

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

RAFAELA MIRAVALHES

**USO DOS ÍNDICES HB/CHCM, HB/RDW E CHCM/RDW NA
DIFERENCIAÇÃO DA GRAVIDADE CLÍNICA DA
ESFEROCITOSE HEREDITÁRIA**

CURITIBA

2013

RAFAELA MIRAVALHES

**USO DOS ÍNDICES HB/CHCM, HB/RDW E CHCM/RDW NA
DIFERENCIAÇÃO DA GRAVIDADE CLÍNICA DA
ESFEROCITOSE HEREDITÁRIA**

Artigo apresentado junto ao Curso de Especialização em Análises Clínicas, do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal do Paraná, como requisito para obtenção do título de especialista.

Professor Orientador: Prof. Drº. Railson Henneberg

CURITIBA

2013

RESUMO

A esferocitose hereditária (EH) é uma forma comum de anemia hemolítica que apresenta grande diversidade clínica. A classificação da EH nas formas discreta, moderada e severa é baseada na concentração de hemoglobina, na contagem de reticulócitos e na concentração de bilirrubina sendo esta classificação importante, por exemplo, no momento da avaliação dos benefícios da esplenectomia. Pela baixa sensibilidade de alguns dos parâmetros tradicionalmente utilizados na rotina clínica para a classificação da EH, a busca por novos marcadores é fundamental para a melhor compreensão da gravidade da doença. O objetivo desse estudo foi estabelecer potenciais marcadores da gravidade da EH com base nos parâmetros convencionais – hemoglobina, reticulócitos e níveis de bilirrubina bem como pelas relações - Hb/MCHC, Hb/RDW e MCHC/RDW. Foram avaliados 50 indivíduos, 25 homens e 25 mulheres, entre 1 a 17 anos com diagnóstico de EH atendidos no setor de Hematopediatria do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. Os pacientes foram diagnosticados com EH de acordo com dados bioquímicos e hematológicos, além da história clínica e familiar. A gravidade da doença foi estratificada de três formas baseando-se (1) na concentração de hemoglobina, denominado GRUPO 1; (2) na contagem de reticulócitos, GRUPO 2 e de acordo com (3) o concentração plasmática da bilirrubina total, GRUPO 3. Os critérios para esta estratificação foram baseados no *Guidelines for the diagnosis and clinical management of Hereditary Spherocytosis*. No GRUPO 1, os parâmetros Hb/CHCM e Hb/RDW foram estatisticamente diferentes entre os grupos discreto, moderado e severo. No GRUPO 2, o índice Hb/CHCM, não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos, enquanto que no GRUPO 3, nenhum dos parâmetros avaliados apresentou diferenças importantes entre os grupos. Comparando os três índices, o CHCM/RDW apresentou pior comportamento diferencial entre os três grupos. Nossos resultados apontam que o grau de gravidade de EH parece estar correlacionado a concentração de hemoglobina, e a junção do RDW e da CHCM podem servir de maneira útil para a distinção da gravidade da EH. A utilização de critérios clínicos em conjunto com estes parâmetros pode se constituir em nova forma de classificação da doença, bem como na seleção dos pacientes a esplenectomia.

Palavras-chaves: esferocitose hereditária, CHCM/RDW, Hb/RDW, Hb/CHCM

ABSTRACT

The Hereditary Spherocytosis (HS) is a common form of hemolytic anemia that shows great clinical diversity. The classification of mild, moderate and severe HS forms is based on the concentration of hemoglobin and bilirubin, and the reticulocytes count; this classification is important, for example, when assessing the benefits of splenectomy. By the low sensitivity of some parameters traditionally used in clinical routine for HS classification, the search for new markers is fundamental to a better understanding of the severity of the disease. Objective: The aim of this study was to establish potential markers of severity of HS based on conventional markers - hemoglobin, reticulocytes and bilirubin levels as well as the parameters - Hb / MCHC , Hb / RDW and MCHC / RDW. Material and methods: We evaluated 50 individuals, 25 male and 25 female, aged 1 to 17 years with a diagnosis of HS treated at Hematology pediatric service at Hospital de Clinicas, Universidade Federal do Paraná. Patients were diagnosed with HS according to biochemical and hematological data, besides clinical and familiar history. Disease severity was classified in three forms based on (1) concentration of hemoglobin, known as Group 1, (2) reticulocyte count, known as Group 2 and (3) total bilirubin plasma concentrations known as Group 3. The criteria for this stratification were based on the Guidelines for the diagnosis and clinical management of Hereditary Spherocytosis. Results: In group 1, Hb / CHCM and Hb / RDW parameters were statistically different between groups mild, moderate and severe. In group 2, Hb/MCHC, showed no statistically significant difference between the groups, whereas in group 3, none of the evaluated parameters showed significant differences between groups. Comparing the three parameters, MCHC / RDW showed the worst stratification performance between the three groups. Conclusion: Our results indicate that the severity of HS appears to be related with hemoglobin concentration, and the correlation between RDW and MCHC may be useful to distinguish the severity of HS. The use of clinical criteria with these parameters may constitute a new form of classification of the disease as well as it might help identification of patients that must be submitted to splenectomy.

Keywords: hereditary spherocytosis, MCHC / RDW, Hb / RDW, Hb / MCHC

INTRODUÇÃO

A Esferocitose Hereditária (EH) constitui a causa mais frequente de anemia hemolítica não imune, afetando aproximadamente um a cada 1000 indivíduos no Brasil, sendo que em 75% dos casos o padrão de herança é autossômica dominante. É uma doença que envolve a deficiência qualitativa e/ou quantitativa de cinco proteínas de membrana do eritrócito (1, 2).

Os eritrócitos são formados por uma bicamada lipídica externa (colesterol e fosfolípidios) e uma camada interna citoplasmática baseada em espectrina, a qual recobre 65% da superfície do eritrócito, formando o citoesqueleto celular. Os movimentos combinados destas camadas verticalmente e horizontalmente através das interações com as proteínas transmembranas conferem deformabilidade e elasticidade aos eritrócitos na circulação. Das diferentes proteínas transmembranas destaca-se a Banda 3 que medeia as interações do citoesqueleto com a bicamada lipídica através da ligação com outras proteínas como a anquirina, proteína 4.2 e, ainda, as α e β espectrinas, que são responsáveis pela estabilização da membrana eritrocitária. Alterações de quaisquer uma destas proteínas podem ser relacionadas à fisiopatologia da EH (Figura 1) (2-4).

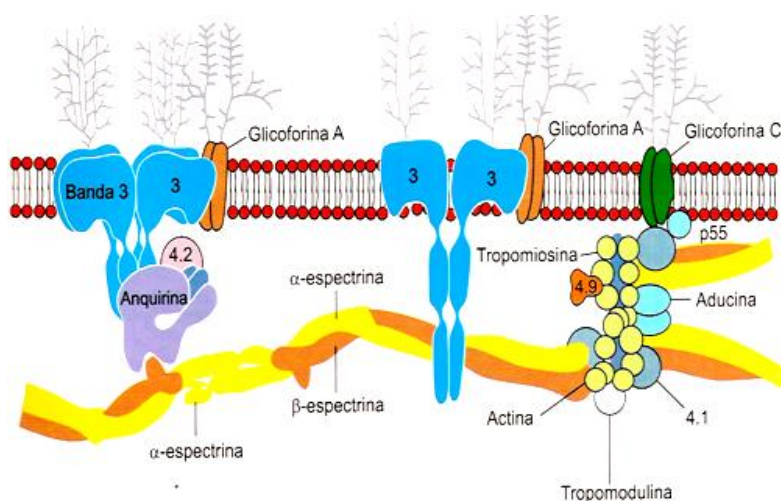


Figura 1 – Estrutura da membrana eritrocitária.

O defeito determinante da EH é a formação de esferócitos, os quais possuem a superfície celular reduzida em relação ao volume intracelular fazendo com que o formato da célula seja esférico, o que leva a uma redução da deformabilidade e, assim, aumento da fragilidade osmótica. A diminuição da área de superfície celular do eritrócito pode ser consequência de dois mecanismos diferentes da doença; no primeiro ocorrem defeitos de espectrina e anquirina levando à redução na densidade do citoesqueleto desestabilizando a bicamada lipídica e, assim, liberando microvesículas contendo Banda 3. O segundo mecanismo ocorre devido à deficiência de Banda 3 ou proteína 4.2, o que leva a perda da capacidade de estabilização de lipídios pela Banda 3, resultando, também, na liberação desta através de microvesículas. Ambos os defeitos levam a formação de esferócitos que são capturados e removidos pelo baço, gerando quadros de hemólise ^(5, 6).

O defeito mais frequente em pacientes com EH diagnosticados na idade adulta está relacionado à proteína transmembranar banda 3, sendo esta alteração responsável por uma anemia hemolítica severa. Por outro lado, em crianças diagnosticadas com EH predomina a deficiência de espectrina e anquirina ^(7, 8).

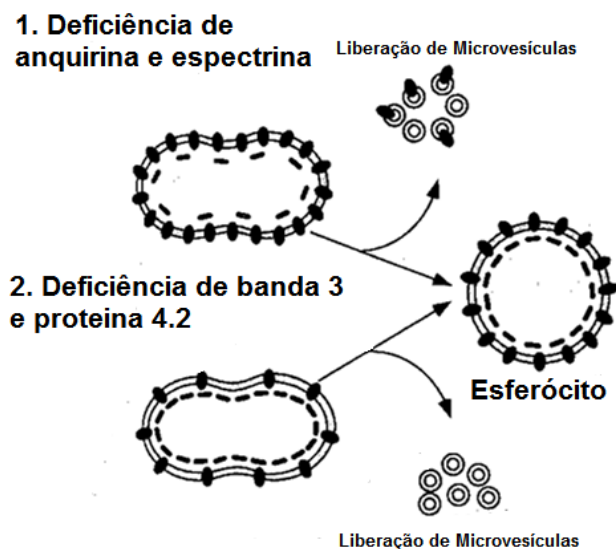


Figura 2 – Principais deficiências de proteínas de membrana eritrocitária que causam a esferocitose hereditária.

Adaptado (9).

As manifestações clínicas dos pacientes com EH são variadas, porém, a estratificação da doença é importante para a gestão clínica visto que somente pacientes com EH moderada ou grave terão indicação para esplenectomia. Para tanto são consideradas a história familiar, evidências de hemólise, tais como, anemia, icterícia, reticulocitose e esplenomegalia e, também, verifica-se a presença de esferócitos no esfregaço sanguíneo. Portanto, a doença pode ser caracterizada como leve, moderada ou severa levando em conta a sintomatologia, níveis de hemoglobina, contagem de reticulócitos e concentração de bilirrubina (Tabela 1)^(2, 6, 7)

Quadro 1. Classificação da esferocitose hereditária.

Classificação	Leve	Moderada	Severa
Hemoglobina (g/dl)	>11,0	8,0-11,0	<8,0
Reticulócitos (%)	<6	>6	>10
Bilirrubina (µmol/l)	<34	>34	>51
Esplenectomia	Não é necessária durante infância e adolescência	Necessária antes da puberdade	Necessária – esperar até 6 anos se possível

Fonte: Adaptado de Bolton-Maggs *et al.*,(2011)

Estes critérios analíticos convencionais utilizados para o diagnóstico e classificação da doença concentram-se fundamentalmente nos efeitos resultantes da fragilidade dos esferócitos com subsequente sequestro esplênico e os estímulos eritropoiéticos para contrabalancear essa remoção (concentração de hemoglobina, contagem de reticulócitos, níveis de bilirrubina e fragilidade osmótica). O conteúdo de espectrina ou identificação e quantificação das deficiências proteicas podem ser obtidos por testes eletroforéticos, porém, são mais utilizados para fins de pesquisa sobre a doença tendo em vista o alto custo e tempo que demandam para execução quando comparados aos parâmetros usuais de diagnóstico de EH que podem ser adequados à rotina de qualquer laboratório ^(10, 11).

A esplenectomia é o tratamento clássico para a EH, tendo em vista o aumento do tempo de vida dos eritrócitos na circulação com melhora da sintomatologia. Com a redução da hemólise há uma melhora da anemia e diminuição dos níveis de bilirrubina, o que diminui também o risco de formação de cálculos biliares. No entanto, os pacientes devem ser criteriosamente selecionados para este procedimento, pois há riscos imediatos e de longo prazo após a retirada do baço.

Os riscos imediatos são aqueles inerentes a qualquer procedimento cirúrgico e incluem hemorragia, lesão de órgãos adjacentes ou infecção pós-operatória; já a complicação de longo prazo mais importante, a qual ocorre em até 4,4% dos esplenectomizados, é a ocorrência de sepse por micro-organismos encapsulados, especialmente *Streptococcus pneumoniae*, sendo que este risco decorre da ausência da função imunológica do baço, o qual é responsável pelo *clearance* das bactérias encapsuladas ^(10, 12). Portanto, os pacientes são vacinados antes da esplenectomia contra os micro-organismos mais comuns nestas infecções como, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, e *Neisseria meningitidis* ^(13, 14). Além disso, há um aumento significativo do risco de eventos adversos tromboembólicos arteriais e venosos após esplenectomia, devido ao aumento nos níveis de colesterol e viscosidade do sangue ^(14, 15).

A seleção de pacientes para a esplenectomia é baseada nos sintomas e na presença de complicações como, cálculos biliares e icterícia, sendo em geral indicada para casos de EH severa, somente em alguns casos com doença moderada e quase nunca considerada em casos leves. Nestes últimos casos, a cirurgia é indicada somente quando existem complicações recorrentes ou a propensão ao desenvolvimento destas no futuro (Tabela 1). Porém, é importante ter em mente que em qualquer dos casos a retirada do baço será realizada somente se os benefícios superarem os riscos inerentes ao procedimento ⁽¹³⁾.

O diagnóstico da esferocitose hereditária é um passo muito importante no curso desta tendo em vista a gestão clínica, no entanto, a classificação da severidade da doença é essencial, sobretudo em crianças, no momento da avaliação dos benefícios da esplenectomia. Portanto, a busca por marcadores

novos ou complementares é fundamental para uma classificação coerente com a clínica do paciente.

O objetivo desse estudo foi estabelecer potenciais marcadores da severidade da EH com base nos parâmetros convencionais – hemoglobina, reticulócitos e níveis de bilirrubina – e, também, através das relações - Hb/MCHC, Hb/RDW e MCHC/RDW.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados 50 indivíduos, 25 homens e 25 mulheres, entre 1 a 17 anos com diagnóstico de EH atendidos no setor de Hematopediatria do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. Os pacientes foram diagnosticados com EH de acordo com dados bioquímicos e hematológicos, além da história clínica e familiar apresentada. A gravidade da doença foi estratificada de três formas baseando-se (1) na concentração de hemoglobina, denominado GRUPO 1; (2) na contagem de reticulócitos, GRUPO 2 e de acordo com (3) o nível plasmático da bilirrubina total, GRUPO 3 (QUADRO 2). Os critérios para esta estratificação foram baseados no *Guidelines for the diagnosis and clinical management of Hereditary Spherocytosis* que classifica a EH em leve, moderada ou severa, com adaptações ⁽⁷⁾.

QUADRO 2 – Estratificação dos pacientes com EH de acordo com a concentração de hemoglobina, contagem de reticulócitos e concentração de bilirrubina sérica.

GRUPO 1 Hemoglobina (g/dl)	GRUPO 2 Reticulócitos (%)	GRUPO 3 Bilirrubinas (mg/dl)	
12 a 15 g/dl	Abaixo de 6%	Abaixo de 2mg/dl	EH discreta
8 a 12 g/dl	Entre 6 e 10%	Entre 2 e 3 mg/dl	EH moderada
Abaixo de 8 g/dl	Acima de 10%	Acima de 3 mg/dl	EH severa

As amostras de sangue total foram coletadas em tubo de EDTA K³ (5 ml), marca BD[®], devidamente identificado, sendo armazenadas por um período

de 30min a 3h até serem processadas. As análises hematológicas foram processadas no analisador hematológico Sysmex® modelo XT 2000i (Sysmex Corporation, Kobe, Japan). Os parâmetros hematológicos analisados foram: contagem de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM), Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM), *Red Cell Distribution Width* (RDW). Após a obtenção destes parâmetros, foram calculadas as relações entre a CHCM, a hemoglobina e o RDW, desta forma foram obtidos os parâmetros Hb/CHCM, Hb/RDW e CHCM/RDW.

Com relação aos parâmetros reticulocitários, foram avaliados a contagem percentual (RET%) e absoluta (RET ABS) de reticulócitos, o conteúdo de hemoglobina no reticulócito (RET-Hb) e a Fração de Imaturidade Reticulocitária (IRF) de maneira automatizada no analisador Sysmex Modelo XT 2000i.

Enzimas hepáticas (AST, ALT), a concentração das bilirrubinas séricas, Lactato desidrogenase (LDH) foram realizadas no setor de Imunoquímica do Hospital das Clínicas da UFPR no analisador bioquímico Dimension 5000. Foram incluídos no estudo pacientes com diagnóstico de EH que possuíam teste de Coombs Negativo, além da ausência de transfusão sanguínea nos últimos três meses.

Os dados dos parâmetros hematológicos, estratificados em 3 grupos de concentrações, foram analisados pela estatística de análises de variância (Anova, fator único) e teste de Tukey para comparações de médias usando o pacote estatístico Statistica 10.0 (StatSoft). Os dados foram avaliados e considerados em distribuição normal com o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov com o uso do pacote estatístico SigmaStat 3.1 (Systat Software Inc). A significância estatística foi considerada para $p < 0,05$.

RESULTADOS

Baseado no *Guideline* proposto por Bolton-Maggs *et al* em 2011, os pacientes com EH foram classificados de três maneiras distintas, para avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos. A tabela 1 apresenta os dados hematológicos nos três grupos formados. O GRUPO 1 apresentou 10 pacientes (20%) com EH discreta, 31 com EH moderada (62%) e 9 com EH severa (18%). O GRUPO 2 foi formado por 9 pacientes com EH discreta (18%); 17 com EH moderada (34%) e 24 indivíduos com EH severa (48%), enquanto que o GRUPO 3 foi constituído por 19 pacientes com EH discreta (38%); 6 com EH moderada (12%) e 25 com EH severa (50%).

Analisando o GRUPO 1, a contagem de eritrócitos e o hematócrito apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos EH discreta, EH moderada e EH severa. O VCM não apresentou diferenças nos mesmos grupos. Analisando a HCM, a CHCM e o RDW, o grupo classificado como EH severa, apresentou diferença significativa com o grupo EH discreta. No GRUPO 2, apenas a CHCM apresentou diferença significativa entre o grupo EH discreta e EH severa. No GRUPO 3, nenhum parâmetro hematológico apresentou diferenças estatisticamente significativas (Tabela 1).

Tabela 1 – Valores médios e desvio padrão dos parâmetros hematológicos nos pacientes com esferocitose hereditária estratificados nos Grupos 1, 2 e 3.

		ERI	HGB	HCT	VCM	HCM	CHCM	RDW
Grupo 1	DISC (n=10)	4,22* (±0,48)	12,4* (±0,54)	35,4* (±2,44)	84,5 (±8,91)	29,6 (±2,43)	35,1 (±1,94)	18,8 (±1,75)
	MOD (n=31)	3,65* (±0,44)	10,2* (±1,20)	29,8* (±3,05)	82,2 (±7,86)	28,0 (±2,58)	34,2 (±1,44)	22,4 (±3,92)
	SEV (n=9)	2,83* (±0,56)	7,0* (±0,66)	21,8* (±2,17)	79,1 (±11,0)	25,7** (±4,21)	32,4** (±2,82)	24,4** (±3,65)
Grupo 2	DISC (n=9)	4,04 (±0,68)	10,6 (±2,51)	31,9 (±6,47)	79,0 (±10,3)	26,2 (±4,07)	33,0 (±2,84)	19,3 (±3,55)
	MOD (n=17)	3,69 (±0,67)	10,5 (±2,07)	30,3 (±4,89)	83,0 (±8,93)	31,1 (±9,36)	33,7 (±3,43)	20,7 (±2,77)
	SEV (n=24)	3,40 (±0,49)	9,5 (±1,52)	27,9 (±4,20)	82,6 (±8,35)	28,1 (±2,75)	34,1** (±1,48)	24,1 (±3,81)
Grupo 3	DISC (n=19)	3,70 (±0,77)	10,0 (±2,29)	29,7 (±5,59)	81,4 (±9,90)	27,3 (±3,55)	33,5 (±2,65)	21,0 (±4,34)
	MOD (n=6)	3,88 (±0,56)	10,6 (±1,67)	31,5 (±5,09)	81,1 (±3,69)	27,1 (±0,92)	33,5 (±0,91)	21,4 (±3,33)
	SEV (n=25)	3,49 (±0,51)	9,9 (±1,77)	28,8 (±4,62)	82,8 (±9,09)	30,3 (±7,95)	34,1 (±2,71)	23,0 (±3,62)

NOTA: *Diferença estatisticamente significativa entre os três grupos (DISC,MOD e SEV).

** Diferença estatisticamente entre o grupo DISC e SEV.

DISC= esferocitose hereditária discreta

MOD= esferocitose hereditária moderada

SEV= esferocitose hereditária severa

Erit – erythrocyte (unidade); Hb – hemoglobina (); GV = globular volume (%);

MCV – medium corpuscular volume (); MCH – medium corpuscular

hemoglobina; MCHC- medium corpuscular hemoglobina concentration; RDW

A tabela 2 ilustra o comportamento dos parâmetros reticulocitários. A contagem percentual e absoluta dos reticulócitos foi diferente entre o grupo EH discreta quando comparada com os grupos EH moderada e severa, no GRUPO 1. O Ret-Hb e o IRF não foram estatisticamente diferentes entre os três grupos formados (GRUPO 1). Obviamente, no GRUPO 2, houve diferenças entre os grupos, com exceção ao Ret-Hb. No GRUPO 3, os casos de EH discreta e severa apresentaram diferenças significativas tanto para a contagem percentual quanto para a contagem absoluta de reticulócitos.

Tabela 2 – Índices reticulocitários encontrados nos pacientes com esferocitose hereditária estratificados nos Grupos 1, 2 e 3.

		RET (%)	RET (ABS)	Ret-Hb	IRF
Grupo 1	DISC (n=10)	5,53±2,90	227,0±121,2	33,35±2,26	30,50±14,49
	MOD (n=31)	11,9±5,16***	428,6±189,3***	32,58±2,87	42,98±15,43
	SEV (n=9)	11,3±6,18	295,7±179,8	32,27±1,99	42,80±18,51
Grupo 2	DISC (n=9)	3,02±1,45*	103,3±67,5*	32,07±2,58	24,13±16,25
	MOD (n=17)	7,97±1,49*	292,7±65,3*	32,61±2,79	37,94±12,10
	SEV (n=24)	15,1±3,65*	513,0±145,8*	32,96±2,54	48,35±14,08**
Grupo 3	DISC (n=19)	7,67±5,13	253,9±184,2	32,15±2,49	37,62±21,3
	MOD (n=6)	11,0±4,11	412,9±133,2	32,23±2,64	40,30±9,28
	SEV (n=25)	12,6±5,30**	436,6±176,6**	33,19±2,67	42,64±13,05

NOTA: *Diferença estatisticamente significativa entre os três grupos (DISC,MOD e SEV).

** Diferença estatisticamente entre o grupo DISC e SEV.

*** Diferença estatisticamente entre o grupo MOD e DISC e entre SEV e DISC.

DISC= esferocitose hereditária discreta

MOD= esferocitose hereditária moderada

SEV= esferocitose hereditária severa

A tabela 3 demonstra o perfil bioquímico dos vários grupos formados. Nenhuma diferença entre estes parâmetros foi observados em nenhuma das formas de estratificação dos grupos, a não pelas diferenças encontradas no GRUPO 3, o que já era esperado.

Tabela 3 – Perfil bioquímico encontrados nos pacientes com esferocitose hereditária estratificados nos Grupos 1, 2 e 3.

		BT	BD	BI	TGO	TGP	LDH
Grupo 1	DISC (n=10)	6,43±11,5	2,11±5,40	4,31±6,24	31,0±17,2	38,7±61,4	336,0±36,2
	MOD (n=31)	3,89±3,72	0,60±0,58	3,28±3,57	32,8±22,8	17,4±19,9	434,8±164,3
	SEV (n=9)	3,31±3,15	0,42±0,11	2,88±3,08	42,7±33,0	38,4±58,0	413,8±233,4
Grupo 2	DISC (n=9)	1,45±1,34	0,37±0,18	1,08±1,28	33,5±18,7	41,7±71,6	351,8±78,3
	MOD (n=17)	5,82±9,29	1,62±4,13	4,20±5,80	35,2±30,6	25,4±29,6	463,3±265,6
	SEV (n=24)	4,27±3,21	0,53±0,40	3,74±3,00	33,0±18,9	19,7±32,1	406,0±116,3
Grupo 3	DISC (n=19)	1,21±11,5	0,44±0,19	0,77±0,34	33,6±14,5	26,9±46,2	407,1±181,5
	MOD (n=6)	2,40±3,72*	0,46±0,15	1,94±0,29*	27,6±5,27	15,5±6,18	376,7±74,3
	SEV (n=25)	7,08±3,15	1,30±3,43	5,78±4,71	35,5±30,0	25,8±38,8	428,4±180,9

NOTA: **Diferença estatisticamente significativa entre os grupos Moderada e Discreta
DISC= esferocitose hereditária discreta
MOD= esferocitose hereditária moderada
SEV= esferocitose hereditária severa

Os parâmetros Hb/CHCM, Hb/RDW e CHCM/RDW foram analisados entre os vários grupos formados, e os resultados estão descritos na tabela 4. Os parâmetros Hb/CHCM, Hb/RDW foram estatisticamente diferentes entre os grupos, utilizando a concentração de hemoglobina (GRUPO 1) como parâmetro de classificação da gravidade da doença. No GRUPO 2, o índice Hb/CHCM, não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos. No GRUPO 3, não houve diferenças importantes entre os grupos. Comparando os três índices, o CHCM/RDW apresentou pior comportamento diferencial entre os três grupos. No GRUPO 1, o CHCM/RDW apresentou diferenças entre os grupos discreto e moderada e entre o grupo discreto e severo. Nas outras classificações houve diferenças importantes apenas entre as formas discreta e o severo, no GRUPO 2.

Tabela 4 – Valores médios e desvio padrão dos índices Hb/RDW, Hb/RDW e CHCM/RDW encontrados nos pacientes com esferocitose hereditária estratificados nos Grupos 1, 2 e 3.

		Hb/CHCM	Hb/RDW	CHCM/RDW
Grupo 1	DISC (n=10)	0,35* (±0,02)	0,66* (±0,09)	1,88 (±0,22)
	MOD (n=31)	0,30* (±0,03)	0,47* (±0,12)	1,57** (±0,30)
	SEV (n=9)	0,22* (±0,02)	0,29* (±0,04)	1,34*** (±0,11)
Grupo 2	DISC (n=9)	0,32 (±0,06)	0,58 (±0,20)	1,76 (±0,37)
	MOD (n=17)	0,31 (±0,05)	0,52 (±0,14)	1,66 (±0,32)
	SEV (n=24)	0,28 (±0,04)	0,41*** (±0,12)	1,45*** (±0,25)
Grupo 3	DISC (n=19)	0,30 (±0,06)	0,51 (±0,18)	1,66 (±0,38)
	MOD (n=6)	0,32 (±0,05)	0,51 (±0,14)	1,59 (±0,27)
	SEV (n=25)	0,29 (±0,05)	0,45 (±0,13)	1,52 (±0,29)

NOTA: *Diferença estatisticamente significativa entre os três grupos (DISC,MOD e SEV).

** Diferença estatisticamente entre o grupo DISC e MOD.

*** Diferença estatisticamente entre o grupo SEV e DISC.

DISC= esferocitose hereditária discreta

MOD= esferocitose hereditária moderada

SEV= esferocitose hereditária severa

DISCUSSÃO

A EH é a forma mais comum de anemia hemolítica hereditária que não possui caráter imune, variando clinicamente de uma condição assintomática até uma anemia severa. Os principais marcadores para o diagnóstico da EH são anemia, reticulocitose, icterícia, esplenomegalia, esferócitos na extensão sanguínea, aumento da fragilidade osmótica e história familiar da doença. A identificação da proteína deficiente raramente é realizada. Usualmente, a EH é classificada nas formas discreta, moderada e severa de acordo com a gravidade dos sintomas, dados laboratoriais e história clínica/familiar.

Alguns dos parâmetros analíticos convencionais nem sempre contribuem de maneira adequada para classificar a gravidade dos casos de EH. Dentro deste contexto, pode-se destacar a variabilidade dos níveis de bilirrubina nos pacientes com EH e a limitação apresentada pela curva de fragilidade osmótica na distinção entre os casos discretos da doença com indivíduos normais⁽¹¹⁾.

No passado, a esplenectomia foi considerada como tratamento de rotina para a EH. Porém, a predisposição á processos infecciosos tem levado a uma reavaliação deste quadro. Considerando diversos fatores, a esplenectomia é indicada nos casos severos de EH quando existem sinais de anemia, incluindo comprometimento no crescimento, alterações esqueléticas, úlceras de perna e tumores extramedulares. Em pacientes com EH discreta a moderada, com cálculos biliares, o uso da esplenectomia é controverso, porque existem tratamentos para a colelitiase, o que diminui as complicações cirúrgicas. Portanto o estabelecimento de novos parâmetros para a classificação da gravidade da doença pode ser ferramenta adicional na tomada da decisão sobre a necessidade ou não da esplenectomia.

No presente estudo, o grupo estratificado de acordo com a concentração de hemoglobina (GRUPO 1), apresentou melhor comportamento na diferenciação entre a gravidade da EH. A contagem de eritrócitos, a concentração de hemoglobina e o hematócrito mudaram de acordo com a gravidade da EH neste grupo. Em estudo similar, dos 82 pacientes com EH estudados por Rocha *et al* (2012), as modificações entre as formas da EH

foram semelhantes, com exceção ao VCM, que no presente estudo manteve comportamento semelhante entre as formas da EH. Destaca-se o comportamento proporcional do RDW a gravidade da doença. Na EH, o aumento do RDW deve-se principalmente ao aumento na quantidade de reticulócitos (células maiores), que por sua vez, são proporcionais ao grau da hemólise.

Estas diferenças encontradas nos parâmetros hematológicos refletem a falta de estabilidade da membrana eritrocitária na EH, o que aumenta a formação de esferócitos, aumentando o volume celular bem como o grau de anisocitose, que são fatores inerentes a gravidade da doença ⁽¹⁶⁾. No GRUPO 2 e 3, este perfil não foi observado, o que comprova a baixa eficiência da concentração de bilirrubina e da contagem de reticulócitos para estratificar a gravidade da EH ^(11, 17, 18).

Tradicionalmente a CHCM acima de 36% é parâmetro sugestivo de EH, sendo considerado fator patognomônico para o diagnóstico da doença em neonatos⁽¹⁹⁾. Com o aumento do RDW pode refletir estados hemolíticos, a associação destes dois parâmetros pode contribuir de forma decisiva para avaliação da gravidade da EH. Michaels *et al* (1997) utilizando equipamento hematológico por impedância elétrica, associou os dois parâmetros e obteve um grau de 100% de especificidade na classificação da gravidade da EH ⁽¹⁶⁾.

Rocha *et al* estudou os índices Hb, CHCM e RDW e suas combinações para avaliação da gravidade da EH. Utilizando critérios semelhantes ao utilizado no presente trabalho, a incidência dos casos discreto, moderado e severo foi diferente dos resultados encontrados nos GRUPO 1, 2 e 3. No mesmo estudo a incidência das formas discreta, moderada e severa foi respectivamente 60%, 33% e 7%. Estratificando os pacientes do presente trabalho pela concentração de hemoglobina (GRUPO1) a incidência dos casos de EH de acordo com a sua gravidade foi semelhante ao trabalho publicado por Perrota *et al* ⁽²⁰⁾, com predomínio da forma moderada.

Os índices Hb/CHCM, Hb/RDW e CHCM/RDW apresentaram diferenças importantes entre os grupos com EH discreta, moderada e severa no GRUPO 1. No GRUPO 2, o parâmetro Hb/CHCM não foi diferente entre os grupos, enquanto que os índices que contém o RDW (Hb/RDW e CHCM/RDW) apresentaram diferenças significativas entre os portadores da EH severa e os

demais grupos. Desta forma, fica comprovado a importância que o RDW apresenta como um maneira de avaliar o grau de hemólise na EH.

O perfil bioquímico encontrado no presente estudo, ilustra o quadro heterogêneo da EH quanto a avaliação destes parâmetros, o que dificulta sua utilização como critério de diferenciação da gravidade da doença.

Comparando todos os dados estudados nos grupos 1, 2 e 3, o GRUPO 1 apresentou melhor poder de diferenciação da gravidade da doença enquanto que nos demais grupos (GRUPO 2 e 3) o perfil hematológico, reticulocitário e bioquímico apresentou pequenas diferenças entre os grupos estudados (discreta, moderada e severa).

Desta forma, fica evidente que o grau de gravidade de EH parece estar diretamente correlacionado a concentração de hemoglobina e a junção do RDW e do CHCM serve de maneira útil para a distinção da severidade da EH. A utilização de critérios clínicos em conjunto com estes parâmetros pode se constituir em nova forma de classificação da doença, bem como na seleção dos pacientes a esplenectomia.

REFERÊNCIAS

1. Hassan A, Babadoko AA, Isa AH, Abunimye P. Hereditary spherocytosis in a 27-year-old woman: case report. *Annals of African medicine*. 2009;8(1):61-3. Epub 2009/09/19.
2. Reis DB, Eid, K.A.B., Pinto LM, Neumann M. Esferocitose Hereditária no período neonatal: relato de caso e revisão de literatura. *Revista de ciências médicas – PUCCAMP*. 1996;5(3):119-23.
3. Iolascon A, Miraglia del Giudice E, Perrotta S, Alloisio N, Morle L, Delaunay J. Hereditary spherocytosis: from clinical to molecular defects. *Haematologica*. 1998;83(3):240-57. Epub 1998/05/09.
4. Liu SC, Derick LH, Agre P, Palek J. Alteration of the erythrocyte membrane skeletal ultrastructure in hereditary spherocytosis, hereditary elliptocytosis, and pyropoikilocytosis. *Blood*. 1990;76(1):198-205. Epub 1990/07/01.
5. Granjo E, Manata P, Torres N, Rodrigues L, Ferreira F, Bauerle R, et al. Esferocitose hereditária - prevalência dos défices proteicos da membrana do eritrócito. *Acta Médica Portuguesa*. 2003;16:65-9.
6. Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligsohn U, Kaushansky K, Prchal JT. *Williams Hematology*. New York: McGraw-Hill Medical; 2006.
7. Bolton-Maggs PH, Langer JC, Iolascon A, Tittensor P, King MJ. Guidelines for the diagnosis and management of hereditary spherocytosis--2011 update. *Br J Haematol*. 2012;156(1):37-49. Epub 2011/11/08.
8. Murador P, Deffune E. Aspectos estruturais da membrana eritrocitária. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2007;29(2):168-78.
9. Gallagher PG. Disorders of the red blood cell membrane: hereditary spherocytosis, elliptocytosis, and related disorders. In: Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligsohn U, Kaushansky K, Prchal J, editors. *Williams Hematology*. 7^o ed. New York: McGraw Hill Medical; 2006.
10. Arriaga NA, Cuesta MAF, González MJM, Aguirre IA, Álvarez AFT, Gutiérrez AN, et al. Hereditary spherocytosis in neonates. Review of our casuistics. . Vol. 52, n6, 2000. *Anales españoles de pediatría*. 2000;52(6).
11. Rocha S, Costa E, Rocha-Pereira P, Ferreira F, Cleto E, Barbot J, et al. Complementary markers for the clinical severity classification of hereditary spherocytosis in unsplenectomized patients. *Blood cells, molecules & diseases*. 2011;46(2):166-70. Epub 2010/12/09.
12. Morinis J, Dutta S, Blanchette V, Butchart S, Langer JC. Laparoscopic partial vs total splenectomy in children with hereditary spherocytosis. *Journal of pediatric surgery*. 2008;43(9):1649-52. Epub 2008/09/10.

13. Bolton-Maggs PH. The diagnosis and management of hereditary spherocytosis. *Bailliere's best practice & research Clinical haematology*. 2000;13(3):327-42. Epub 2000/10/13.
14. Buesing KL, Tracy ET, Kiernan C, Pastor AC, Cassidy LD, Scott JP, et al. Partial splenectomy for hereditary spherocytosis: a multi-institutional review. *Journal of pediatric surgery*. 2011;46(1):178-83. Epub 2011/01/18.
15. Schilling RF, Gangnon RE, Traver MI. Delayed adverse vascular events after splenectomy in hereditary spherocytosis. *J Thromb Haemost*. 2008;6(8):1289-95. Epub 2008/05/20.
16. Michaels LA, Cohen AR, Zhao H, Raphael RI, Manno CS. Screening for hereditary spherocytosis by use of automated erythrocyte indexes. *The Journal of pediatrics*. 1997;130(6):957-60. Epub 1997/06/01.
17. Rocha S, Costa E, Ferreira F, Cleto E, Barbot J, Rocha-Pereira P, et al. Hereditary spherocytosis and the (TA)nTAA polymorphism of UGT1A1 gene promoter region--a comparison of the bilirubin plasmatic levels in the different clinical forms. *Blood cells, molecules & diseases*. 2010;44(2):117-9. Epub 2009/11/26.
18. Rocha S, Costa E, Catarino C, Belo L, Castro EM, Barbot J, et al. Erythropoietin levels in the different clinical forms of hereditary spherocytosis. *Br J Haematol*. 2005;131(4):534-42. Epub 2005/11/12.
19. Christensen RD, Henry E. Hereditary spherocytosis in neonates with hyperbilirubinemia. *Pediatrics*. 2010;125(1):120-5. Epub 2009/12/02.
20. Perrotta S, Gallagher PG, Mohandas N. Hereditary spherocytosis. *Lancet*. 2008;372(9647):1411-26. Epub 2008/10/23.