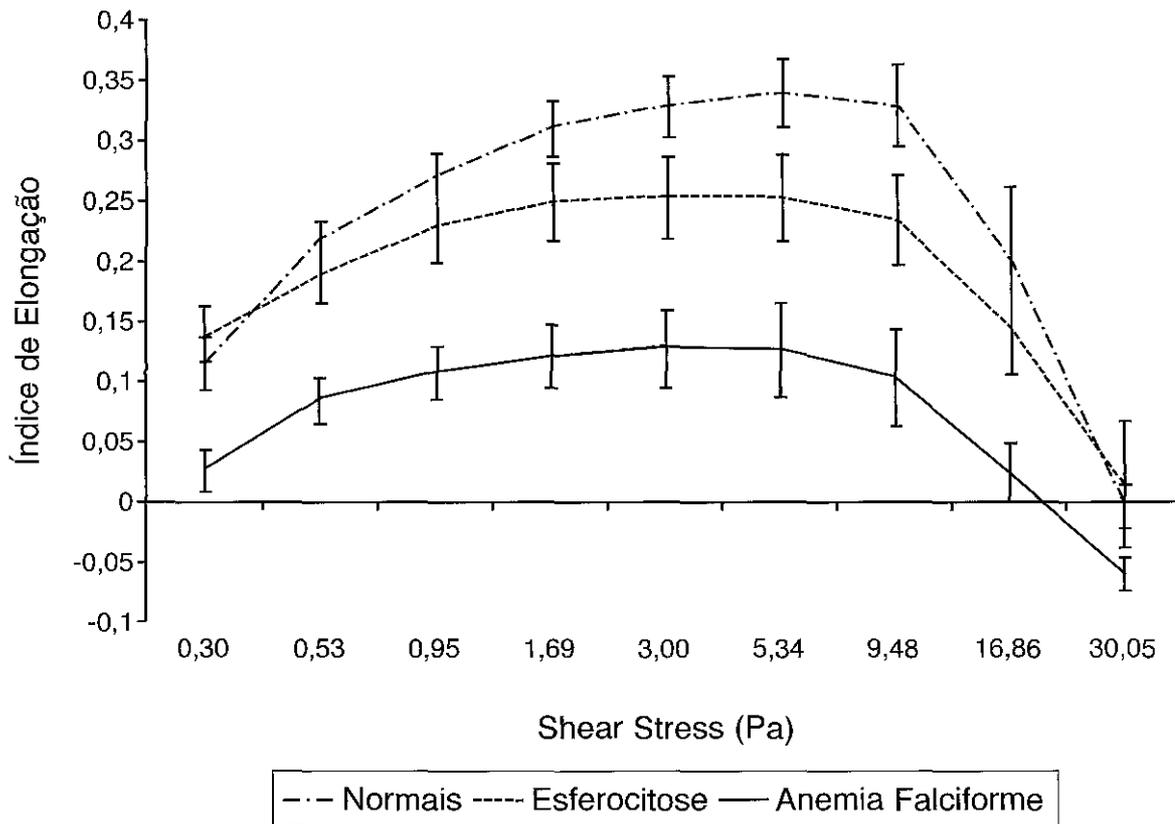
Fonte: Fundação Pró-Sangue - HCFMUSP - 1988

As diferentes curvas de deformabilidade eritrocitária dos pacientes com esferocitose e anemia falciforme comparadas com os valores de deformabilidade normal podem ser observadas na figura 1. Ficam evidentes as diferenças dos índices de deformabili-

dade entre os grupos, mostrando diminuição da deformabilidade eritrocitária na esferocitose hereditária e na anemia falciforme. Na anemia falciforme, por vezes as hemácias foram praticamente indeformáveis, nas condições de realização do nosso estudo.

FIGURA 1

**Deformabilidade Eritrocitária:
Normais x Esferocitose x Anemia Falciforme**



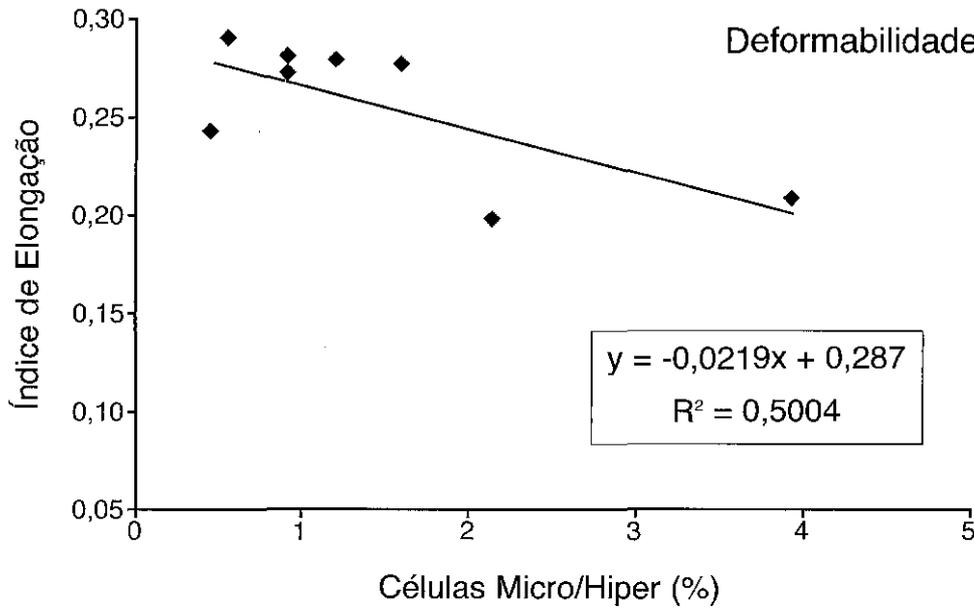
Comparativo das médias e desvios-padrão (intervalos verticais) relativos à deformabilidade eritrocitária, entre casos normais e portadores de esferocitose hereditária e anemia falciforme, sob diferentes pressões de cisalhamento, por ectacitometria.

Tentando avaliar se havia uma ligação entre o grau de diminuição da deformabilidade e a intensidade da doença de base, correlacionamos os valores do índice de elongação no shear stress 5,34 Pa com parâmetros indicativos de maior gravidade clínica. Na esferocitose hereditária obtivemos nítida correlação entre o índice de elongação e porcentagem de células simultaneamente microcíticas e

hiperdensas (figura 2), ambas indicativas de maior gravidade clínica. Na anemia falciforme, houve boa correlação entre a intensidade da diminuição do índice de elongação e a quantidade de células simultaneamente microcíticas e hiperdensas (figura 3). Esses achados sugerem que quanto maior a intensidade das manifestações clínicas, maior a dificuldade de deformação celular.

FIGURA 2

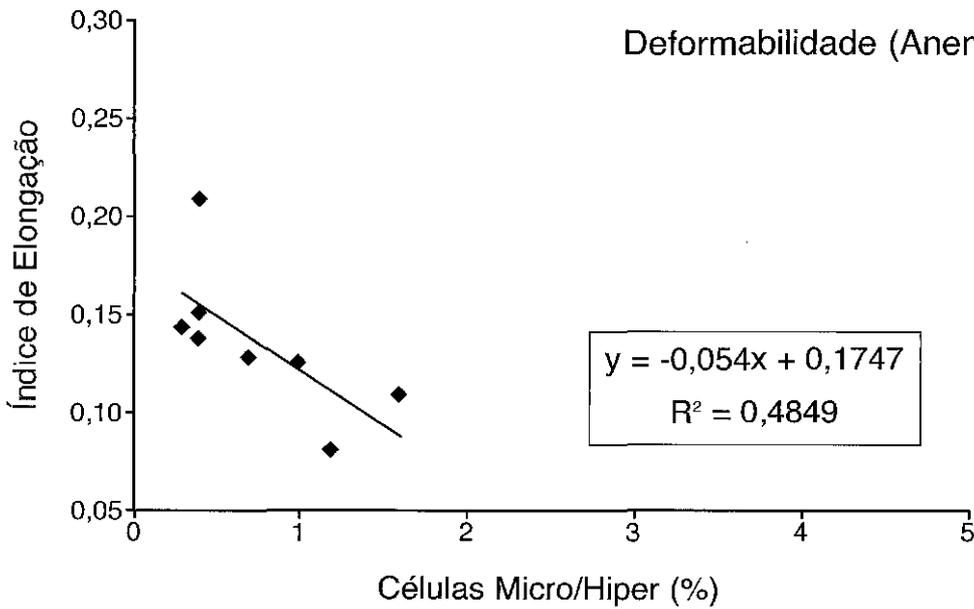
Deformabilidade (Esferocitose)



Regressão Linear em pacientes com esferocitose, comparando o Índice de Elongação com as porcentagens de células simultaneamente microcíticas e hiperdensas.

FIGURA 3

Deformabilidade (Anemia Falciforme)



Regressão Linear em pacientes com anemia falciforme, comparando o Índice de Elongação com as porcentagens de células simultaneamente microcíticas e hiperdensas.

O nosso estudo, realizado em 32 indivíduos demonstrou diferentes capacidades de deformabilidade do eritrócito quando as hemácias foram submetidas a diferentes tensão de cisalhamento. As células de indivíduos normais apresentaram pequena variação do índice de elongação (IE) ou de deformabilidade, apresentando uma curva padrão que serve para identificar o padrão considerado como normal. Comparativamente, as células dos pacientes diagnosticados como esferocitose hereditária e anemia falciforme apresentaram, como característica, uma diminuição da deformabilidade, diferenciando-se do padrão normal.

A esferocitose hereditária é uma afecção comum, sendo a anemia hemolítica constitucional mais freqüente em descendentes do norte da Europa. É encontrada em várias etnias, e presente também muito freqüentemente no Brasil. Caracteriza-se pela presença de esferócitos no sangue periférico, células estas que apresentam forma arredondada, com menor volume celular e maior concentração de hemoglobina. A presença dos esferócitos é decorrente de anormalidades na estrutura protéica da membrana eritrocitária, com anormalidades na quantidade ou qualidade da espectrina, anquirina, banda 3, e proteína 4.2. As interações entre os vários constituintes do citoesqueleto eritrocitário com as proteínas integrais é muito importante para a manutenção da forma eritrocitária e pela sua capacidade de se deformar na circulação. Na esferocitose hereditária, a fraca interação entre o citoesqueleto e as proteínas integrais, leva a um enfraquecimento da membrana, com perda de constituintes lipídicos sob a forma de vesículas. Quanto maior o defeito nas interações protéicas, maior é a instabilidade da membrana, e maior a perda de lípidos. Essa perda de material lipídico da membrana leva a uma diminuição do volume celular, com alteração da geometria celular, um dos mais importantes determinantes da deformabilidade eritrocitária. Observamos nos pacientes portadores de esferocitose diminuição da deformabilidade em todos os casos estudados, indicando que a ectacitometria é um bom método para o diagnóstico da moléstia. Na esferocitose, a perda de material lipídico da membrana não é acompanhada de perda proporcional do conteúdo de hemoglobina celular, fazendo com que a célula tornada menor do que o normal tenha uma concentração maior de hemoglobina. Essa célula mais densa apresenta portanto um outro fator para diminuir a sua capacidade de deformação, pois a viscosidade interna da célula é outro importante determinante da deformabilidade celular. A quantidade de células

microcíticas e de células hiperdensas identificadas pela eritrocitometria ao contador automático tem relação com a gravidade clínica do caso, e mostraram relação interessante com o grau de diminuição da deformabilidade eritrocitária, medida no ponto de maior índice de elongação. Quanto maior o número de micrócitos e de células hiperdensas, maior o grau de diminuição da deformabilidade, sugerindo que o índice gerado pela ectacitometria tem também um valor prognóstico. Portanto, na esferocitose hereditária quanto maior o defeito protéico, maior a perda de material da membrana, maior a quantidade de micrócitos e de células densas, e maior o defeito na deformabilidade.

A anemia falciforme caracteriza-se pela presença de uma hemoglobina anormal, a hemoglobina S, que se polimeriza sob condições de baixa tensão de oxigênio. A hemoglobina S é decorrente de uma mutação na posição 6 da cadeia da globina β , com uma substituição de um ácido glutâmico por uma valina. É caracterizada por fenômenos vaso-oclusivos e hemólise, tendo intensidade clínica variável. Inúmeros fatores influenciam essa variabilidade clínica, e entre eles seguramente a deformabilidade eritrocitária deve ter papel preponderante. Na anemia falciforme a polimerização da hemoglobina no interior da célula provoca uma maior viscosidade do meio interno, tornando a célula mais rígida e portanto menos deformável. Além da viscosidade interna aumentada, outro determinante da deformabilidade está alterado na anemia falciforme, ou seja a geometria celular. As células que apresentam polimerização da hemoglobina mudam de forma, apresentando o aspecto de foice (células falcizadas), que são mais rígidas e, portanto, também menos deformáveis. Em todos os casos de anemia falciforme estudados por nós à ectacitometria observamos acentuada diminuição da deformabilidade, revelando que o método é útil na demonstração direta da fisiopatologia da doença. Assim como na esferocitose, houve relação entre o grau de lesão celular, refletido pela quantidade de células ao mesmo tempo microcíticas e hiperdensas e a intensidade do defeito da deformabilidade. Isso sugere que a ectacitometria tem utilidade, também, na avaliação da gravidade do caso.

Há necessidade de um estudo mais abrangente para avaliarmos se a deformabilidade pode servir de parâmetro no seguimento clínico dos pacientes portadores de anemia falciforme. Poderá também servir como meio de avaliação de fármacos que possam ter sucesso na diminuição da tendência a falcização e com isso ter aplicação direta na prática clínica.

CONCLUSÕES

O estudo da deformabilidade eritrocitária à ectactometria mostrou ser um método aplicável na prática clínica, sendo útil no diagnóstico e na avaliação da gravidade das patologias estudadas. A deformabilidade esteve sempre diminuída nos pacientes com esferocitose hereditária e anemia falciforme, sendo importante fator na etiopatogenia de ambas as doenças.

SUMMARY

The erythrocytic deformability was studied through ektacytometry in a group of hereditary spherocytosis and sickle-cell anemia carrier patients, and compared with results obtained from normal persons. The ektacytometry was done using LORCA (Laser-assisted rotation cell analyser - R&R Mechatronic, Netherlands). We found reduced cellular deformability, measured by an elongation index (or deformability index), in all carriers of hereditary spherocytosis and sickle cell anemia. Deformability level reduction was related to a bigger clinical aggravation, occurring a correlation between the percentage of microcytic and hyperdense cells, verified in hereditary spherocytosis and also in sickle cell anemia. The loss of membrane material, leading to a cellular geometry alteration, cellular dehydration and increase of cytoplasmic viscosity, concur to diminish the deformability, found in hereditary spherocytosis. In the sickle cell anemia, the deformability diminishing is related with cellular density increase, due to hemoglobin-S characteristic, cellular dehydration and erythrocytic membrane damage.

Key Words: Erythrocyte; cellular deformability; ektacytometry.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DACIE, J.V.; LEWIS, S.M.; Investigation of the hereditary haemolytic anaemias. In: **Practical Haematology**, 6th ed, Churchill Livingstone, 1984, pp.152-178.
2. HARDEMAN, M.R.; GOEDHART, P.T.; DOBBE, J.G.G.; et al.; Laser-assisted optical rotational cell analyser (L.O.R.C.A.): A new instrument for measurement of various structural hemorheological parameters. **Clinical Hemorheology** 14 (4) 1994, pp. 605 - 618.
3. HARRIS, I.M.; McALISTER, J.M.; PRANKERD, T.A.J.; The relationship of abnormal red cells to the normal spleen. **Clin Sci** 16, 1957, pp. 223-230.
4. LUKENS, J.N.; Hereditary spherocytosis and other hemolytic anemias associated with abnormalities of the red cell membrane and cytoskeleton. In: WINTROBE, M.M.; LEE, G.R.; BITHELL, T.C.; FOERSTER, J.; ATHENS, J.W.; LUKENS J.N., **Wintrobe's Clinical Hematology**, 9th ed, vol. 2, Philadelphia, 1993, pp965-989.
5. MOHANDAS, N.; HEBBEL, R.P.; Erythrocyte deformability, fragility and rheology. In: ENBURI, S. H.; HEBBEL, R.P.; MOHANDAS, N.; STEINER, M.H.; In: **Sickle cell disease: Basic principal and clinical practice**. New York, Raven, 1994, pp205-215.
6. MOHANDAS, N.; CHASIS J.A.; Red blood cell deformability, membrane material properties and shape: regulation by transmembrane, skeletal and cytosolic proteins and lipids. **Seminars in Hematology** 30 (3), 1993 pp 171-192.
7. MOKKEN, F.; KEDARIA, M.; HENNY, P.; HARDEMAN, M.R.; GELB, A.W.; The clinical importance of erythrocyte deformability, a hemorheological parameter. **Annals of Hematology** 64, 1992, pp113-122.
8. SUTERA, S.P.; GARDNER, R.A.; BOYLAN, C.W.; CAROLL, G.L.; CHANG, K.C.; MARVEL, J.S. KILO, C.; GONEN B.; WILLIAMSON, J.R.; Age-related changes in deformability of human erythrocytes. **Blood** 65, 1995, pp275-282.

Endereço para correspondência: FRANCISCO OLIVEIRA NASCIMENTO

Av. São João, 1588 - apto 26 - Santa Cecília - São Paulo - SP

CEP 01211-900 - Fone: 223-9060