

Este exemplar corresponde à versão final da dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp pela médica Helena Zerlotti W. Grotto.
Campinas, 23 de fevereiro de 1987.

HELENA ZERLOTTI WOLF GROTTO

Prof. Dr. Fernando Ferreira Costa
Orientador

ASPECTOS DA FUNÇÃO ESPLÊNICA NAS
DOENÇAS FALCIFORMES

Tese de Mestrado apresentada à
Faculdade de Ciências Médicas
da Universidade Estadual de
Campinas.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Ferreira Costa

Campinas

- 1987 -

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Ao tio *Mercadante*

Aos meus *país*

Ao *Fernando e Isabela*

AGRADECIMENTOS

1. Ao Professor Dr. Fernando Ferreira Costa, orientador desse trabalho.
2. A Srta. Elza M. Kimura pela amizade e valiosa colaboração técnica.
3. A todas as funcionárias do Laboratório de Hematologia do Departamento de Patologia Clínica, pelo apoio e auxílio prestados.
4. A Professora Dra. Sílvia Brandalise, demais funcionários e pacientes do Centro Infantil "Dr. Domingos Boldrini".
5. Ao Professor Dr. Ataliba Teixeira de Castilho que gentilmente fez a revisão do português do texto.
6. Ao Professor Dr. Luís Alberto Magna pela acessoria da análise estatística dos dados.
7. A Srta. Wilma Ploid e a meu pai, Celso Wolf pelo serviço fotográfico.

ÍNDICE

I - INTRODUÇÃO	01
II - CASUÍSTICA E MÉTODOS	15
II.1. Casuística	16
II.2. Métodos	19
1. Hematimetria	19
2. Estudo hemoglobínico	19
2.1. Preparo do hemolisado	19
2.2. Eletroforese de hemoglobinas	19
2.2.1. Padrão eletroforético	19
2.2.2. Dosagem de HbA ₂	20
2.2.3. Dosagem de Hb Fetal	20
2.2.4. Solubilidade de Hb S	20
3. Alterações morfológicas de hemácias	21
3.1. Quantificação de células irreversivelmente fal cizadas (CIF)	21
4. Avaliação da função esplênica	21
4.1. Contagem de hemácias com corpúsculos de Howell Jolly	21
4.2. Contagem de hemácias com irregularidades de su perfície ("pits")	21
4.3. Estudo da atividade fagocítica do baço com Cr ⁵¹	22
4.3.1. Lesão e marcação das hemácias	22
4.3.2. Depuração pelo baço	22
5. Análise estatística	23

III - RESULTADOS	24
- Contagens de hemácias com irregularidades de superfície ("pits")	25
- Sobrevida de hemácias autólogas marcadas com Cr ⁵¹	32
IV - DISCUSSÃO	45
V - RESUMO E CONCLUSÕES	56
VI - SUMMARY	59
VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
VIII - APÊNDICE	71

I - INTRODUÇÃO

A presença de eritrócitos "peculiarmente alongados e em forma de foice" foi assinalada pela primeira vez por HERRICK em 1910 em um indivíduo negro proveniente das Antilhas (30). No entanto, o termo anemia falciforme foi empregado somente em 1920 por MASON, ao descrever um paciente com características idênticas. Poucos anos após, EMMEL observou a alteração da forma discóide normal de hemácias oriundas de pacientes com doença semelhante, mantidas entre lâmina e lamínula à temperatura ambiente (23). Em 1927 HAHN e GILLESPIE demonstraram que essa transformação ocorria quando a tensão de oxigênio permanecia abaixo de 45 mmHg (76). PAULING e col.(48), em 1949 observaram que indivíduos com anemia falciforme apresentavam uma hemoglobina com mobilidade eletroforética anormal em consequência da ausência de duas cargas negativas e, portanto, possuíam estrutura molecular anômala e que mais tarde foi denominada hemoglobina S (HbS). Neste mesmo período, os fundamentos da transmissão hereditária da anemia falciforme foram elucidadas independentemente por ACIOLY no Brasil (60) e por NEEL e BEET nos Estados Unidos (76). Desse modo foi demonstrado que a presença de um único gene para HbS resultava em heterozigose, sem manifestações clínicas, enquanto que a homozigose manifestava-se como anemia falciforme (76).

O defeito bioquímico exato foi elucidado por INGRAM em 1956. Utilizando o método de "fingerprinting" esse autor demonstrou que um dos produtos da digestão da tripsina migrava diferentemente da Hb normal, pela substituição de um resíduo de ácido glutâmico por um de valina na 6ª posição da cadeia β , ocasionando a perda de duas cargas negativas por molécula de Hb (76).

Concomitantemente foi observado que a Hb S, na forma desoxigenada, era insolúvel e formava estruturas paracristalinas, resultando em acentuada elevação da viscosidade sanguínea (8,42). Esses cristais seriam polímeros de moléculas de Hb S unidas por ligações não-covalentes (19). Estudos de microscopia eletrônica (75), microscopia de luz polarizada (19) e difração de raios-X (26) facultaram a elucidação da estrutura interna dos polímeros. Cada polímero é constituído basicamente de tetrâmetros dispostos ao redor de um eixo vertical, apresentando-se ao corte transversal como anéis de 6, 8 ou 14 moléculas de Hb empilhadas umas sobre as outras, constituindo uma estrutura helicoidal ao redor de um centro vazio, com uma inclinação de cerca de $3.000 \overset{\circ}{\text{Å}}$ (42).

Essa peculiar agregação molecular acarreta repercussões importantes na morfologia celular do eritrócito, uma vez que a hemácia com quantidades significativas de Hb S, na forma desoxigenada tem o seu formato bicôncavo substituído pela forma de foice, em virtude da presença dos cristais de Hb anômala no seu interior, perda de água e cátions e conseqüente distorção da membrana celular (33,42). A formação dos polímeros é facilmente reversível com o incremento da tensão de O_2 e suficiente oxigenação da Hb, sugerindo que os polímeros são mantidos por forças físico-químicas fracas, como pontes de hidrogênio, pontes hidrofóbicas e forças de Van der Waals (42, 73). Entretanto, o processo de falcização e posterior retorno à forma normal ocorre numerosas vezes, originando alterações irreversíveis na membrana celular, com a conseqüente formação das células irreversivelmente falcizadas (CIF) (8).

Além do estado homozigótico da hemoglobinopatia S, a anemia falciforme, outras associações genéticas resultam em pre

domínio de Hb S intra-eritrocitária e, desse modo, apresentam manifestações clínicas semelhantes entre si. Em seu conjunto essas alterações são denominadas doenças falciformes, e entre elas merecem destaque as interações de Hb S com outras hemoglobinopatias, em especial as associações com a Hb C e com a talassemia β . A Hb C foi a 2ª hemoglobina anômala identificada, e a sua alteração molecular deriva da substituição de um resíduo do ácido glutâmico por um de lisina na 6ª posição da cadeia globínica β . De maneira semelhante à Hb S, é bastante freqüente na África, onde em algumas regiões 17 a 28% da população possui hemoglobinopatia C na sua forma heterozigótica. Na população negra americana essa freqüência é de 2 a 3% (76). No Brasil, a distribuição das alterações hereditárias das hemoglobinas é heterogênea, sendo que no Estado de São Paulo a freqüência estimada de heterozigoses para hemoglobina S e C é respectivamente 6,6% e 1% (60).

Os indivíduos que apresentam a associação entre os genes para hemoglobinopatia S e hemoglobinopatia C (hemoglobinopatia SC) têm uma evolução clínica benigna quando comparados aos homozigotos SS. Além disso apresentam níveis mais elevados de Hb, com concentração em torno de 10 g/dl e são encontradas no esfregaço sangüíneo numerosas hemácias em alvo (76).

A interação entre a hemoglobinopatia S e β talassemia (S β tal) é encontrada em algumas partes da África e na população mediterrânea, especialmente Grécia e Itália (76). No Brasil essa interação é bastante encontrada, devido à alta freqüência de heterozigotos para hemoglobina S, à miscigenação entre descendentes de negróides e italianos e à presença de hemoglobina S em caucasóides descendentes de sicilianos e árabes (60). Nos casos em que há supressão completa da síntese da cadeia (S β^0 tal),

a doença geralmente apresenta evolução clínica grave, similar à anemia falciforme. Quando a síntese da cadeia β não está totalmente ausente ($S \beta^+$ tal) as manifestações clínicas são moderadas e os pacientes podem ser assintomáticos (76).

Os pacientes com anemia falciforme apresentam períodos sem manifestações clínicas, com anemia moderada e níveis de Hb ao redor de 8 g/100 ml, denominada "fase estável" da doença (26, 38). A "fase estável" da doença pode ser interrompida por manifestações agudas, as "crises de falcização". Essas crises podem ser classificadas em: vaso-oclusivas, aplásticas, síndrome de seqüestração e hemolíticas. As crises aplásticas geralmente são desencadeadas por infecções, principalmente virais, e podem constituir em episódios de grande gravidade. A falência medular também pode resultar da deficiência de ácido fólico, especialmente durante a gravidez. As crises de seqüestração são mais comuns em crianças e caracterizam-se por um acúmulo maciço de hemácias, principalmente no baço, sendo provavelmente responsáveis pela maioria das mortes que ocorrem nos primeiros anos de vida dos pacientes com anemia falciforme (42, 76).

As crises hemolíticas são bastante raras, com rápida redução da vida média das hemácias, resultando em icterícia, redução acentuada da concentração de Hb e reticulocitose. As crises vaso-oclusivas são mais comuns nos pacientes com anemia falciforme e advêm da obstrução vascular conseqüente à redução na deformabilidade das hemácias, levando à hipóxia e posterior necrose tecidual. Podem afetar qualquer órgão e ocorrem preferencialmente na microcirculação, onde o fluxo é lento e a agregação eritrocitária comum (42, 76).

BARRETT-CONNOR(5) em interessante estudo em que 116

pacientes com doenças falciformes foram acompanhados durante 11 anos, observou vários dados importantes: a infecção bacteriana é a maior causa de morte na anemia falciforme, particularmente na infância, além de constituir a principal causa de hospitalização. O risco de infecções graves é maior em pacientes com menos de 4 anos de idade, e entre estas se destaca a meningite bacteriana, causada em 78% dos casos por pneumococos (2, 5, 35). Outros tipos de infecções freqüentes são: pneumonia, osteomielite, septicemia e infecção urinária. As bactérias envolvidas são aquelas que caracteristicamente possuem envoltório de polissacarídeos como: Salmonella sp, Haemophilus influenzae tipo b, Neisseria meningitidis, Escherichia coli, Enterobacter sp, Klebsiella sp e Staphylococcus aureus (7, 28, 47, 61, 63, 64 e 72), além de Mycoplasma sp (47).

As possíveis razões da maior susceptibilidade à infecção apresentada pelos pacientes com doenças falciformes são complexas e ainda não totalmente elucidadas. Aparentemente as múltiplas lesões orgânicas e a asplenia funcional conseqüentes aos episódios de oclusões vasculares têm papel preponderante. Além disso são descritas deficiência de opsoninas séricas, defeito na via alternativa do complemento, falta de tuftsina, alteração na atividade da via hexose-monofosfato dos leucócitos e defeitos na imunidade (22, 24, 29, 35, 47, 52, 61, 77).

Histologicamente o baço é constituído pelas polpas branca e vermelha, sustentadas pela cápsula e trabéculas de tecido conjuntivo. A polpa branca é formada pelos corpúsculos de Malpighi, tecido linfóide difuso e nodular. Ao redor das artérias que deixam as trabéculas para penetrar no parênquima, a polpa branca forma os envoltórios linfóides periarteriais, constituídos por fibras reticulares e linfócitos. A polpa vermelha é cons-

tituída por vasos sangüíneos de grande calibre e tortuosos que formam os seios venosos, separados pelos cordões esplênicos de BILLROTH, que tem a sua malha reticular preenchida por macrófagos e elementos circulantes do sangue. Entre o tecido linfóide e a polpa vermelha, na periferia da polpa branca, encontra-se a zona marginal, que contém seios venosos menores que recebem o sangue arterial e onde as células vindas do sangue entram em contato com o parênquima esplênico (6).

O sangue penetra no baço através da artéria esplênica que se ramifica ao longo das trabéculas, com diminuição do seu diâmetro até 0,2 mm, chegando aos centros germinativos, sendo então chamada artéria central. Daí tem origem as artérias peniciladas ou da polpa vermelha, com um diâmetro de 40 a 50 μ m e 0,6 a 0,7 mm de comprimento. Finalmente cada artéria penicilada ramifica-se em dois ou três capilares encapsulados. O sistema venoso é constituído pelos seios venosos e numerosas veias que permeiam toda a polpa vermelha e circundam a polpa branca (6).

O mecanismo exato da passagem do sangue dos sistemas arterial para venoso do baço não é ainda totalmente compreendido. Aparentemente a maior parte do fluxo sangüíneo dos capilares é diretamente drenado entre as células reticulares dos cordões esplênicos e gradualmente filtrado para os seios venosos(6). Esse sistema conhecido como "circulação aberta" do baço, é caracterizado por lentidão de fluxo, permitindo que células fagocíticas esplênicas removam o material particulado do sangue (22). Num segundo tipo de circulação, conhecida como "fechada", os capilares comunicam-se diretamente com o lúmen dos seios venosos (6, 11).

Toda essa trama vascular permite que o material par-

ticulado ou antígeno macromolecular inicialmente localizado nos macrófagos da zona marginal se espalhe aos fagócitos do restante da polpa vermelha e daí para os centros germinativos, onde se inicia a resposta imune através da produção de Ig M (6, 22).

CONSTANTOPOULOS e NAJJAR (40) sugeriram que no baço seria produzida uma imunoglobulina não específica conhecida como globulina leucofílica, pertencente à classe Ig G, que liberaria tufsina, um tetrapeptídeo opsonizador que aumenta a capacidade fagocítica dos neutrófilos frente à bactérias. Uma segunda opsonina produzida pelo baço é a properdina, componente importante da via alternativa do complemento (22). Além disso, o baço é o principal local de produção de Ig M (76).

Outras funções do baço incluem: filtração, reserva de plaquetas e hematopoese na vida intra-uterina (76).

No adulto a destruição de hemácias senescentes também acontece predominantemente na rede esplênica (49). Normalmente, após os eritrócitos chegarem ao fim de sua vida média, há perda de atividade enzimática e redução de elasticidade de membrana, com conseqüente captação das hemácias pelos macrófagos esplênicos (22). Eritrócitos morfologicamente anormais, como esferócitos, esquisócitos ou com rigidez de membrana em virtude da presença de Hb anormal como a Hb S ou Hb C, têm sua passagem impedida através dos poros das células endoteliais, resultando em destruição eritrocitária prematura (22, 49). Além disso o baço tem a capacidade de remover uma variedade de inclusões intraeritrocitárias sem destruir as hemácias (15, 49). O mecanismo pelo qual corpúsculos de Howell-Jolly, corpos de Pappenheimer ou proteínas desnaturadas da membrana celular são retiradas parece ocorrer durante a passagem pelos poros das células endoteliais dos cordões esplê-

nicos (15). A membrana celular é reconstituída e a hemácia liberada para os sinusóides sem as alterações existentes anteriormente. Esse processo é conhecido como "pitting" (15, 49, 76).

O termo "hipoesplenismo" foi proposto por EPPINGER, em 1913, para descrever a condição que se desenvolve após a extirpação do baço, em analogia ao hipotireoidismo (15). Os mecanismos conducentes ao hipoesplenismo são múltiplos e incluem desde a falta do baço conseqüente à agenesia ou esplenectomia, até sua imaturidade ou atrofia. São relatados casos de hipoesplenismo em entidades como: trombocitemia hemorrágica, "sprue" tropical, esteatorréia idiopática, ileíte, hipopituitarismo, alcoolismo, hipertireoidismo (15), após irradiação na doença de Hodgkin (13), doença celíaca (14, 70), dermatite herpetiforme (14), lupus eritematoso sistêmico (21), doença de Crohn (65), anemia falciforme (22), em recém-nascidos (32) e na velhice (83).

A noção que a ausência do baço acarretaria repercussões importantes sobre o organismo é reconhecida há muito tempo. KING e col. (37), em 1952, ao analisarem crianças esplenectomizadas antes dos seis meses de vida devido a anemia hemolítica congênita, constataram o maior risco de infecções a que estão sujeitos esses indivíduos quando comparados à população normal. LIKLITE (40) ao avaliar as alterações imunológicas pós-esplenectomia, observou um decréscimo no nível de Ig M sérica, redução na mobilização de macrófagos e níveis diminuídos de opsoninas e anticorpos citofílicos. O conjunto dessas alterações contribuiria para fagocitose deficiente de bactérias. A queda do nível de Ig M é constatada após alguns meses de esplenectomia, e provavelmente se deve à própria retirada do baço, onde são encontradas grande número de células produtoras dessa imunoglobulina (10).

Essas alterações em conjunto tornam indivíduos esplenectomizados propensos a infecções e septicemias fulminantes(47). As crianças apresentam um risco maior do que os adultos, confirmando a importância desse órgão, principalmente nos primeiros anos de vida, quando a concentração de anticorpos no plasma é reduzida e o baço tem papel primordial na captação e destruição de antígenos ainda não reconhecidos imunologicamente (37, 77). Os principais agentes infecciosos envolvidos nessas infecções são: Streptococcus pneumoniae em 50% dos casos, e Haemophilus influenzae, Staphilococcus aureus, Streptococcus do grupo A e Neisseria meningitidis nos casos restantes (40, 54).

De maneira semelhante comportam-se pacientes com baço hipofuncionante DAMESHEK (17), em 1949, descreveu um caso de hipoesplenismo em um paciente que apresentava alterações no esfregaço sanguíneo compatíveis com a ausência do baço e atrofia esplênica à autópsia. Na ocasião o autor observou: "O diagnóstico clínico de hipoesplenismo pode ser suspeitado na presença de duas características, que só podem ser detectadas pelo exame cuidadoso de um esfregaço de sangue bem estendido e bem corado: corpúsculos de HOWELL-JOLLY e hemácias em alvo". Adicionalmente são encontrados no hipoesplenismo: acantócitos, siderócitos e hemácias com irregularidades de superfície (22). Hemácias com essa última alteração morfológica, conhecidos como "pits" ou "pocks", permanecem na circulação e podem ser visualizadas através de microscopia com contraste de interferência (óptica de NOMARSKI). A origem de tais alterações não está ainda totalmente elucidada, mas elas parecem corresponder a vacúolos de baixa densidade óptica, localizados próximos da membrana, que conteriam hemoglobina degenerada ou restos de mitocôndria e membrana (9, 31, 36, 66). Em indivíduos

com baço intacto a contagem de hemácias com "pits" é baixa, com valores inferiores a 2% (1, 52), enquanto que em pacientes esplenectomizados esse valor é significativamente elevado (31, 43, 44, 46).

DIGGS (20), em 1935, descreveu as alterações histopatológicas no baço de pacientes com anemia falciforme. Inicialmente haveria uma esplenomegalia conseqüente à congestão da polpa esplênica em virtude da obstrução por grandes quantidades de células falcizadas, acompanhada de hemorragias ao redor dos corpúsculos de MALPIGHI. A oclusão vascular provocaria repetidos microenfartos, tornando o órgão fibrótico e atrófico. Esses fenômenos são coincidentes com os achados clínicos observados à palpação do baço nos pacientes com anemia falciforme. Comumente há esplenomegalia nos primeiros anos de vida, seguida de ausência do órgão à palpação após os 6 anos de idade, resultante da autoesplenectomia conseqüente à fibrose.

As repercussões da hipofunção esplênica nas doenças falciformes concentram-se principalmente na maior susceptibilidade a infecções. A importância e freqüência das infecções na evolução desses pacientes motivaram numerosas investigações a respeito da função esplênica com o emprego de diferentes metodologias. Um método que resulta em observações valiosas consiste na utilização de isótopos radioativos incorporados a hemácias lesadas pelo calor, com posterior determinação da curva de depuração e mapeamento esplênico. Essas determinações realizadas em indivíduos com doenças falciformes mostraram incapacidade de depuração das partículas marcadas e redução ou ausência do baço ou mapeamento. Ocasionalmente essa ausência do baço ao mapeamento é observada concomitantemente à esplenomegalia, caracterizando a "asplenia funcional"

(34, 45, 53, 80).

A contagem de hemácias com "pits" é empregada na avaliação da função esplênica em diversas doenças, como doença celíaca, lupus eritematoso sistêmico, dermatite herpetiforme e após irradiação na doença de Hodgkin (13, 14, 21). É um método complementar em relação aqueles que empregam isótopos radioativos, além de ser bastante simples, pouco dispendioso, cômodo e seguro para o paciente, pode ser repetido a intervalos regulares, permitindo assim o acompanhamento da evolução da função esplênica em um determinado paciente. Nos pacientes com doença falciforme há uma perfeita correspondência entre a avaliação da função esplênica pelas contagens de "pits" e por métodos radioativos, embora em algumas anemias nutricionais e em homozigotos para hemoglobinopatia C possa haver discrepância entre esses dois métodos (82). Desse modo tem sido freqüentemente empregada no estudo da função esplênica em pacientes com anemia falciforme. ROGERS e col. (62) analisaram 130 crianças jamaicanas com anemia falciforme, entre 0 e 4 anos de vida, e correlacionaram as contagens de hemácias com "pits" e episódios infecciosos, concluindo que a determinação da porcentagem de hemácias com "pits" forneceria subsídios importantes na detecção precoce dos riscos de infecções graves.

Além do mais outras investigações estabeleceram a correlação entre as contagens de hemácias com "pits", dosagem de Hb Fetal e idade dos pacientes. Aparentemente níveis elevados de Hb Fetal podem contribuir para a manutenção da normalidade da função esplênica (1, 50), assim há uma tendência à elevação das contagens concomitantemente ao incremento na idade dos pacientes (52, 67, 68, 80).

Em relação às hemoglobinopatias SC e S β talassemia o número de pacientes estudados é significativamente menor do que os SS (40, 52, 67, 68, 80). Na hemoglobinopatia SC a asplenia funcional se desenvolve mais tardialmente e de maneira gradual (47, 67, 80), representada por contagens de hemácias com "pits" apresentando valores intermediários entre os controles normais e os homozigotos SS (12, 67).

Na S β talassemia também ocorre comprometimento da função esplênica, embora existam poucos dados comparando as duas diferentes formas S β^0 tal e S β^+ tal (67). Aparentemente a esplenomegalia é freqüente, mas a tendência a enfartos e conseqüente fibrose do órgão é menor, e nos casos de S β talassemia a incidência de quadros infecciosos parece ser menor, quando comparadas aos pacientes com Anemia Falciforme (29, 52, 57). Dessa forma, a avaliação da atividade esplênica se insere entre os estudos comparativos levada a efeito nas doenças falciformes quanto aos aspectos clínicos, hematológicos, genéticos e moleculares (79). Ademais, a literatura registra apenas um estudo da medida da função esplênica em população brasileira de portadores de doenças falciformes, constituindo de 24 pacientes avaliados (80).

Consoante o exposto, e levando em consideração a escassez de dados na literatura com relação à atividade funcional do baço nas diversas doenças falciformes no Brasil e, além disso, os poucos estudos onde são comparados os pacientes $S\beta^0$ talassemicos, $S\beta^+$ talassêmicos e os homozigotos para hemoglobinopatia S, resolvemos conduzir uma avaliação de aspectos da função esplênica em pacientes homozigotos para hemoglobinopatia S, $S\beta^0$ talassemia, $S\beta^+$ talassemia e com hemoglobinopatia SC, com o objetivo de contribuir para um melhor entendimento do problema nesses grupos de pacientes.

A consecução desse objetivo inclui uma etapa inicial que consistiu na padronização do método de estudo da função esplênica pelas contagens de hemácias com "pits". Adicionalmente, a avaliação da eficácia desse método foi realizada com a utilização simultânea de técnicas radioisotópicas.

II - CASUÍSTICA E MÉTODOS

II.1. CASUÍSTICA

Foram estudados 87 pacientes com doenças falciformes procedentes do Hospital das Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP e do "Centro Infantil Domingos Boldrini". Esses pacientes compreendiam 59 com anemia falciforme, 14 com $S \beta^0$ talassemia, 10 com hemoglobinopatia SC e 4 com $S \beta^+$ talassemia.

Em todos os pacientes foi obtido consentimento para realização dos experimentos após amplo esclarecimento sobre os procedimentos a serem empregados.

O diagnóstico das alterações hereditárias das hemoglobinas foi baseado em dados clínicos e na determinação dos parâmetros hematimétricos, eletroforese de hemoglobina, dosagem de Hb A₂ e Hb F, e, na maioria dos casos, por estudo familiar.

Os portadores de doenças falciformes foram avaliados durante a fase estável da doença e não haviam recebido transfusão sanguínea nos últimos 3 meses antes do exame.

Além dos pacientes com doenças falciformes foram estudados: 1) 26 indivíduos submetidos à esplenectomia, conseqüentes a: trombocitemia hemorrágica (1), doença de Hodgkin (5), púrpura trombocitopênica idiopática (3), esferocitose hereditária (2), esquistossomose (2), leucemia linfóide crônica (1), ruptura traumática do baço (2), mielofibrose (1), doença de Gaucher (2) e 7 portadores de alterações hemoglobínicas, sendo 1 $\delta\beta$ tal, 1 $S \beta^0$ tal, 4 homozigotos β^0 talassêmicos e 1 com Hb instável. Os pacientes foram estudados após a esplenectomia em períodos variáveis de 3 meses a 11 anos (nesses pacientes não foi pesquisada a presença de baço acessório por mapeamento esplênico). 2) Quatro pa-

cientes com esplenomegalia e sem alterações hemoglobínicas, sendo 3 portadores de esquistossomose e 1 com esferocitose hereditária.

O grupo controle foi constituído de 31 adultos normais, estudantes ou funcionários do Hospital das Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, sem alterações ao exame hematológico e à eletroforese de Hb.

Na tabela I estão relacionados os valores das médias e desvios padrões dos dados hematimétricos, dosagens de Hb F e Hb A₂ nos diversos grupos estudados. Os correspondentes dados individuais dos pacientes e controles, além da idade e sexo encontram-se nas tabelas VII a XIII do Apêndice.

TABELA I: CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS DOS PACIENTES E CONTROLES - TODOS OS DADOS ESTÃO COLOCADOS COMO MÉDIA \pm DESVIO PADRÃO.

Diagnóstico	N (Nº de Pacientes)	Hb (g/dl)	HT	GV ($\times 10^3/\mu$)	VCM (fl)	HCM (pg)	Hb A ² (%)	Hb F (%)
Anemia	59	8,33	0,25	3,95	86,3	28,92	2,27	7,82
Falciforme		1,55	0,04	0,70	10,3	4,01	0,57	6,00
S β^0 Tal	14	8,08	0,24	3,58	70,47	22,70	3,58	10,82
		1,96	0,05	0,96	7,26	1,88	0,96	8,79
S β^+ Tal	4	9,17	0,28	3,96	71,5	23,57	4,65	4,80
		0,80	0,02	0,34	3,87	1,23	0,79	3,56
Hemoglobinopatia SC	10	10,61	0,30	4,17	72,29	26,72		2,81
		0,89	0,02	0,37	4,61	4,76		3,89
Controles Normais	31	12,7	0,37	4,64	84,69	27,40	2,56	0,69
		2,27	0,08	0,42	11,65	4,58	0,36	0,38
Esplenomegalias	4	10,72	0,33	4,17	92,75	30,07		
		2,25	0,07	0,25	9,53	2,98		
Esplenectomizados	26	11,30	0,34	4,04	86,05	28,38	2,70	17,18
		2,50	0,06	0,82	9,79	3,30	0,44	23,29

II.2. MÉTODOS

1. Hematimetria

Os valores hematimétricos, contagem de glóbulos vermelhos, dosagem de Hb, determinação do Ht e dos índices hematimétricos: volume corpuscular médio (VCM) e hemoglobina corpuscular média (HCM), foram obtidos através do contador eletrônico Coulter modelo SSr.

2. Estudo hemoglobínico

2.1. Preparo do hemolisado

O sangue foi colhido com EDTA (1,5 mg/ml sangue), centrifugado e separados o plasma e a camada de leucócitos. As hemácias foram lavadas adicionando-se NaCl 0,9%, em seguida centrifugadas a 2000 rpm por 10 minutos. O procedimento foi repetido por 3 vezes. Após a última lavagem, foram adicionados tetracloreto de carbono e água em quantidade correspondente a 1 e meio volume de hemácias, respectivamente. Após agitação vigorosa, a solução foi centrifugada por 20 minutos a 3000 rpm. O hemolisado apresenta-se na fase superior, límpido e livre de estroma.

2.2. Eletroforese de hemoglobinas

2.2.1. Padrão eletroforético

O hemolisado foi aplicado em fitas de acetato de celulose (Cellogel) e a eletroforese levada a efeito em Tampão Tris-EDTA-Borato pH 8,6, por 30 minutos a 220 volts. A coloração foi feita com Ponceau'S* (39).

* Coloração de Ponceau's - 0,5% de Ponceau's em ácido tricloroacético a 5%.

Os hemolisados que apresentaram hemoglobina anômala foram analisados em eletroforese em gel de agar em placas de vidro 15 cm x 11 cm, em tampão citrato ph 5,8, por 4 horas a 4°C, com uma corrente de 45mA. A coloração foi feita com benzidina * (74).

2.2.2. Dosagem de Hb A₂

A quantificação de Hb A₂ foi feita aplicando-se 15 µl de hemolisado em uma fita de acetato de celulose (Cellogel) e a eletroforese feita em Tampão Tris-EDTA-Borato ph 8,9, por 50 minutos, sendo aplicada uma corrente de 220 volts. Após a separação das hemoglobinas, a fita foi cortada, separando-se a fração correspondente à Hb A₂ das demais hemoglobinas. As duas frações foram eluídas em tampão: a 1ª, com Hb A₂ em 3 ml e a 2ª, com as demais hemoglobinas em 15 ml. Depois de um período de 4 horas foi lida a absorvância em 415 nm e calculada a porcentagem de Hb A₂ (74).

2.2.3. Dosagem de Hb Fetal

A quantificação de Hb Fetal foi feita pelo método de desnaturação alcalina (55).

2.2.4. Solubilidade de Hb S

Foi adicionado 0,1 ml do hemolisado em 5 ml de tampão fosfato 2,35 M contendo ditionito de sódio a 1%. Após agitação e repouso por 5 a 6 minutos, a solução foi filtrada em

* Coloração de Benzidina

Benzidina -- 1 g; Nitroprussiato de sódio - 1 g; ácido acético glacial - 100 ml e H₂O destilada - 300 ml.

papel de filtro Whatman nº 1, a D.O. do filtrado lida em 540 nm e calculada a porcentagem de hemoglobina solúvel (81).

3. Alterações morfológicas de hemácias

3.1. Quantificação de células irreversivelmente falcizadas (CIF)

Foi feito esfregaço de sangue por punção digital, sem anticoagulante, e corado com Leishman*. Foram contadas 2000 hemácias com objetiva 100 x (imersão) e calculada a porcentagem de hemácias irreversivelmente falcizadas. Foram consideradas como CIF as hemácias alongadas e que apresentaram o seu maior diâmetro igual a pelo menos duas vezes o menor.

4. Avaliação da função esplênica

4.1. Contagem de hemácias com corpúsculos de Howell-Jolly

Foi feito esfregaço de sangue obtido por punção digital e corado com Leishman. Foram contadas 2000 hemácias e calculada a porcentagem de hemácias com corpúsculos de Howell-Jolly.

4.2. Contagem de hemácias com irregularidades de superfície ("pits")

Uma gota de sangue colhida sem anticoagulante foi adicionada a 0,5 ml de formaldeído a 3% em salina tamponada** ph 7,4. Uma gota dessa solução foi transferida para uma lâ-

* Leishman: 2,5 g de corante (Merck) diluído em 1000 ml de metanol (Merck).

** Salina tamponada

A - Na H₂ PO₄ H₂O - 23,4 g/l - 18 ml

B - Na HPO₄ - 21,3 g/l - 82 ml

mina, coberta por lamínula e a preparação observada ao microscópio de contraste de interferência (óptica de Nomarski). Foram analisadas 500 hemácias e determinada a porcentagem de hemácias com irregularidades de superfície (79).

4.3. Estudo da atividade fagocítica do baço com Cr^{51} *

4.3.1. Lesão e marcação das hemácias

Foram colhidos 6 ml de sangue em 2 ml de ACD em condições estéreis. Após centrifugação, foi separado o plasma e a camada de leucócitos, e o sedimento de hemácias ressuspenso a 30% com NaCl a 0,9%. A lesão das hemácias ocorreu pelo calor, colocando-se a solução em banho-maria a 51°C por 30 minutos, com agitações eventuais. Após centrifugação, foi desprezado o sobrenadante e adicionados 100 μ Ci de cromato de sódio estéril (Cr^{51}). Essa preparação ficou a 37°C por 20 minutos, sendo submetida a eventuais agitações.

O excesso de isótopos não incorporado às hemácias foi retirado através de 3 lavagens sucessivas com Na Cl a 0,9%. As hemácias foram ressuspendidas no volume inicial com solução fisiológica estéril (41, 79).

4.3.2. Depuração pelo baço

O sangue foi re-injetado no paciente, sendo acionado o cronômetro quando metade do volume inicial havia sido introduzido. No antebraço oposto foram colhidas amostras de sangue aos 3, 10, 15, 20, 30, 45 e 60 minutos, sendo usado EDTA

* Cr^{51} = cromato de sódio, estéril, obtido do IPEN da USP.

como anticoagulante. De cada amostra foram separados 2 ml de sangue e submetidos à leitura da radioatividade em contador Gamma-cord, com erro inferior a 5%.

Estabeleceu-se o tempo de 3 minutos como 100% de atividade e a partir desta, as porcentagens de radioatividade obtidas nas demais colheitas foram calculadas. Com os valores obtidos foi construído um gráfico da porcentagem de radioatividade em função tempo (fig. 3) e a partir daí calculada a meia vida ($T_{1/2}$) das hemácias autólogas lesadas pelo calor (tempo necessário para redução da radioatividade a 50% do valor obtido aos 3 minutos).

5. Análise estatística

Na análise estatística foi empregada a análise de variância e o teste de TUKEY. O nível de significância estabelecido foi de 5%.

Nos testes de correlação o nível de significância também foi estabelecido em 5%.

III - RESULTADOS

Contagens de hemácias com irregularidades de superfície ("pits")

Com o objetivo de avaliar a reprodutibilidade do método, a porcentagem de hemácias com "pits" foi determinada em 10 observações com a mesma amostra de sangue. Foram avaliados 5 pacientes distintos. Na Tabela II estão representadas as porcentagens obtidas, média, desvio padrão e coeficiente de variação. A média dos coeficientes de variação foi de 9,32% com valores compreendidos entre 6,8% e 11,8%.

A avaliação da função esplênica através das contagens de hemácias com irregularidades de superfície ("pits") foi levada a efeito em 140 indivíduos. Na Tabela III estão resumidos os resultados dos diferentes grupos estudados. Em todos os indivíduos normais as contagens foram inferiores a 1,8% e nos esplenectomizados a menor porcentagem observada foi de 18,2%. Os pacientes com doenças falciformes mostraram comportamento heterogêneo quanto às contagens de hemácias alteradas, com grande intervalo de variação. Em todos os grupos de doenças falciformes os intervalos de variações foram significativamente mais elevados do que nos controles normais. Entre os pacientes com doenças falciformes foi observada uma diferença significativa do grupo com anemia falciforme em relação aos grupos com hemoglobinopatia SC e S β^+ talassemia ($p < 0,001$). O mesmo resultado foi encontrado entre os pacientes com anemia falciforme e os esplenectomizados.

A Figura 1 ilustra todos os valores obtidos nas contagens de hemácias com "pits", tornando evidente as diferentes distribuições entre os grupos estudados. O traço horizontal representa as médias obtidas. A Figura 2 mostra o aspecto de uma hemácia contendo "pits", proveniente de um paciente esplenectomizado.

TABELA II - PORCENTAGENS DE HEMÁCIAS COM "PITS" EM 10 OBSERVAÇÕES REALIZADAS COM A MESMA AMOSTRA DE SANGUE. ESTE PROCEDIMENTO FOI REALIZADO COM AMOSTRAS PROVENIENTES DE 5 PACIENTES DISTINTOS.

Pacientes	Observações										Média	Desvio Padrão	Coefic. Variação (%)
	1	2	3	4	5	5	7	8	9	10			
USB	20,8	21,2	24,8	22,8	-	22,2	23,2	25,6	18,0	21,8	21,8	2,58	11,8
ASB	29,2	24,6	19,2	24,2	21,0	26,4	22,0	23,6	24,6	25,2	24,0	2,81	11,7
DCS	18,0	19,0	20,2	18,0	19,2	18,0	15,8	-	16,6	15,0	17,7	1,67	9,4
HM	42,0	-	43,4	37,4	36,8	45,0	38,8	40,0	42,2	39,6	40,5	2,76	6,8
JCS	28,0	25,8	27,0	32,0	28,0	28,6	27,0	26,7	29,2	25,2	27,7	1,93	6,9
Média	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9,32

TABELA III - RESULTADOS DOS ESTUDOS DA ATIVIDADE ESPLÊNICA PELA CONTAGEM DE HEMÁCIAS COM IRREGULARIDADES DE SUPERFÍCIE ("PITS").

N (Nº Paciente)	Diagnóstico	"PITS" (%)	H-J (%)	CIF (%)
59	Anemia	Média ± DP 20,81 ± 10,30	0,14 ± 0,12	9,43 ± 8,17
	falciforme	Varição 2,2 - 46,1	0 - 0,55	0,2 - 28,1
10	Hemoglobinopatia SC	Média ± DP 10,56 ± 8,44	-	0,22 ± 0,17
		Varição 5,1 - 32,8	0 - 0,44	0 - 0,49
14	Sβ ⁰ tal	Média ± DP 14,19 ± 12,84	0,14 ± 0,15	4,38 ± 5,97
		Varição 2,4 - 42	0 - 0,49	0,48 - 20,6
4	Sβ ⁺ tal	Média ± DP 30,77 ± 9,16	0,18 ± 0,11	0,41 ± 0,41
		Varição 22,9 - 44,0	0,09 - 0,34	0,09 - 1,2
30	Controles	Média ± DP 0,66 ± 0,54	-	-
	Normais	Varição 0 - 1,8	0 - 0,05	-
26	Esplenectomizados	Média ± DP 34,96 ± 10,85	0,57 ± 0,67	-
		Varição 18,2 - 60,5	0,09 - 2,9	-

OBS: H-J: hemácias com corpúsculos de Howell-Jolly

CIF: células irreversivelmente falcizadas

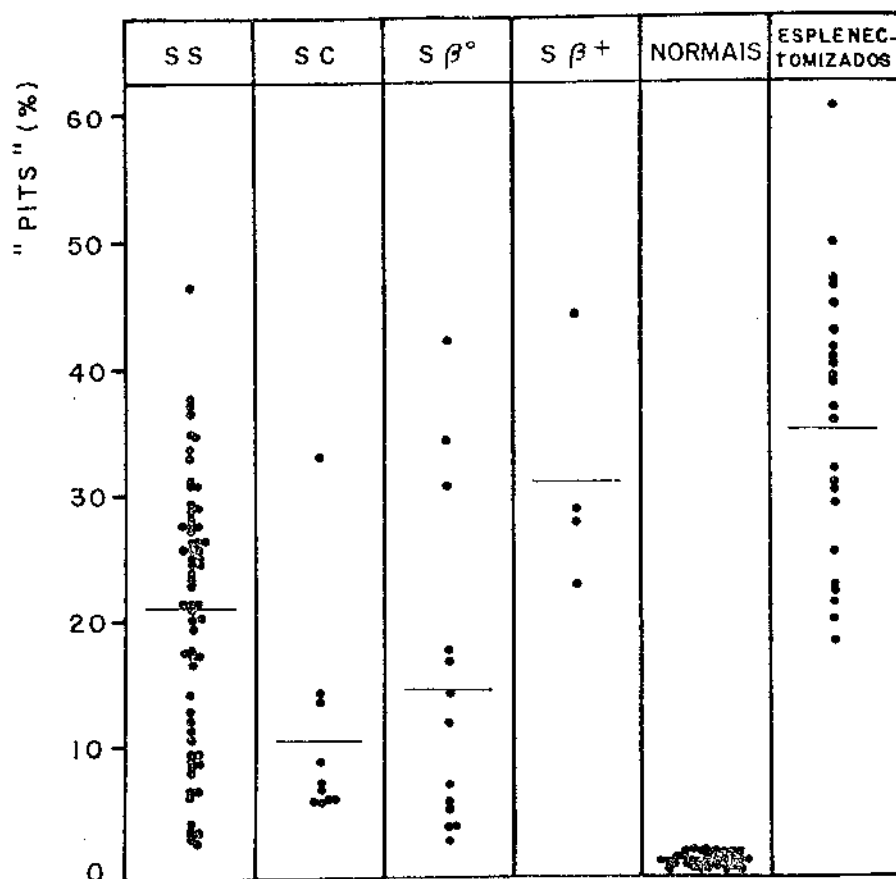


FIGURA 1 - Porcentagens de hemácias com "pits" obtidas através de contagem em microscopia com contraste de interferência. O traço horizontal representa a média de cada grupo estudado.

SS = anemia falciforme

SC = hemoglobinopatia SC

S β^0 = S β^+ talassemia

S β^+ = S β^+ talassemia

Quanto às contagens de hemácias com corpúsculos de Howell-Jolly, somente 8 pacientes com anemia falciforme apresentaram valor igual a zero (8/59), em contraste com o grupo controle normal, onde praticamente nenhum dos indivíduos possuía hemácias com essa alteração (28/30). Somente um indivíduo com hemoglobinopatia SC apresentou valor acima de zero. As contagens mais elevadas foram observadas nos esplenectomizados, sendo maior que 0,09% em todos os indivíduos estudados. Os grupos de pacientes com $S\beta^0$ e $S\beta^+$ talassemias tiveram comportamento semelhante ao com anemia falciforme.

As células irreversivelmente falcizadas (CIF) apareceram em maior número nos pacientes com anemia falciforme e em menor quantidade nos portadores de hemoglobinopatia SC. Os $S\beta^0$ talassêmicos apresentaram contagens superiores aos $S\beta^+$ talassêmicos, mas claramente inferiores aos com anemia falciforme.

Os pacientes com alterações hemoglobínicas poderiam ser agrupadas em 3 categorias distintas, de acordo com as contagens de hemácias com "pits" (50, 51): Grupo I - menor que 5%, e que corresponderia à função esplênica normal; Grupo II - de 5 a 15%, isto é, um grupo intermediário que embora ainda não bem caracterizado poderia definir redução mas não ausência total de função esplênica (hipoesplenismo) e Grupo III - maior que 15%, com acentuada redução ou ausência de função esplênica (asplenia). Os pacientes com anemia falciforme classificaram-se predominantemente no Grupo III (69,49%), seguido por 22% no Grupo II e apenas 8,47% no Grupo I. Fica evidente que a grande maioria dos pacientes com anemia falciforme possuíam função esplênica reduzida. Vale ressaltar que nenhum dos indivíduos esplenectomizados apresentou contagens inferiores a 15% (menor contagem = 18,2%) e no

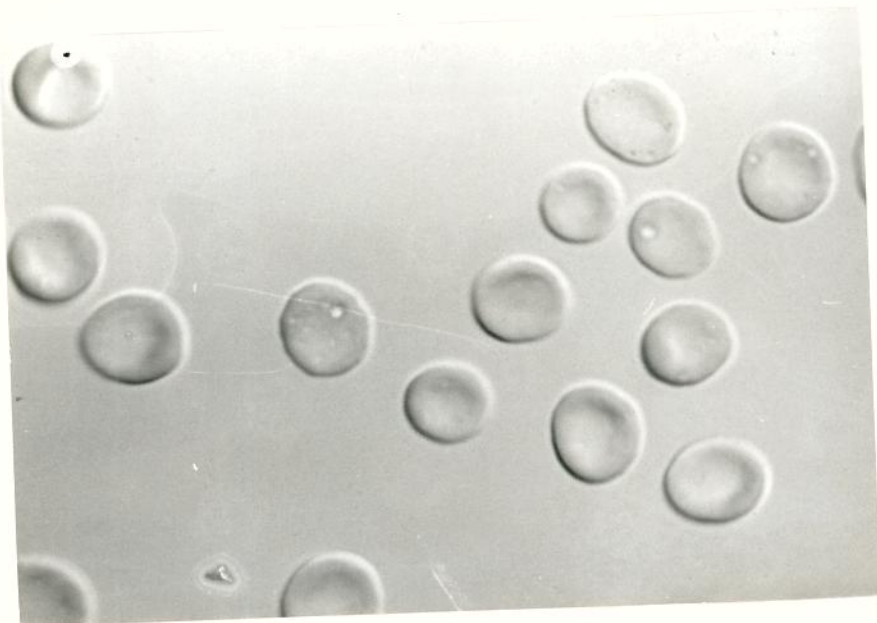


FIGURA 2 - Hemácias de paciente esplenectomizado mostrando as irregularidades ("pits") observadas à microscopia com contraste de interferência.

grupo de controle normal o maior volume encontrado foi de 1,8%. Entre os $S\beta^0$ talassêmicos 28,57% pertenciam ao grupo I e o restante dos indivíduos eram distribuídos igualmente entre as 2 outras classificações (35,71% em cada grupo).

Comportamento discrepante em relação aos outros grupos de Doenças Falciformes foi observado nos pacientes com hemoglobinopatia SC, já que 90% classificaram-se no grupo intermediário e somente 10% apresentaram contagens superiores a 15%. Importa observar que a distribuição dos pacientes por faixa etária era semelhante nos três grupos, SS, $S\beta^0$ talassêmicos e SC.

Surpreendentemente os $S\beta^+$ talassêmicos apresentaram contagens superiores a 15%. Entretanto, devido ao reduzido número de pacientes avaliados a análise deste grupo de pacientes deve ser feita com cautela.

Sobrevida de hemácias autólogas marcadas com Cr⁵¹

A avaliação da função esplênica através da depuração de hemácias marcadas com Cr⁵¹ foi empreendida em um conjunto de 22 pacientes. A Figura 3 representa graficamente o aspecto da curva de depuração obtida nos diversos grupos de indivíduos estudados. Os resultados obtidos estão representados nas tabelas IV e V. Nos indivíduos controles e portanto com função esplênica preservada as hemácias foram removidas da circulação rapidamente, com meia-vida (T 1/2) média de $13,25 \pm 4,65$ minutos, ao passo que naqueles indivíduos esplenectomizados a depuração de hemácias foi lenta com meia vida superior a 60 minutos. Os pacientes com anemia falciforme, S β^0 e S β^+ talassemia apresentaram padrão semelhante aos esplenectomizados, enquanto que os portadores de esquistossomose e com esplenomegalia mostraram depuração mais rápida que a normal, demonstrando uma hiperatividade esplênica.

Importa ressaltar que nesse grupo de pacientes houve perfeita correspondência entre a avaliação da função esplênica pelo método radioisotópico e contagens de hemácias com "pits". Adicionalmente, a análise dos resultados obtidos nos três pacientes com esplenomegalia revelou uma limitação do estudo da função esplênica com o emprego do número de hemácias com "pits", pois esse método não detecta hiperatividade esplênica.

No presente trabalho ambas as metodologias foram empregadas em 10 indivíduos com doenças falciformes, sendo 5 com anemia falciforme, 2 com hemoglobinopatia SC, 1 S β^0 e 2 S β^+ talassêmicos (Tabela 5). Em todos eles foi observada uma correlação positiva, ou seja, altas contagens de hemácias com "pits" e T 1/2 alongada nos pacientes com anemia falciforme e S β talasse-

mia e valores intermediários nos SC. Esses resultados foram distintos daqueles encontrados em indivíduos com baço intacto (N=4), onde as contagens de hemácias com "pits" são baixas e as T 1/2 encurtadas. Já os pacientes submetidos à esplenectomia (N=4) apresentaram valores semelhantes aos encontrados nos pacientes portadores de anemia falciforme e S β talassemia (Tabela 4). Esses resultados sugerem que tanto a contagem de hemácias com "pits" como a depuração de hemácias lesadas apresentam correspondência na avaliação desse aspecto da função fagocitária esplênica.

Dez pacientes apresentaram esplenomegalia ao exame físico e contagens elevadas de hemácias com "pits", caracterizando a presença de baço hipofuncionante (hipoesplenia funcional). Na tabela VI estão relacionados os dados referentes a esses pacientes. Todos eles apresentavam idade inferior a 11 anos.

No grupo com anemia falciforme foram testadas as correlações entre as contagens de hemácias com "pits" e a idade dos pacientes, hemácias com corpúsculos de Howell-Jolly, porcentagem de células irreversivelmente falcizadas (CIF) e dosagem de Hb Fetal. Esses dados estão representados graficamente nas Figuras 4, 5, 6 e 7 respectivamente. A correlação entre contagens de hemácias com "pits" e idade nos indivíduos esplenectomizados encontra-se na Figura 8. Não houve correlação estatisticamente significativa entre esses dois parâmetros nos indivíduos esplenectomizados ($r = 0,135$) e os controles normais ($r = 0,126$). Por outro lado, os resultados obtidos no grupo de pacientes com anemia falciforme mostraram correlação estatística significativa ($p < 0,05$) entre as contagens de hemácias com "pits" e: idade dos pacientes ($r = 0,491$), dosagem de Hb Fetal ($r = - 0,45$) e porcentagem de

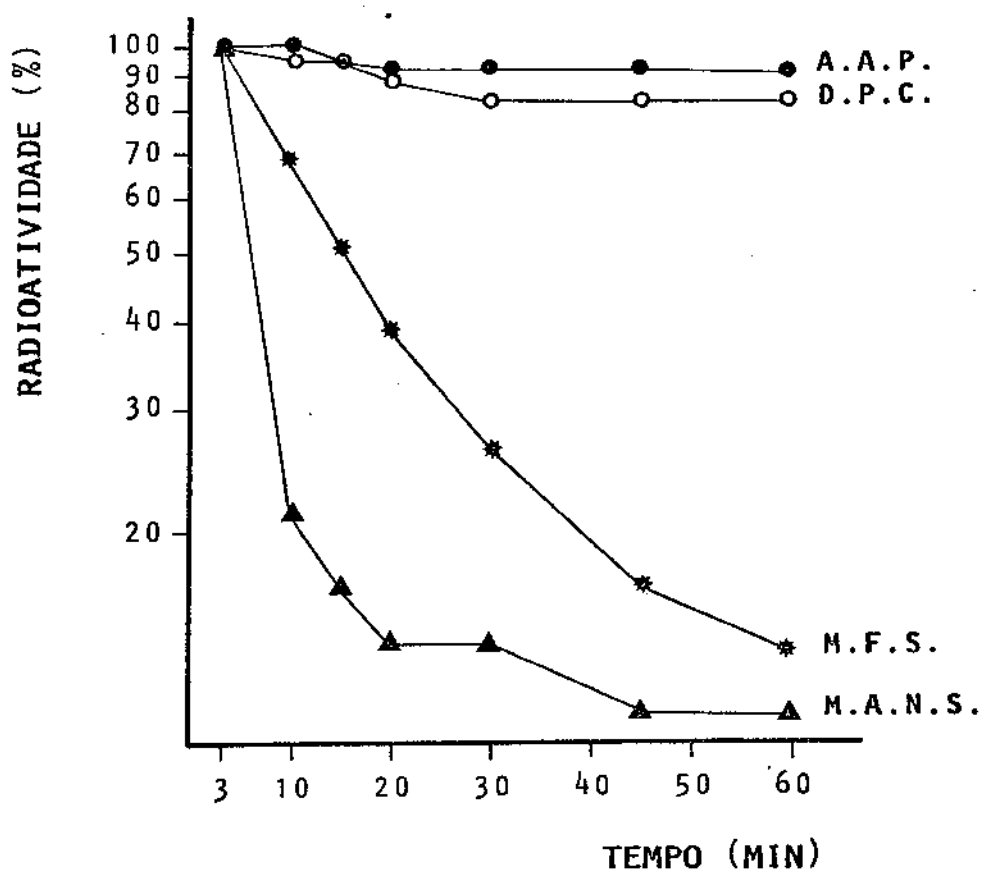


FIGURA 3 - Curvas de depuração de hemácias autólogas lesadas pelo calor e marcadas com Cr^{51} .

Legenda: ... (DPC) - anemia falciforme
 ooo (AAP) - esplenectomizado
 *** (MFS) - paciente normal
 ▲▲▲ (NANS) - esquistossomose

TABELA IV - RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO ESPLÊNICA ATRAVÉS DA DEPURAÇÃO DE HEMÁCIAS AUTÓLOGAS LESADAS E MARCADAS COM Cr^{51} NOS GRUPOS CONTROLES

Diagnóstico	Pacientes	"pits" (%)	I 1/2 (MIN)	H-J (%)
N	1 EB	1,6	7	0
	2 MFS	0	15	0
	3 LAI	1,3	13	0
	4 LDS	1,8	18	0
	Média ± DP	1,175 ± 0,81	13,25 ± 4,65	
	Mediana	1,45	14	
Esplenectomi- zados	1 JAM	31,6	82	0,27
	2 AAP	39,0	308	0,9
	3 ILS	19,8	> 300	0,26
	4 CPM*	-	> 300	0
	Média ± DP	23,9 ± 14,76 (n = 3)	195 ± 159,80 (n=2)	0,476 ± 0,366 (n = 3)
	Mediana	31,6 (n = 3)	159,5 (n = 2)	0,27
Esplenomegalia	1 JVCS	0,19	7	0
	2 NANS	0	6	0
	3 NDJ	0,39	8	0
	4 HJE	1	8	0
	Média ± DP	0,395 ± 0,43	7,25 ± 0,95	
	Mediana	0,595	7,5	

* CPM = a contagem de hemácias com "pits" não foi considerada devido ao período pós-esplenectomia ser reduzido (1 mes).

TABELA V - RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO ESPLÊNICA ATRAVÉS DA DEPURAÇÃO DE HEMÁCIAS AUTÓLOGAS LESADAS E MARCADAS COM Cr⁵¹ EM PACIENTES COM DOENÇAS FALCIFORMES

Diagnóstico	Pacientes	"PIIS" (%)	T 1/2 (MIN)	H-J (%)
SS	1 LSG	35,8	127	0,2
	2 SHF	37,4	103	0,14
	3 DAL	17,5	140	0,04
	4 IFS	19,0	91	0
	5 DPC	37,2	178	0,19
	Média ± DP	29,38 ± 10,19	127,8 ± 34,05	0,114 ± 0,089
Mediana	35,8	127	0,14	
SC	1 JA	5,4	9	0
	2 HSS	8,9	14	0
	Média ± DP	7,15 ± 2,47	11,5 ± 3,53	
	Mediana	7,15	11,5	
SB ⁺ tal	1 AFB	22,9	136	0,2
	2 SIB	44,0	164	0,34
	3 BV	47,6	143	0,44
SB ⁰ tal	Média ± DP	38,13 ± 13,31	144 ± 15	0,33 ± 0,12
	Mediana	44,0	143	0,34

TABELA VI - GRUPO DE PACIENTES QUE APRESENTARAM ESPLENOMEGALIA E
CONTAGENS ELEVADAS DE HEMÁCIAS COM "PITS".

Paciente	Hemoglobinopatia	Baço (cm)*	"Pits" (%)	Idade
1 ASB	SS	4	11,3	6a
2 MCC	SS	6	19,2	11a
3 VANN	SS	4	10,8	1 a 10 m
4 SAO	SS	5	9,2	5a
5 DCS	SS	7	12,8	6a
6 CRL	SS	8	20,5	2a
7 RSS	SC	4	13,4	6a
8 ARC	SB ⁰	11	8,8	6a
9 SCL	SB ⁰	8	11,6	6a
10 APR	SB ⁰	6	17,6	3a

* A medida do baço foi obtida por palpação correspondendo ao tamanho do órgão a partir do rebordo costal na linha hemiclavicular esquerda.

células irreversivelmente falcitadas ($r = 0,340$). Foram ainda estatisticamente significativas as correlações entre idade dos pacientes e dosagem de Hb Fetal ($r = - 0,322$), e entre dosagem de Hb Fetal e porcentagem de hemácias com corpúsculos de Howell-Jolly ($r = - 0,354$).

O número de hemácias com "pits" foi determinado repetidamente na paciente JAM em um período de 2 anos. Os valores obtidos estão representados na figura 9. Os 3 primeiros pontos correspondem a períodos em que a paciente estava sem alterações agudas na evolução da doença. A 4ª avaliação da função esplênica foi levada a efeito concomitantemente a um quadro de meningite pneumocócica. Observa-se que houve elevação na porcentagem de hemácias com "pits" em relação àquelas realizadas um ano antes. Posteriormente à resolução do quadro infeccioso a porcentagem de hemácias com "pits" reduziu-se a valores próximos aos iniciais. Avaliações seriadas da função esplênica foram também realizadas em vários outros pacientes com doenças falciformes. Caracteristicamente, em todos esses estudos o número de hemácias com "pits" se manteve constante para um determinado paciente durante o período de observação (1 a 3 anos).

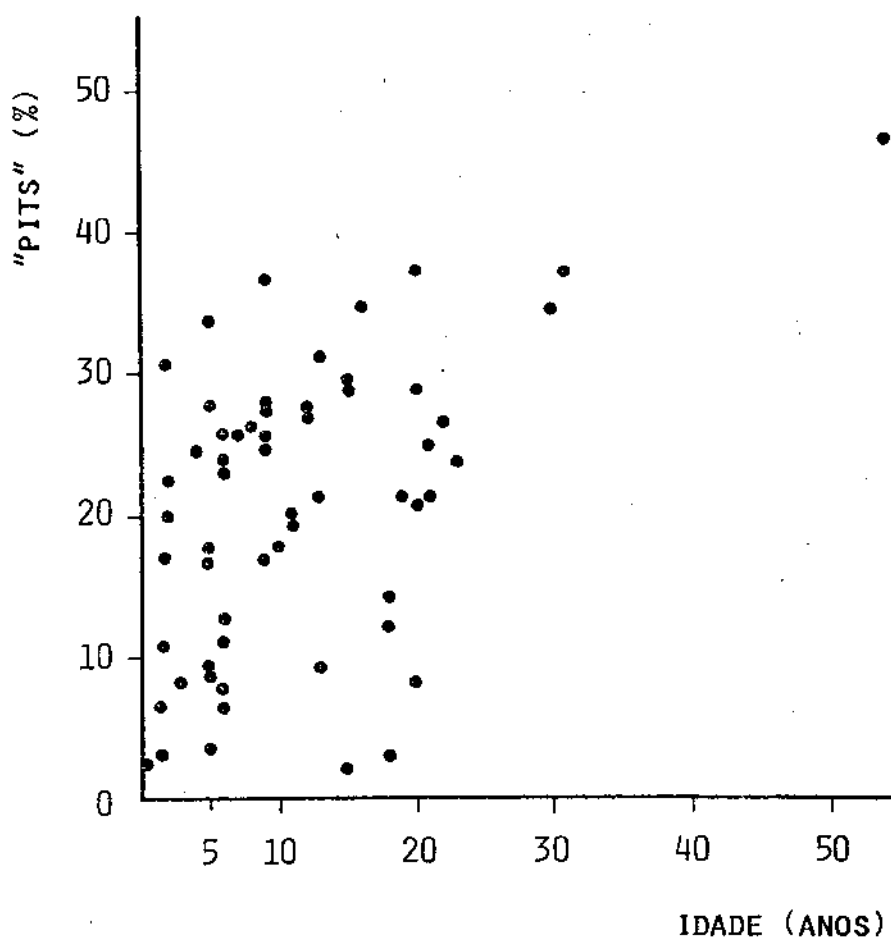


FIGURA 4 - Correlação entre porcentagens de hemácias com "pits" e idade dos pacientes com anemia falciforme ($r = 0,491$ $p < 0,05$).

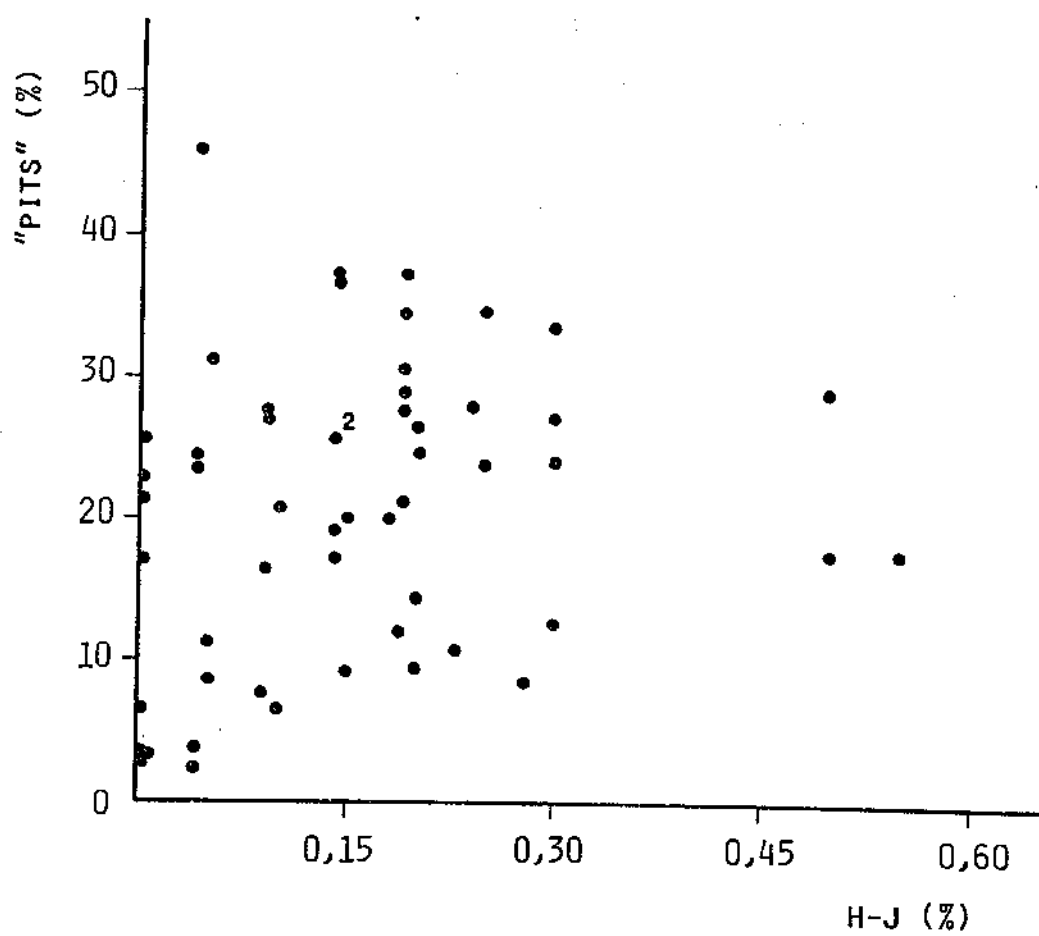


FIGURA 5 - Correlação entre porcentagens de hemácias com "pits" e hemácias com corpúsculos de Howell-Jolly em pacientes com anemia falciforme ($r = 0,228$, $p < 0,05$).

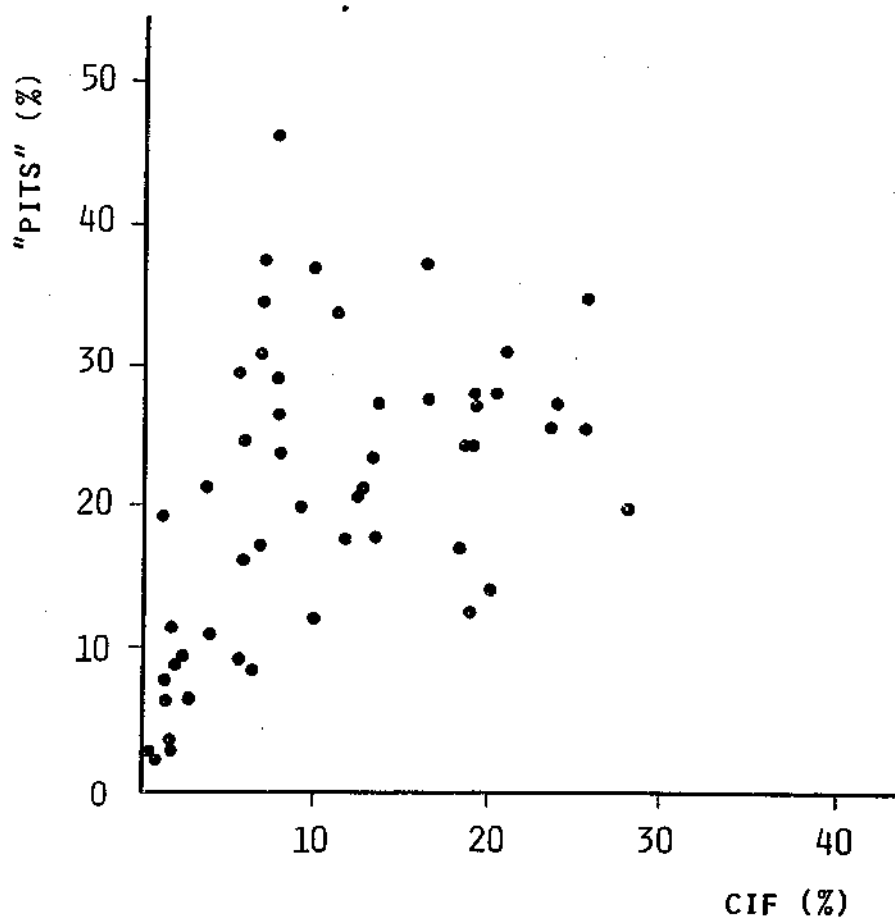


FIGURA 6 - Correlação entre porcentagens de hemácias com "pits" e células irreversivelmente falcizadas em pacientes com anemia falciforme ($r = 0,340$, $p < 0,05$).

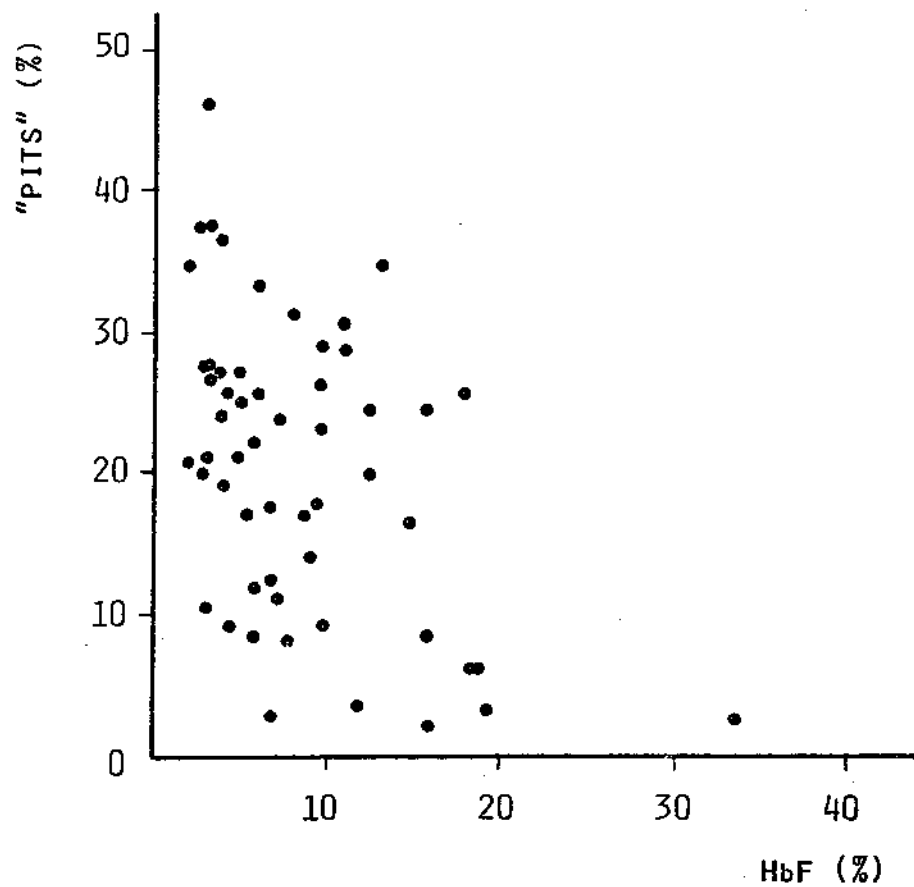


FIGURA 7 - Correlação entre porcentagens de hemácias com "pits" e dosagens de Hb fetal em pacientes com anemia falciforme ($r = - 0,45$, $p < 0,05$).

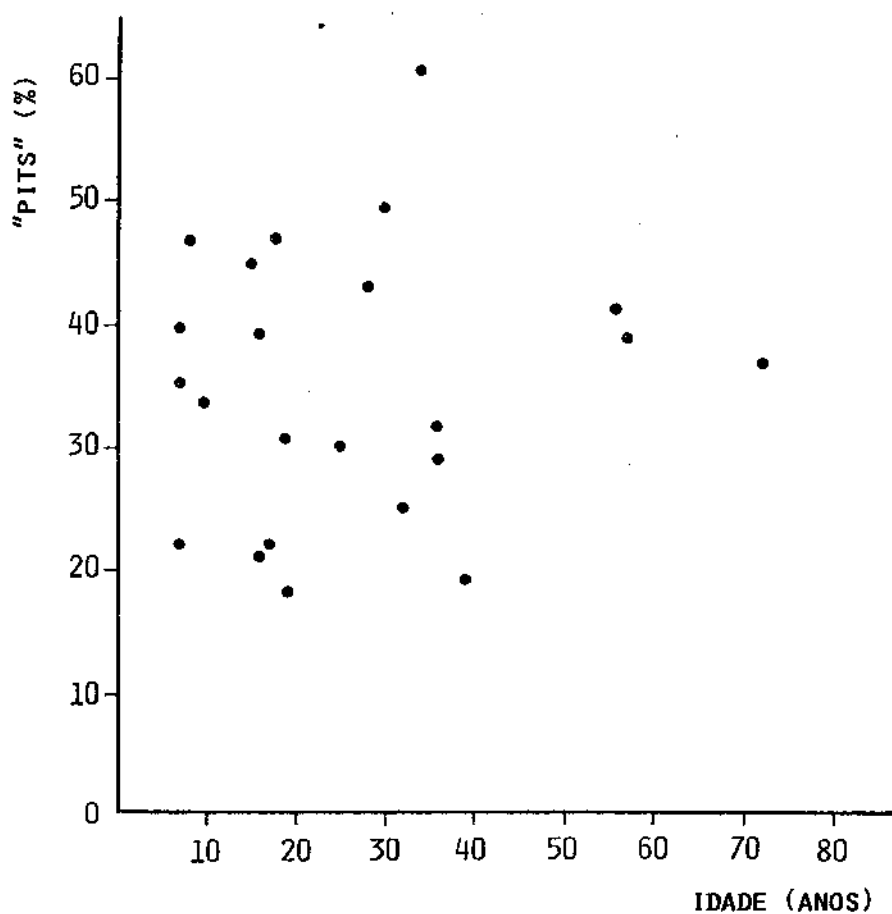


FIGURA 8 - Correlação entre porcentagens de hemácias com "pits" e idade dos pacientes esplenectomizados ($r = 0,135$, $p < 0,05$).

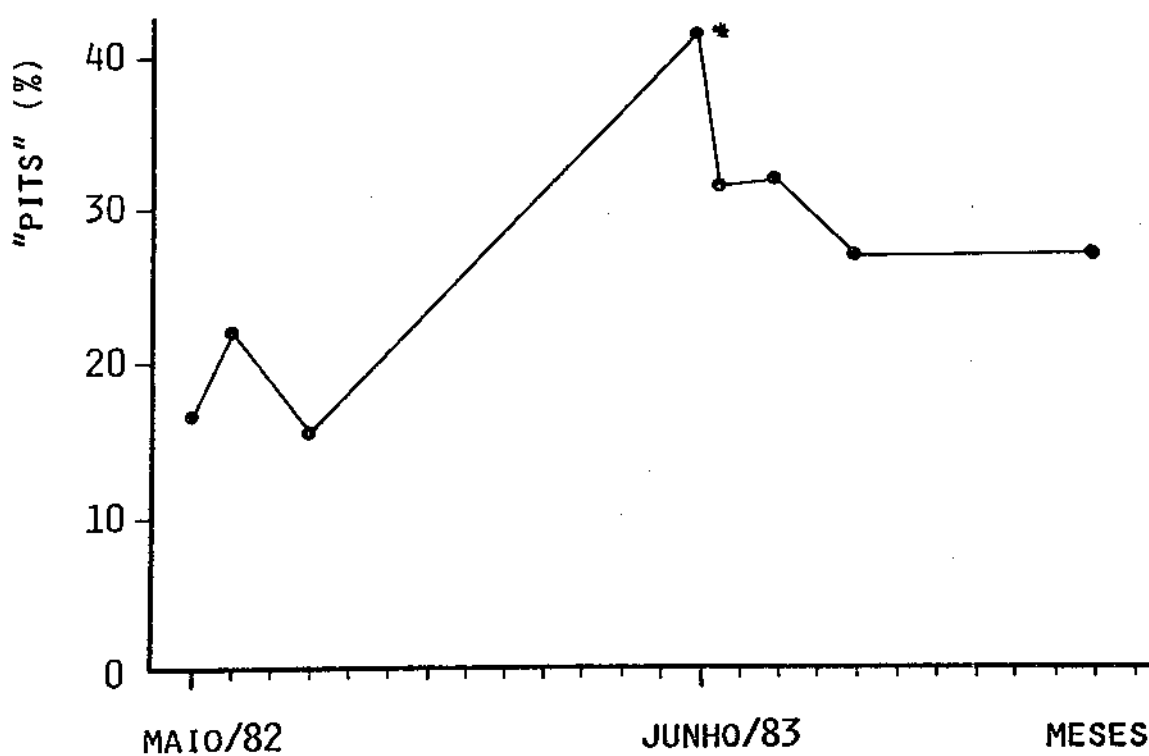


FIGURA 9 - Porcentagens de hemácias com "pits" de paciente com anemia falciforme (JAM), observadas num período de 2 anos. Os 3 pontos iniciais correspondem às fases estáveis da doença. O ponto seguinte (*) representa o valor durante episódio de meningite pneumocócica e os pontos subseqüentes a períodos na ausência de intercorrências clínicas.

IV - DISCUSSÃO

KENT e col. em 1966, ao analisarem hemácias com o emprego de microscopia eletrônica e reações citoquímicas descreveram "vacúolos autofágicos" no interior dessas células. Essas inclusões citoplasmáticas eram esféricas, ovais ou de contorno irregular, com um diâmetro de 0,2 a 1,0 μ e continham quantidades variáveis de material eletrodense no seu interior, provavelmente constituído de organelas citoplasmáticas alteradas, como ribossomas, mitocôndrias e membrana. A frequência de hemácias com esses vacúolos variava de 0,1 a 0,3% em indivíduos normais, ao passo que em pacientes esplenectomizados elas eram observadas em grande número (36).

Posteriormente, com o uso de microscopia de interferência (óptica de Nomarski), esses vacúolos foram identificados como crateras ou depressões da superfície, e as células denominadas "células com pits" (9). HOLROYDE e GARDNER (31) estudaram esse fenômeno com microscopia eletrônica e sugeriram que as aparentes depressões ou crateras ("pits") seriam ilusão de óptica, uma vez que representariam vacúolos de baixa densidade óptica existentes no interior da célula, abaixo da membrana celular. Além disso o material incluso seria hemoglobina degradada, similar à hemoglobina isóloga ou autóloga metabolizada por células fagocíticas com sistema lisossomal pouco desenvolvido. Do mesmo modo, SCHNITZER e col (66) reconheceram as supostas depressões ou crateras como vacúolos com membranas ligadas à superfície externa da membrana eritrocitária, e que na ausência de baço funcionante, expulsariam seu conteúdo constituído por ferritina, hemoglobina ou restos de mitocôndria e membrana para o exterior celular. Indepen

dente da natureza dessas alterações, há na literatura consenso que em indivíduos esplenectomizados há considerável acúmulo de hemácias com "pits" (32, 36, 43, 44, 46).

A contagem de hemácias com "pits" pode ser utilizada na avaliação da maturidade do sistema fagocitário esplênico. Crianças nascidas a termo apresentam contagens superiores ao adulto normal e essas contagens são mais elevadas em prematuros ou recém-nascidos com baixo peso, refletindo a hipofunção esplênica (32, 59). Ademais, a radioterapia esplênica provoca atrofia da polpa vermelha, fibrose, espessamento da íntima vascular e perda do padrão sinusoidal. Essas alterações provavelmente resultariam em atividade reticuloendotelial anormal, independentemente do tamanho do órgão. Pacientes com doença de Hodgkin e submetidos a essa terapêutica apresentam contagens elevadas de hemácias com "pits", devido ao funcionamento anormal do baço, confirmado pela baixa captação de Tc^{99} e mapeamento esplênico (21).

A correlação entre contagens elevadas de hemácias com "pits" e captação reduzida de hemácias marcadas com isótopos radioativos pelo baço foi avaliada em grande número de estudos (9, 14, 24, 44, 50, 51, 80). O isótopo radioativo, em geral Cr^{51} ou Tc^{99} , é incorporado a hemácias autólogas que são posteriormente lesadas ou sensibilizadas. A lesão ou sensibilização das hemácias é realizada por meio da ação de anticorpos, exposição a complexos metalo-proteína ou inibidores de grupos sulfidrilos ou ainda pela lesão conseqüente à elevação térmica (56). A lesão da membrana e sua conseqüente rigidez resultam em grande perda da deformabilidade, que tem como conseqüência o seqüestro e destruição dessas células na microcirculação esplênica. Hemácias autólogas lesadas pelo calor e administradas a indivíduos com baço intacto apresen-

tam meia-vida com valores compreendidos entre 5 e 16 minutos, enquanto que em esplenectomizados observou-se meia-vida bastante alongada, acima de 100 minutos (41, 56). A mesma metodologia permitiu o mapeamento do baço (15, 53, 69) e foi observada estreita correlação entre altas contagens de hemácias com alteração da membrana e ausência do órgão. Além disso, esse método permitiu suspeitar da presença de baço ectópico ou residual pós-esplenectomia, eventualidade em que o número de hemácias com "pits" seria reduzido (44).

Em decorrência da facilidade na execução do método, baixo custo, ausência de riscos para o paciente e boa sensibilidade no estudo funcional do baço, a contagem de hemácias com "pits" à microscopia com contraste de interferência é frequentemente empregada para avaliação da função esplênica em pacientes portadores de hemoglobinopatia S, principalmente na forma homozigótica ou em associação com a hemoglobina C e com a talassemia β (1, 7, 12, 52, 62, 68, 80).

O presente trabalho representa o maior número de pacientes com hemoglobinopatia S na população brasileira estudado quanto à função esplênica com o emprego do método da determinação do número de hemácias com "pits". Os resultados mostram que pacientes portadores de hemoglobinopatia SC apresentam valores médios de hemácias com "pits" de $10,56\% \pm 8,44$, o que caracteriza hipofunção esplênica quando comparados ao grupo normal ($0,66 \pm 0,54$). Entretanto esses valores são significativamente reduzidos se comparados aos demais grupos de pacientes com hemoglobinopatia S, tanto na forma homozigótica, como nas associações com talassemia β . Vale ressaltar que, diferentemente do grupo com anemia falciforme, constituído de 59 pacientes, os grupos $S\beta^0$ e $S\beta^+$

talassemia são constituídos de poucos indivíduos (4 $S\beta^+$ e 14 $S\beta^0$ tal), o que deve ser levado em conta na análise dos resultados obtidos. Em seu conjunto, os resultados sugerem que os pacientes com hemoglobinopatia SC apresentam hipofunção esplênica, que aparentemente é menos acentuada que nos demais grupos de pacientes com doenças falciformes. Nesses últimos (SS , $S\beta^0$ e $S\beta^+$ tal) o baço tem sua função fagocítica significativamente comprometida, e grande número de pacientes apresentam número de hemácias com "pits" próximo aos indivíduos esplenectomizados. PEARSON (51) aventou a hipótese que nos pacientes com anemia falciforme as contagens são menores que nos esplenectomizados devido à redução da vida média das hemácias que são retiradas mais rapidamente da circulação. Apesar do pequeno número de pacientes estudados os resultados obtidos no grupo dos $S\beta^+$ talassêmicos são inesperadas, pois em outros estudos relatados na literatura a contagem de "pits" é caracteristicamente reduzida (51). A explicação para esses achados é de difícil caracterização, e demandará o estudo de um maior número de pacientes.

Os dados relatados na literatura são coincidentes com os aqui descritos, embora quase sempre o número de pacientes estudados seja reduzido, principalmente quando são analisados portadores das hemoglobinopatias SC e $S\beta$ talassemia (7, 12, 62, 68, 80). SILLS e OSKI (68) observaram incremento nas contagens de hemácias com "pits" em pacientes com hemoglobinopatia SC, semelhantes aos SS e $S\beta$ talassêmicos; entretanto, somente 2 indivíduos SC foram avaliados. BUCHANAN e col. (7) em estudo amplo compreendendo 51 pacientes com hemoglobinopatia SC detectaram contagens de hemácias com "pits" em números semelhantes aos aqui obtidos, ou seja, valores intermediários entre os controles normais e os com anemia falciforme e esplenectomizados. Observaram ainda correla-

ção positiva entre essas contagens e a idade dos pacientes. ZAGO e BOTTURA (80) analisaram pacientes com doenças falciformes em uma população brasileira com metodologia semelhante à deste trabalho e relataram interessante correlação entre o tamanho do baço e sua função. Foram observados 3 padrões de função esplênica entre os pacientes com doenças falciformes: 1) baço grande hiperativo; 2) baço grande hipoativo e 3) baço não detectável. A maioria dos pacientes com anemia falciforme e S β talassemia analisados apresentavam função esplênica correspondente ao último grupo.

No presente trabalho foram observados alguns resultados semelhantes, embora o mapeamento esplênico não tenha sido realizado. Na maioria dos indivíduos portadores de hemoglobinopatia S o baço era indetectável ao exame físico, mas as contagens de hemácias com "pits" eram elevadas. Adicionalmente foram observados alguns casos de indivíduos com esplenomegalia ao exame clínico e contagens altas de hemácias com "pits", indicando a presença de órgão hipofuncionante. Agrupando todos os pacientes com doenças falciformes 11,4% deles pertencem a essa categoria. O padrão baço grande e hiperativo somente poderia ser detectado nos casos em que fosse realizado o estudo da função esplênica com isótopos radioativos. Neste trabalho esse padrão foi observado somente nos pacientes com esplenomegalia e ausência de hemoglobinopatia. Os resultados obtidos nesse trabalho em concordância com aqueles de PEARSON et al (51) não permitem uma diferenciação nítida entre os pacientes com anemia falciforme e os S β ⁰ talassêmicos. No entanto, os valores de "pits" observados nesse último grupo sugerem que haveria uma predominância de pacientes com função esplênica conservada ou intermediária.

Nos portadores de hemoglobinopatia SC a função esplênica foi menos acometida que nos demais grupos de doenças falciformes.

formes. As hipóteses aventadas para explicar esses dados são que nos portadores de hemoglobinopatia SC há menor concentração de Hb S, com reduzida tendência à falcização (57, 80), o que retardaria as alterações histopatológicas do baço, com prejuízo da função esplênica, em geral, na segunda década de vida (12, 34). A conseqüência deste período prolongado em que a função esplênica permaneceria preservada seria a grande redução no risco de infecções, pois haveria a oportunidade de imunização prévia contra grande número de bactérias (57). Nos pacientes com $S\beta^0$ talassemia o fator predominante que poderia determinar o retardo na evolução para a hipofunção esplênica seria a redução na concentração de Hb S intraeritrocitária conseqüente à hipocromia e diminuição na concentração de Hb corpuscular média (79).

Uma vez que a disfunção esplênica instala-se gradativamente nos pacientes com Doenças Falciformes (45, 56, 80), alguns estudos mostraram correlação positiva entre as contagens de hemácias com "pits" e a idade do paciente ou a dosagem de hemoglobina fetal (1, 7, 52, 62, 67, 68). SILLS (67) observou correlação positiva entre o número de hemácias com "pits" e idade dos pacientes com anemia falciforme. Por outro lado isto não ocorria nos portadores de hemoglobinopatia SC e $S\beta$ talassemia sugerindo que a disfunção esplênica nesses grupos é menos grave do que nos com anemia falciforme e além disso, alguns pacientes com hemoglobinopatia SC só se tornariam asplênicos tardiamente ou manteriam a função normal durante toda a vida.

Resultados semelhantes foram relatados por PEARSON e col. (52), que adicionalmente observaram que pacientes com anemia falciforme apresentavam contagens semelhantes a indivíduos asplênicos a partir dos 6 anos de idade. Também foi constatado que as contagens tendiam a se elevar à medida que ocorria decréscimo

de Hb fetal a níveis inferiores a 20%.

AL-AWAMY e col (1) compararam populações de pacientes com Anemia Falciforme da Arábia Saudita e Estados Unidos através de contagens de hemácias com "pits", valores hematimétricos e dosagem de Hb fetal. Indivíduos com anemia falciforme da Arábia Saudita apresentavam concentrações mais elevadas de hemoglobina total e de Hb fetal do que os norte-americanos. Com o emprego de análise de regressão linear foi observada correlação significativa entre Hb fetal e baixo número de hemácias com "pits". A explicação para esses dados advém do fato de que na Arábia Saudita as associações de anemia falciforme com a talassemia α e a talassemia β são mais freqüentes do que nos Estados Unidos, conduzindo provavelmente à menor concentração corpuscular de Hb S e níveis elevados de Hb fetal, o que aparentemente contribuiria para a preservação do tecido esplênico. Além disso, os pacientes provenientes do leste da Arábia Saudita apresentam níveis mais elevados de Hb fetal do que os demais pacientes com essa doença, sendo a função esplênica mais preservada no primeiro grupo (3).

A correlação entre contagens de hemácias com "pits" e idade dos pacientes foi testada neste trabalho, como pode ser observado na Figura 4. No grupo de pacientes com anemia falciforme foi evidenciada uma correlação significativa. De acordo com a Figura 4 algumas observações podem ser feitas: 1) Nos pacientes com idade inferior a 12 anos houve uma distribuição aproximadamente equitativa entre aqueles que apresentavam mais ou menos 20% de hemácias com "pits"; 2) após essa idade, a maior parte dos indivíduos mostrou contagens superiores a 20%. Esses dados sugerem que nesse grupo de pacientes aqueles com idade maior apresentam comprometimento mais acentuado da função esplênica, de acordo

com dados anteriores da literatura (7, 45, 47, 51, 52, 63, 67, 80). Além disso, podemos notar que mesmo em alguns pacientes com idade inferior a 10 anos havia redução da função esplênica.

Concordantemente às observações de SILLS (67), não houve correlação entre número de hemácias com "pits" e idade no grupo portador de hemoglobinopatia SC ($r = 0,274$).

A correlação entre contagens de hemácias com "pits" e concentração de Hb Fetal foi estatisticamente significativa, ou seja, dosagens elevadas de Hb Fetal estariam relacionadas com reduzidas contagens de hemácias com "pits". Os dados da literatura sugerem que a instalação da disfunção esplênica está relacionada com níveis de Hb fetal inferiores a 20% (45, 52). POWARS e col. (58) fizeram correlação entre dosagens de Hb fetal e ocorrência de manifestações clínicas em 272 pacientes com anemia falciforme e 7 $S\beta^0$ talassêmicos. Consideraram o limiar de concentração de Hb fetal que melhora a morbidade na Anemia Falciforme de 20% para os eventos chamados recorrentes e entre 10 e 14% para diminuir a tendência à acidentes vasculares cerebrais e necrose asséptica do fêmur. Concluíram que não há uma tendência descendente linear contínua do risco com a elevação da Hb fetal.

A Figura 6 relaciona as contagens de hemácias com "pits" e a quantificação de células irreversivelmente falcizadas (CIF) encontradas em esfregaço de sangue periférico. Houve correlação significativa, o que não permite sugerir que a quantidade de CIF passa ser determinante fundamental da gravidade dos processos tromboembólicos localizados no tecido esplênico.

Finalmente, não foi significativa a correlação entre contagens de hemácias com "pits" e a porcentagem de células com corpúsculos de Howell-Jolly. Esse resultado era esperado, uma vez

que, embora a presença de hemácias com Howell-Jolly sugira hipofunção esplênica (7, 16, 49, 76), a avaliação não é quantitativamente significativa, já que o número de hemácias com essa anomalia é bastante reduzido (12, 43). Resultado semelhante foi observado por CASPER e col. (9) e ZAGO e col. (80), onde correlação significativa também não foi encontrada.

Merece menção a elevação no número de hemácias com "pits" observada na paciente JAM durante um período de meningite pneumocócica com posterior redução nessas porcentagens com a resolução do quadro infeccioso. A explicação para esse fato não é clara, pois os mecanismos envolvidos na gênese e cinética das hemácias com "pits" ainda não estão elucidados. Os dados obtidos e mesmo aqueles da literatura não permitem uma explicação clara a respeito deste fato, mas o comportamento das contagens de hemácias com "pits" nessa paciente foi peculiar, quando comparado com outras pacientes; o que indica a necessidade de investigação a respeito da evolução esplênica durante episódios infecciosos.

BARRET-CONNOR (5) em seu clássico trabalho sobre infecção e doenças falciformes descreveu as infecções bacterianas como a causa principal de mortalidade e morbidade nesses pacientes. Os mecanismos envolvidos na maior susceptibilidade a infecções apresentados pelos pacientes com doenças falciformes são complexos e multifatoriais. Aparentemente a asplenia funcional e as múltiplas lesões-orgânicas conseqüentes à oclusão vascular têm papel predominante, embora outras alterações como redução na capacidade fagocítica de leucócitos e alteração na via alternativa do complemento tenham sido descritas (18, 29, 47, 71, 77, 78). ROGERS e col. (62) acompanharam 130 crianças jamaicanas com anemia falciforme durante o período de 0 a 4 anos de idade com con-

tagens de hemácias com "pits" a intervalos de 3 meses. Observaram que crianças com contagens elevadas apresentaram episódios infecciosos e aquelas que aos 12 meses ou menos mostraram valores superiores a 10% tinham maior risco de infecções. Desse modo, reveste-se de especial importância a avaliação periódica da função esplênica nos pacientes com doença falciforme, pois poderia ser determinado o período de maior risco a infecções.

Em seu conjunto os dados obtidos neste trabalho comprovam que no grupo de pacientes estudados a hipofunção esplênica é mais freqüente e provavelmente de aparecimento mais precoce nos pacientes com anemia falciforme e $S\beta^0$ talassemia quando comparados aos com hemoglobinopatia SC, em que as alterações da função esplênica são mais discretas. Além disso, o pequeno número de pacientes $S\beta^+$ talassêmicos estudados apresentou significativa redução na atividade funcional do baço, comparável àquela encontrada nos esplenectomizados.

V - RESUMO E CONCLUSÕES

A avaliação da função esplênica foi levada a efeito em 59 pacientes com anemia falciforme, 10 portadores de hemoglobinopatia SC, 4 $S\beta^+$ talassêmicos e 14 $S\beta^0$ talassêmicos, através da contagem de hemácias com irregularidades de superfície ("pits") à microscopia de contraste de interferência. Adicionalmente em 22 pacientes foi analisada a curva de depuração de hemácias autólogas lesadas pelo calor e marcadas com Cr^{51} .

Os pacientes com anemia falciforme mostraram valores de contagem de "pits" de $20,81\% \pm 10,30$, próximos aos indivíduos esplenectomizados ($34,96\% \pm 10,85$) e significativamente superiores aos controles normais ($0,66 \pm 0,54$). Nos portadores de hemoglobinopatia SC ($10,56 \pm 8,44$) e $S\beta^0$ talassêmicos ($14,19 \pm 12,84$) foram observadas contagens intermediárias entre o grupo normal e os com anemia falciforme.

As contagens de hemácias com "pits" não detectaram hiperatividade esplênica, conforme resultados obtidos em 3 pacientes com esplenomegalia, portadores de esquistossomose. Esses pacientes revelaram contagens de hemácias com "pits" semelhantes aos controles normais e rápida depuração de hemácias lesadas e marcadas com Cr^{51} .

As correlações entre contagens de hemácias com "pits", idade dos pacientes, dosagem de Hb fetal e porcentagens de células irreversivelmente falcizadas mostraram correlação estatística.

Em seu conjunto os dados obtidos nesse trabalho comprovam que no grupo de pacientes estudados a hipofunção esplêni-

ca é mais freqüente e provavelmente de aparecimento mais precoce nos pacientes com anemia falciforme e $S\beta^0$ talassemia quando comparados aos com hemoglobinopatia SC, em que as alterações da função esplênicas são mais discretas. Além disso, o pequeno número de pacientes $S\beta^+$ talassêmicos estudados apresentou significativa redução na atividade funcional do baço, comparável àquela encontrada nos esplenectomizados.

VI - SUMMARY

VI - SUMMARY

Splenic function was carried out in 59 patients with sickle cell anemia, 10 patients with SC hemoglobinopathy, 4 with $S\beta^+$ thalassemia and 14 $S\beta^0$ thalassemia, by counting the number of erythrocytes with pits by using interference phase contrast microscopy. In 22 patients red cell life-span was also measured using autologous heat-damaged erythrocytes labeled with Cr^{51} .

The patients with sickle cell anemia showed $20,81\% \pm 10,30$ of erythrocytes with pits, values similar to splenectomized patients ($34,96\% \pm 10,85$) and significantly higher than normal controls ($0,66\% \pm 0,54$). The patients with SC hemoglobinopathy and with $S\beta^0$ thalassemia showed intermediate values ($10,56\% \pm 8,44$ and $14,19 \pm 12,84$ respectively).

Pits counting did not detect splenic hyperactivity, as analysed in 3 patients with schistosomiasis and splenomegaly. These showed pits counts similar to normal controls, and a rapid clearance of labeled red cells.

Statistically significant correlation was found among pits count and age of patients, foetal hemoglobin level, and percentage of irreversibly sickled red cells.

Our results show that a depressed splenic function is more frequent and probably appears earlier in patients with sickle cell anemia and $S\beta^0$ thalassemia as compared with the SC hemoglobinopathy. In these last hemoglobinopathy changes are milder. Besides that, the small number of $S\beta^0$ thalassemia patients studied showed significant diminished splenic activity function, as compared with splenectomized patients.

VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AL-AWAMY, B., WILSON, W.A., PEARSON, H.A.: Splenic function in sickle cell disease in the Eastern Province of Saudi Arabia. J Pediatr, 104: 714-717, 1984.
2. AHONKHAI, V.I., LANDESMAN, S.H., FIKRIG, S.M., SCHMALZER, E.A. BROWN, A.K., CHERUBIN, C.E., SCHIFFMAN, G.: Failure of pneumococcal vaccine in children with sickle-cell disease. N Engl J Med, 301: 26-27, 1979.
3. BABIKER, M.A., EL-HAZMI, M.A.F., AL-JABORI, A.M., OBEID, H., BAHAKIM, H.M.: Splenic function in children with sickle cell disease: Two different patterns in Saudi Arabia. Scand J Haematol, 35: 191-193, 1985.
4. BALLAS, S.K., LEWIS, C., NOONE, A.M., KRASNOW, S.H., KAMARULZAMAN, E., BURKA, E.R.: Clinical, Hematological, and biochemical features of Hb SC Disease. Am J Hematol, 13: 37-51, 1982.
5. BARRETT-CONNOR, E.: Bacterial infection and sickle cell anemia. An analysis of 250 infections in 166 patients and a review of the literature. Medicine, 50: 97-112, 1971.
6. BLOOM, W., FAWCETT, D.W. Tratado de Histologia. 10ª edição, Editora Interamericana Ltda, Rio de Janeiro, 1977.
7. BUCHANAN, G.R., SMITH, S.S., HOLTKAMP, C.A., FUSELER, J.P.: Bacterial infection and splenic reticuloendothelial function in children with hemoglobin SC Disease. Pediatrics, 72: 93-98, 1983.
8. BUNN, H.F. FORGET, B.G., RANNEY, H.M.: Human hemoglobins, W. B. Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto, 1977.
9. CASPER, J.T., KOETHE, S., RODEY, G.E. and THATCHER, G.: A new method for studying splenic reticuloendothelial dysfunction

in sickle cell disease patients and its clinical application: a brief report. Blood, 47: 183-188, 1976.

10. CHAIMOFF, C., DOVER, D., PICK, I.A., PINKHAS, J.: Serum immunoglobulin changes after accidental splenectomy in adults. Am J Surg, 136: 332-333, 1978.
11. CHEN, L.T.: Microcirculation of the spleen: an open or closed circulation? Science, 201: 157-158, 1978.
12. CHILCOTE, R.R., DAMPIER, C.: Overwhelming pneumococcal septicemia in a patient with Hb SC disease and splenic dysfunction. Clin lab observ, 104: 734-736, 1984.
13. COLEMAN, N., MC DOUGALL, R., DAILEY, M.O., AGER, P., BUSH, S., KAPLAN, H.S.: Functional hyposplenism after splenic irradiation for Hodgkin's disease: Ann Intern Med, 96: 44-47, 1982.
14. CORAZZA, G.R., BULLEN, A.W., HALL, R., ROBINSON, P.J., LOSOWSKY, M.S.: Simple method of assessing splenic function in coeliac disease. Clin Sci, 60: 109-113, 1981.
15. CROSBY, W.H.: Hypsplenism: an inquiry into normal functions of the spleen. Annu Rev Med, 14: 349-370, 1963.
16. CROSBY, W.H.: Editorial: Splenic remodeling of red cell surfaces. Blood, 50: 643-645, 1977.
17. DAMESHEK, W.: Hyposplenism. Jama, 157: 613, 1975.
18. DAVIES, S.C., HEWITT, P.E.: Sickle cell disease. Br J Hosp Med 440-444, 1984.
19. DEAN, J. and SCHECHTER, A.N.: Sickle-cell anemia: molecular and cellular bases of therapeutic approaches. N Engl J Med, 209: 752-763, 1978.

20. DIGGS, L.W.: Siderofibrosis of the spleen in sickle cell anemia. Jama, 104: 538-541, 1935.
21. DILLON, A.M., STEIN, H.B., ENGLISH, R.A.: Spleen atrophy in systemic lupus erythematosus. Ann Intern Med, 96: 40-43, 1982.
22. EICHNER, E.R.: Splenic function: normal, too much and too little. Am J Med, 66: 311-320, 1979.
23. EMMEL, V.E.: A study of erythrocytes in a case of severe anemia with elongated and sickle shaped red blood corpuscles. Arch Int Med, 20: 586-598, 1917.
24. EMOND, A.M., VENUGOPAL, S., MORAIS, P., CARPENTER, R.J., SERJEANT, G.R.: Role of splenectomy in homozygous sickle cell disease in childhood. Lancet, 14: 88-91, 1984.
25. FALTER, M.L., ROBINSON, M., KIM, O.S., GO, S.C., TAUBKIN, S.P. Splenic function and Infection in sickle cell anemia. Acta Haematol, 50: 154-161, 1973.
26. FINCH, C.A.: Pathophysiologic aspects of sickle cell anemia. Am J Med, 53: 1-6, 1972.
27. FINCH, J.J., PERUTZ, M.F., BERTLES, J.F., DÖBLER, J.: Structure of sickled erythrocytes and of sickle cell hemoglobin fibers. Proc Natl Acad Sci USA, 70: 718-722, 1973.
28. FINLEY, R.A.: Hemoglobinopathy with prolonged bacteremia. A report of two cases. Jama, 234: 718-721, 1975.
29. GAURILIS, P., ROTHENBERG, S.P., GUY, R.: Correlation of low serum IgM levels with absence of functional splenic tissue in sickle cell disease syndromes. Am J Med, 57: 542-545, 1974.

30. HERRICK, J.B.: Peculiar elongated and sickle-cell red corpuscles in a case of severe anemia. Arch Inter Med, 6: 517-521, 1910.
31. HOLROYDE, C. and GARDNER, F.H.: Acquisition of autophagic vacuoles by human erythrocytes. Physiological role of the spleen. Blood, 36: 566-575, 1970.
32. HOLROYDE, M.B., OSKI, F.A., GARDNER, F.H.: The "pocked" erythrocytes red-cell surface alterations in reticuloendothelial immaturity of the neonate. N Engl J Med, 281: 516-520, 1969.
33. HUNTSMAN, J., BARCLAY, G.P.T., CANNING, D.M., YAWSON, G.I.: A rapid whole blood solubility test to differentiate the sickle cell trait from sickle cell anemia. J Clin Pathol, 23: 781-783, 1970.
34. JOSHPE, G., ROTHENBERG, S.P., BAUM, S.: Transient functional asplenism in sickle cell-C disease. Am J Med, 55: 720-722, 1973.
35. KABINS, S.A., LERNER, C.: Fulminant pneumococemia and sickle cell anemia. Jama, 211: 467-471, 1970.
36. KENT, G., MINICK, O.T., VOLINI, F.I., ORFEI, E.: Autophagic vacuoles in human red cells. Am J Pathol, 48: 831-840, 1966.
37. KING, H., HARRIS, H.B.: Splenic studies. 1. Susceptibility to infection after splenectomy performed in infancy. Ann Surg, 136: 239-242, 1952.
38. KONOTEY-AHULU, F.J.D.: The sickle cell disease: clinical manifestations including the "sickle crisis". Arch Int Med, 133: 611-619, 1974.

39. LEHMANN, H., HUNTSMAN, R.G.: Man's Haemoglobins. North-Holland Publishing Co., Amsterdam, 1974.
40. LIKHTE, V.V.: Immunological impairment and susceptibility to infection after splenectomy, Jama, 236: 1376-1377, 1976.
41. MARSH, G.W., LEWIS, S.M. and SZUR, L.: The use of ⁵¹Cr-Labelled heat-damaged red cells to study splenic function. I. Evaluation of method. Br J Haematol, 12: 161-166, 1966.
42. MILNER, P.F.: The sickling disorders. In: Weatherall, D.J. Clinics in Hematology. London, Philadelphia, Toronto, W.B. Saunders Company Ltda., cap. 4: 289-332, 1974.
43. NEILAN, B.A., PERRY, J.F. Jr.: Persistence of vacuolated RBCs after splenectomy in adults. Jama, 243: 1741-1742, 1980.
44. NIELSEN, J.L.: Influence of residual splenic tissue on the presence of vacuolated erythrocytes in splenectomized patients. Scand J Haematol, 28: 451-455, 1982.
45. O'BRIEN, R.T., MC INTOSH, S., ASPNES, G.T., PEARSON, H.A.: Prospective study of sickle cell anemia in infancy. J Pediatr, 89: 205-210, 1976.
46. O'GRADY, J.G., HARDING, B., EGAN, E.L., MURPHY, B., O'GORMAN, T.A., MCCARTHY, C.F.: "Pitted" erythrocytes: impaired formation in splenectomized subjects with congenital spherocytosis. Br J Haematol, 57: 441-446, 1984.
47. ONWUBALILI, J.K.: Sickle cell disease and infection. J Infect, 7: 2-20, 1983.
48. PAULING, L., ITANO, H.A., SINGER, S.J., WELLS, I.C.: Sickle cell anemia. A molecular disease. Science, 110: 543-548, 1949.

49. PEARSON, H.A.: The spleen and disturbances of spleen function.
In: NATHAN e OSKI. Hematology of infancy and childhood. 21^a
ed., Philadelphia, London, Toronto, W.B. Saunders Company,
1981.
50. PEARSON, H.A., CHILCOTE, R., SULLIVAN, E., GALLAGER, D., AL-
-AWAMY, B., WILSON, W.A.: Sickle cell anemia in America and
Saudi Arabia - Cross ethnic correlates. Pediatr Res, 17,
1983.
51. PEARSON, H.A., GALLAGER, D., CHILCOTE, R., SULLIVAN, E., WI-
LIMAS, J., ESPELAND, M., RITCHEY, A.K., and the cooperative
study of sickle cell disease. Developmental Pattern of
Splenic Dysfunction in sickle cell disorders. Pediatrics,
76: 392-397, 1985.
52. PEARSON, H.A., MC INTOSH, S., RITCHEY, A.K. JEFFREY, S.L.,
ROOKS, Y., JOHNSTON, D.: Developmental aspects of splenic
function in sickle cell diseases. Blood, 53, 1979.
53. PEARSON, H.A., SPENCER, R.P., CORNELIUS, E.A.: Functional as-
plenia in sickle-cell anaemia. N Engl J Med, 281: 923-926,
1969.
54. PEGELOW, C.H., WILSON, B., OVERTURF, G.D., TIGNER-WEEKES, L.,
POWARDS, D.: Infection in splenectomized sickle cell disea-
se patients. Clin Pediatr, 19: 102-105, 1980.
55. PEMBREY, M.E., MAC WADE, P., WEATHERALL, D.J.: Reliable rou-
tine estimation of small amounts of foetal haemoglobin by
alkaly desnaturation. J Clin Pathol, 25: 738-740, 1972.
56. PETTIT, J.E.: Spleen function. Clin Haematol, 6: 639-656, 1977.
57. POWARS, D., OVERTURF, G.D., WILKING, J.: Commentary: Infec-
tions in sickle cell and SC disease. J Pediatr, 103: 242-

-244, 1983.

58. POWARS, D.R., WEISS, J.N., CHAN, L.S., SCHROEDER, W.A.: Is there a threshold level of fetal hemoglobin that ameliorates morbidity in sickle cell anemia? Blood, 63: 921-926, 1984.
59. PRESTON, F.E., SHAHANI, R.T.: Surface ultramicroscopy of neonatal erythrocytes. Lancet, 1970 I: 1177-1178, 1970.
60. RAMALHO, A.S.: As hemoglobinopatias hereditárias. Um problema de saúde pública no Brasil. Revista Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, 1986.
61. ROBINSON, M.G., HALPERN, C.: Infections, Escherichia coli, and sickle cell anemia. Jama, 230: 1145-1148, 1974.
62. ROGERS, D.W., SERJEANT, B.E., and SERJEANT, G.R.: Early rise in "pitted" red cell count as a guide to susceptibility to infection in childhood sickle cell anemia. Arch Dis Child, 57: 338-342, 1982.
63. ROGERS, D.W., VAIDYA, S., SERJEANT, G.R.: Early splenomegaly in homozygous sickle cell disease: and indicator of susceptibility to infection. Lancet: 963-965, 1978.
64. ROY, S., MURPHY, W.M., PITCOCK, J.A., RIMER, R.: Sickle cell disease and poststreptococcal acute glomerulonephritis. Am J Clin Pathol, 66: 986-990, 1976.
65. RYAN, F.P., PRESTON, F.E., SMART, R.C., HOLDSWORTH, C.D.: Proceedings: abnormalities of splenic function in ulcerative colitis and Crohn's disease. Gut, 16: 834, 1975.
66. SCHNITZER, B., RUCKNAGEL, D.L., SPENCER, H.H.: Erythrocytes: pits and vacuoles as seen with transmission and scanning

- electron micorscopy. Science, 173: 251-252, 1971.
67. SILLS, R.H.: Splenic function in children with hemoglobin SC disease and sickle β - thalassemia. J Natl Med Assoc, 75: 991-994, 1983.
68. SILLS, R.H., OSKI, F.A.: RBC surface pits in the sickle hemoglobinopathies. Am J Dis Child, 133: 526-527, 1979.
69. STEINBERG, M.H., GATLING, R.R., TAVASSOLI, M.: Evidence of hyposplenism in the presence of splenomegaly. Scand J Haematol, 31: 437:439, 1983.
70. TREMBY, P.N., STEWART, J.S.: Correspondence. Splenic function in adults coeliac disease. Gut, 24, 1983.
71. VILELA, M.M.S.: "Fagocitose em crianças com Doença Falciforme". Tese de Doutorado. UNICAMP, Campinas, 1985.
72. WARD, J., SMITH, A.L.: Hemophilus influenzae bacteremia in children with sickle cell disease. J Pediatr, 88: 261-262, 1976.
73. WEATHERALL, D.J.: Abnormal Haemoglobins and Thalassemia. In: HOFFBRAND, A.V., BRAIN, M.C., HIRSH, J. Rec Adv Haemat, Churchill Livingstone, Edinburg, London, New York, 1977.
74. WEATHERALL, D.J., CLEGG, J.B.: The thalassaemia Syndromes. 2nd. edn. Black well scientific Publ., Oxford, 1972.
75. WHITE, J.G.: Ultrastructural features of erythrocyte and hemoglobin sickling. Arch Intern Med, 133: 545-562, 1974.
76. WILLIAMS, W.J., BEUTLER, E., ERSLEV, A.J., LICHTMAN, M.A.: Hematology, 3rd. edn. McGraw-Hill Book Comp., USA, 1983.
77. WINKELSTEIN, J.A.: Pneumococcal infections in sickle cell disease. J Pediatr, 91: 521-522, 1977.

78. WINKELSTEIN, J.A., DRACHMAN, R.H.: Deficiency of pneumococcal serum opsonizing activity in sickle cell disease. N Engl J Med, 279: 459-466, 1968.
79. ZAGO, M.A.: "Síntese de globinas nas talassemias e aspectos da função esplênica na Anemia Falciforme e na heterotigose dupla para Beta-Talassemia e hemoglobinopatia S". Tese de Livre-Docência, Ribeirão Preto, USP, 1981.
80. ZAGO, M.A., BOTTURA, C.: Splenic function in sickle cell disease. Clin Sci, 65: 297-302, 1983.
81. ZAGO, M.A., COSTA, F.F., BOTTURA, C.: Teste de solubilidade quantitativo modificado em hemolisados normais e em variantes da hemoglobina. Rev Paul Med, 100: 15-17, 1982.
82. ZAGO, M.A., COSTA, F.F., FIGUEIREDO, M.S., BOTTURA, C.: Discrepancy between pit counting and spleen function in nutritional anemias and hemoglobinopathy C. Nouv Rev Fr Hematol, 28: 81-84, 1986.
83. ZAGO, M.A., FIGUEIREDO, M.S., COVAS, D.T., BOTTURA, C.: Aspects of splenic hypofunction in old age. Klin Wochenschr, 63: 590-592, 1985.

VIII - APÊNDICE

TABELA VII - CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS E CONTAGENS DE "PITS", H-J (CORPÚSCULOS DE HOWELL-JOLLY) E CIF (CÉLULAS IRREVERSIVELMENTE FALCIZADAS) DOS PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME

Nome	Sexo	Idade (anos)	GV ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	Hb (g/dl)	HT	VCM (fl)	HCM (pg)	Padrão Eletroforético	HbA ₂ (%)	HbF (%)	Solubilidade (%)	PIIS (%)	H-J (%)	CIF (%)
1. ASB	F	6	-	6,3	0,17	-	-	A ₂ S	3,6	7,2	-	11,3	0,05	1,4
2. MCC	F	11	2,88	8,4	0,27	93	29,2	A ₂ S	2,5	4,0	44,2	19,2	0,14	0,9
3. JEC	M	20	2,34	7,8	0,22	100	36,7	A ₂ S	2,0	10,8	12,4	28,9	-	-
4. DPC	M	20	2,8	7,9	0,24	86	28,1	A ₂ S	2,7	2,3	1,0	37,2	0,19	16,1
5. FRAC	F	8	2,63	8,8	0,24	91	32,8	A ₂ S	2,4	9,3	6,9	26,4	-	-
6. FAC	M	2	3,2	8,1	0,23	76	27,6	A ₂ S	2,8	5,7	11,1	22,6	-	-
7. MFF	F	12	2,1	7,7	0,22	104	37,1	A ₂ S	1,9	4,4	7,4	27,2	0,09	13,5
8. SHF	F	31	3,57	9,5	0,29	82	26,8	A ₂ S	2,2	2,9	-	37,4	0,14	6,9
9. LHF	M	16	3,74	9,6	0,30	80	25,7	A ₂ S	1,9	2,0	-	34,7	0,25	9,6
10. LSG	M	23	3,34	9,3	0,28	85	27,9	A ₂ S	2,6	6,9	20,8	23,8	0,04	7,9
11. WSL	F	5	2,14	6,3	0,19	95	32,6	A ₂ S	2,3	6,0	-	33,3	0,3	11,1
12. DAL	M	19	2,7	7,9	0,23	85,1	29,2	A ₂ S	3,1	4,5	6,6	21,1	0,19	12,5
13. FCM	F	5	4,38	11,3	0,34	78	25,9	A ₂ S,F	1,7	11,7	-	3,6	0,04	1,3
14. VM	F	1 a 6m	3,27	10,4	0,32	99	33,0	A ₂ S	1,6	18,7	11,8	6,4	0,10	1,3
15. SHM	M	13	2,6	7,3	0,22	83	28,2	A ₂ S	2,7	3,0	-	21,2	-	11,8
16. EBM	M	9	3,2	9,6	0,29	88	29,0	A ₂ S	2,1	3,0	-	27,8	0,09	16,4
17. LM	F	15	3,99	7,5	0,24	61	18,8	A ₂ S	2,2	1,4	-	29,3	0,5	5,1
18. JAM	F	9	2,93	9,4	0,28	98	32,1	A ₂ S,F	1,3	5,1	3,7	17	0	18,0
19. MAM	F	20	2,23	7,4	0,20	91	33,2	A ₂ S,F	3,4	7,8	-	8,2	-	-
20. MAM	F	12	2,61	7,4	0,21	83	28,3	A ₂ S	1,6	3,6	1,3	27,4	0,3	24
21. JTN	F	11	2,9	8,8	0,24	82,7	30,3	A ₂ S	2,2	2,6	-	20,0	0,15	28,1

Nome	Sexo	Idade (anos)	G _v (x10 ⁶ ml)	Hb (g/dl)	HT	VCM (fl)	NCM (pg)	Padrão Eletroforético	HbA ₂ (%)	HbF (%)	Solubilidade (%)	PIIS (%)	H-J (%)	CIF (%)
22. NAN	F	7	2,37	8,0	0,21	90	33,7	A ₂ S	2,9	4,1	7,6	25,7	0,14	19,3
23. RAN	M	6	3,1	9,5	0,27	87	29,9	A ₂ S,F	2,2	3,8	1,3	24,2	0,30	18,7
24. VAN	F	1 a 10m	-	-	-	-	-	A ₂ S	1,6	3,0	-	10,8	0,23	3,92
25. SAO	F	5	2,3	6,6	0,21	90	28,2	A ₂ S	2,4	4,3	9,8	9,2	0,2	5,7
26. GR	M	5	2,2	7,8	0,22	103	35,6	A ₂ S	2,6	6,3	10,2	17,6	0,55	11,7
27. CJS	M	15	3,04	11,0	0,31	102	36,0	A ₂ S	1,8	9,8	-	29,0	0,19	7,6
28. COS	M	20	2,77	8,2	0,24	88	29,3	A ₂ S _i	2,2	1,6	5,1	20,8	0,10	12,2
29. CPS	M	9	2,7	6,3	0,24	86	22,9	A ₂ S,F	2,1	12,3	15,3	24,6	0,04	18,9
30. IFS	M	18	2,61	7,6	0,23	91	29,3	A ₂ S	2,35	5,9	7,2	12,0	0,19	10,0
31. JPS	F	1 a 9m	2,34	6,8	0,21	95	32,2	A ₂ S,F	2,1	8,4	-	17,2	0,14	6,3
32. MMS	F	21	3,0	9,7	0,31	103	32,3	A ₂ S	1,27	0,88	-	21,4	0	3,2
33. RS	F	18	5,5	15,1	0,44	79	26,7	A ₂ S,F	2,1	8,9	-	14,2	0,2	20,1
34. ACS	M	3	3,03	7,5	0,23	76	25,2	A ₂ S	2,4	5,6	7,7	8,4	0,28	6,2
35. BCS	M	22	2,7	7,7	0,23	86	28,0	A ₂ S	3,5	3,0	16,0	26,6	0,2	7,4
36. DCS	F	6	2,39	7,0	0,22	94	29,1	A ₂ S,F	2,2	6,5	18,2	12,8	0,3	18,8
37. IFS	F	2	2,4	7,4	0,22	92	30,8	A ₂ S,F	2,0	12,3	-	20,0	0,18	8,78
38. LPS	F	6	2,5	8,6	0,24	96	33,8	A ₂ S,F	1,5	6,0	10,8	25,8	0,14	23,7
39. MPS	M	4	2,9	8,4	0,26	89	28,3	A ₂ S,F	2,1	15,8	-	24,9	0,20	5,3
40. OASI	M	10	2,36	7,1	0,22	92	30,0	A ₂ S,F	1,7	9,1	-	17,9	0,50	13,2
41. VMS	M	9	2,45	7,9	0,24	97,9	32,2	A ₂ S,F	2,9	18	13,0	25,6	0	25,5
42. RCS	F	13	2,53	8,3	0,23	91	32,9	A ₂ S	2,2	8,0	6,8	31,2	0,05	20,9
43. AS	M	9	2,3	6,8	0,19	82	29,0	A ₂ S,F	2,5	3,9	-	36,7	0,14	9,73
44. CFS	F	2	3,7	8,3	0,26	72	22,0	A ₂ S,F	1,3	11,0	-	30,8	0,19	6,07
45. JCS	F	5	3,2	7,8	0,23	73	24,4	A ₂ S	2,1	2,4	-	27,7	0,19	19,1

Nome	Sexo	Idade (anos)	GV (x10 ⁶ ml)	Hb (g/dl)	HT	VCM (fl)	HCM (pg)	Padrão Eletroforético	HbA ₂ (%)	HbF (%)	Solubilida de (%)	PIIS (%)	H-J (%)	CIF (%)
46. GCS	F	6	2,73	7,1	0,22	81	26,1	A ₂ S	2,4	9,3	9,5	23,2	0,25	13,1
47. LAA	F	5	3,09	10,1	0,31	101	32,7	A ₂ S	-	15,9	35,7	8,7	0,05	1,98
48. NSC	M	5	3,9	10,4	0,31	79	26,0	A ₂ S	1,1	14,5	-	16,5	0,09	5,72
49. MFJF	M	9	-	6,6	-	-	-	A ₂ S	2,1	2,8	-	28,0	0,24	20,6
50. MRGG	F	21	2,7	8,4	0,23	85	31,2	A ₂ S	2,1	4,9	+	25,0	-	-
51. CRL	F	1 a 6m	2,0	5,8	0,16	80,0	29	A ₂ S,F	2,9	19,3	-	3,2	0	0,2
52. EM	M	3m	-	-	-	-	-	A ₂ S,F	1,7	33,5	-	2,6	0	0,27
53. RN	M	18	4,48	9,3	0,28	63	20,9	A ₂ S	3,1	6,95	4,3	3,0	0	1,75
54. USP	M	6	3,4	9,2	0,24	71	27,1	A ₂ S	3,0	1,6	-	7,8	0,09	1,12
55. VN	F	15	4,01	9,5	0,27	69	23,7	A ₂ S,F	1,5	16,0	-	2,2	0,04	0,91
56. TN	F	6	3,67	8,9	2,26	71	24,2	A ₂ S,F	2,0	18,3	-	6,4	0	2,4
57. JRP	F	30	-	8,3	0,27	-	-	A ₂ S	2,7	12,8	-	34,5	0,19	6,7
58. EL	M	54	2,4	7,1	0,23	95	29,5	A ₂ S	2,9	2,9	-	46,1	0,04	7,2
59. MAC	F	13	2,2	6,0	0,20	93	27,2	A ₂ S,F	2,5	9,5	-	9,4	0,15	2,1

TABELA VIII - CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS, ESTUDO HEMOGLOBÍNICO E CONTAGENS DE "PITS", H-J (CORPÚSCULOS DE HOWELL-JOLLY) E CIF (CÉLULAS IRREVERSIVELMENTE FALCIZADAS) DOS PACIENTES COM S8° TALASSEMIA

Nome	Sexo	Idade (anos)	Hb ^{6V} (x10 ⁶ /ml)	Hb (g/dl)	HT	VCM (fl)	HCM (pg)	Padrão Eletroforético	HbA ₂ (%) ²	HbF (%)	Solubili- dade (%)	PITS (%)	H-J (%)	CIF (%)
1. ARC	F	6	1,7	4,4	0,14	82,3	25,8	A ₂ S,A	2,4	6,5	-	3,4	0	0,55
2. DPC	M	7	4,22	9,3	0,25	61	22,6	A ₂ S	4,3	2,4	5,2	6,9	0	1,6
3. SCL	F	6	3,25	7,0	0,23	72	22,1	A ₂ S	4,2	3,9	5,2	11,6	0,19	0,6
4. RPS	F	7	5,15	10,3	0,30	60	20,4	A ₂ S	5,1	18	-	34,3	0,14	3,5
5. BSR	F	9	3,15	6,4	0,22	70	20,6	A ₂ S	2,5	3,0	23,8	14,0	0,49	2,0
6. SRF ²	M	10	1,99	4,8	0,16	79	24,4	A ₂ S	3,6	6,8	51,1	2,4	0	0,48
7. MNS	F	1 a 6m	3,1	7,3	0,23	74,1	23,5	A ₂ S,<<F	2,3	8,0	-	3,4	0	3,38
8. BV	F	24	3,5	8,7	0,26	74	22,6	A ₂ S,F	4,4	7,5	22,6	42,0	0,3	20,6
9. ECV	F	5	4,1	9,8	0,31	76	23,0	A ₂ S,F	3,5	16,3	27,0	16,4	0,2	3,2
10. SU	F	17	4,0	10,7	0,32	78	26,0	A ₂ S,F	3,0	32,6	42,0	4,8	0	2,1
11. APR	F	3	3,27	7,7	0,22	70	24,2	A ₂ S,<F	3,5	4,0	8,6	17,6	0,38	3,6
12. APCA	F	6	3,86	8,1	0,25	64	20,7	A ₂ S,F	4,2	15,0	36,2	5,4	0	0,69
13. JMS	M	20	4,0	8,5	0,26	65	21,2	A ₂ S,F	4,9	5,6	18,7	30,9	0,14	15,4
14. SRS	F	2 a 10m	4,9	10,2	0,30	61,2	20,8	A ₂ S,F	2,3	22,0	37,7	5,6	0,19	0,84

TABELA IX - CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS, ESTUDO HEMOGLOBÍNICO E CONTAGENS DE "PITS", H-J (CORPÚSCULOS DE HOWELL-JOLLY) E CIF (CÉLULAS IRREVERSIVELMENTE FALCIZADAS) DOS PACIENTES PORTADORES DE HEMOGLO BINOPIATIA SC.

Nome	Sexo	Idade (anos)	GV (x10 ⁶ ml)	Hb (g/dl)	HT	VCM (fl)	HCM (pg)	Padrão Ele treforético (%)	HbA ₂ (%)	HbF (%)	Solubili dade (%)	PIIS (%)	H-J (%)	CIF (%)
1. AMAA	F	13	3,7	10,1	0,27	72,9	27,2	S,C	-	2,4	-	14,0	0	0,38
2. JAA	M	15	3,9	10,2	0,31	77	25,2	S,C	-	1,4	42,1	5,1	0,04	0,49
3. CCS	F	1	4,2	9,2	0,27	65	21,0	S,C	-	12,7	36,0	5,4	0	0,2
4. CS	F	12	3,6	10,3	0,29	80	27,6	S,C	-	1,2	-	32,8	0	0,04
5. VCS	F	6	4,0	10,5	0,29	76	28,1	S,C	-	1,7	-	5,2	0	0
6. IJS	M	9	4,2	10,7	0,28	67	25,5	S,C	-	0,7	24,0	6,2	0	0,18
7. RSS	F	6	4,6	12,5	0,32	70	39,0	S,C	-	6,4	57,0	13,4	0	0,24
8. CAS	F	9	4,23	10,2	0,29	71	24,5	S,C	-	0,4	-	5,6	0	0
9. ECLC	F	4	4,4	10,8	0,31	70	24,6	S,C	-	0,3	-	7,0	0	0,3
10. MSS	F	21	4,75	11,6	0,35	74	24,5	S,C	-	0,96	22,2	8,9	0	0,41

TABELA X - CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS, ESTUDO HEMOGLOBINICO E CONTAGENS DE CELULAS IRREVERSIVELMENTE FALCIZADAS) DOS PACIENTES COM S β ⁺ TALASSE DE HOWELL-JOLLY) E CIF (CÉLULAS IRREVERSIVELMENTE FALCIZADAS) DOS PACIENTES COM S β ⁺ TALASSE MIA

Nome	Sexo	Idade (anos)	GV ($\times 10^6$ /ml)	Hb (g/dl)	HT	VCM (fl)	HCM (pg)	Padrão Ele troforético	HbA ₂ (%)	HbF	Solubili dade (%)	PIIS (%)	H-J (%)	CIF (%)
1. AFB	M	25	4,38	10,3	0,30	70	23,5	A ₂ ,S	4,5	1,6	2,3	22,9	0,2	5,4
2. SIB	F	22	4,1	9,2	0,28	68	22	A ₂ ,S,A	5,1	2,3	-	44,0	0,3	6,1
3. CAAD	M	8	3,7	8,5	0,25	71	25	A ₂ ,S	3,6	6,0	-	27,6	0,09	18,5
4. RCSF	M	6	3,6	8,7	0,28	77	23,8	A ₂ ,S,F	5,4	9,3	-	28,6	0,09	1,0

TABELA XI - CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS, ESTUDO HEMOGLOBÍNICO E CONTAGENS DE "PITS" E H-J (CORPÚSCULOS DE HOWELL-JOLLY) DOS INDIVÍDUOS ESPLENECTOMIZADOS.

Nome	Sexo	Idade (anos)	GV (x10 ⁶ /ml)	Hb (g/dl)	HT	VCM (fl)	HCM (pg)	Padrão eletroforético	HbA ₂ (%)	Hbf (%)	PIIS (%)	H-J (%)	Causa da esplenectomia	Tempo de esplenectomia
1. MIFC	F	18	3,18	10,6	0,36	114	33,2	A ₂ ,A	2,5	1,3	46,6	-	Hb instável	10 anos
2. DF	M	8	3,7	12,1	0,30	83	33,3	A ₂ ,F,A	2,5	38,1	46,2	1,4	β ⁰ talassemia	2 anos
3. JAS	M	19	2,95	8,1	0,26	88	27,2	A ₂ ,F,A	2,7	26,4	18,2	0,5	β ⁰ talassemia	6 anos
4. VRS	M	2	2,4	6,1	0,21	87,5	25,4	A ₂ ,A	2,3	35,7	33,6	0,7	β ⁰ talassemia	11 anos
5. FD	F	7	5,1	15,4	0,44	88	30,8	A ₂ ,F	3,0	0,6	22,0	0,19	β ⁰ talassemia	6 anos
6. MAS	M	30	4,36	10,3	0,32	73,4	25,6	A ₂ ,S,A	2,2	66,4	49,2	2,9	S talassemia	-
7. ARC	F	7	-	10,4	-	-	-	-	3,7	1,5	35,4	0,09	S ⁰ talassemia	4 meses
8. MRC	F	19	4,31	13,0	0,36	84	30,9	-	-	-	30,6	0,17	PII	9 meses
9. MC	F	7	-	-	-	-	-	-	-	-	39,8	-	PII	2 anos
10. RDC	F	-	4,55	11,3	0,37	82	24,9	-	-	-	27,0	0,5	Rutura traumática	3 anos
11. RF	M	28	4,54	13,7	0,43	95	30,3	-	-	-	42,8	1,2	D.de Hodgkin	5 meses
12. HDM	F	10	-	-	-	-	-	-	-	-	40,5	0,34	Esferocitose her.	1 ano e 1/2
13. JAM	F	36	4,79	12,0	0,37	79	25,7	-	-	-	31,6	0,27	Tromboc.Hemor.	12 anos
14. RM	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18,8	0,15	PII	8 meses
15. CO	F	17	4,4	12,6	0,37	84	28,2	-	-	-	22,4	0,56	Esquistossomose	8 meses
16. LLO	F	36	-	12,8	-	-	-	-	-	-	29,0	0,47	D.de Hodgkin	3 meses
17. MSP	M	72	4,85	12,7	0,39	82	26,2	-	-	-	36,6	0,19	LLC	1 a 5 meses
18. AAP	M	16	-	13,7	-	-	-	-	-	-	39,0	0,9	D.de Hodgkin	6 meses
19. OJS	F	57	-	14,3	-	-	-	-	-	-	38,8	0,2	Rutura traumática	5 anos
20. LRS	M	16	3,7	9,3	0,25	68	24	A ₂ ,A	2,7	0,76	21,0	0,2	Esferocitose Hered.	1 ano e 1/2
21. JUI	M	56	-	-	-	-	-	-	-	-	41,2	0,48	Mielofibrose	1 ano
22. DB	M	25	4,38	12,6	0,36	83	29,0	A ₂ ,A	2,6	0,3	30,0	0,51	D.de Hodgkin	2 anos e 1/2

Nome	Sexo	Idade (anos)	GV ($\times 10^6$ /ml)	Hb (g/dl)	HT	VCM (fl)	HCM (fl)	Padrão Ele troforético	HbA ₂ (%)	HbF (%)	PITS (%)	H-J (%)	Causa da esplenectomia	Tempo de esplenectomia
23. ILS	F	39	4,67	14,9	0,41	90	32,3	-	-	-	19,8	0,26	Esquistossomose	2 anos
24. MIS	F	32	2,44	7,0	0,22	91	29,2	-	-	-	25,0	0,29	D.de Gaucher	10 anos
25. ELMS	F	34	3,72	11,8	0,35	96	32,0	-	-	-	60,5	1,7	D.de Hodgkin	4 meses
26. LAM	f	15	4,71	10,8	0,38	81	22,8	A ₂ ,A	2,3	-	44,7	0,20	D.de Gaucher	10 meses

TABELA XII - CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS E CONTAGENS DE "PITS" E H-J (CORPÚSCULOS DE HOWELL-JOLLY)
DOS PORTADORES DE ESPLENOMEGALIA.

Nome	Sexo	Idade (anos)	GV (x10 ⁶ ml)	Hb (g/dl)	HT	VCM (fl)	HCM (pg)	PITS (%)	H-J (%)	Causa da esplenomegalia
1. NDM	M	26	4,16	11,7	0,36	87	28,7	0,39	0	Esquistossomose
2. MANS	F	35	4,43	12,4	0,39	89	28,0	0	-	Esquistossomose
3. JVCS	M	47	3,93	11,4	0,34	88	29,1	0,19	0	Esquistossomose
4. AJE	M	41	2,15	7,4	0,23	107	34,5	1,0	0	Esferocitose Hereditária

TABELA XIII - CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS, ESTUDO HEMOBLOBÍNICO E CONTAGENS DE "PITS" E H-J (CORPÚS-
CULOS DE HOWEEL-JOLLY) DO GRUPO CONTROLE NORMAL

Nome	Sexo	Idade (anos)	GV (x10 ⁶ ml)	Hb (g/dl)	HT	VCM (fl)	HCM (pg)	Padrão Ele troforético	HbA ₂ (%)	HbF (%)	PITS (%)	H-J (%)
1. ICA	F	1 a 6m	3,4	5,8	0,21	62	17,1	A ₂ ,A	2,8	0,7	1,1	0
2. MA	F	24	4,53	14,0	0,42	94	30,9	A ₂ ,A	2,4	1,7	0,39	0
3. IJB	F	20	4,77	7,7	0,26	57	16,2	A ₂ ,A	2,3	0,4	1,3	0
4. SB	F	27	4,36	13,1	0,38	89	29,9	A ₂ ,A	2,5	0,5	0,58	0
5. JRB	M	40	4,62	14,2	0,44	96	30,5	A ₂ ,A	2,6	0,7	0,6	0
6. EB	F	41	4,7	8,8	0,28	60	18,4	A ₂ ,A	2,1	1,4	1,6	0
7. EFC	F	33	4,88	12,5	0,38	78	25,7	A ₂ ,A	2,3	0,6	0,2	0
8. MUC	F	24	4,47	13,6	0,41	92	30,2	A ₂ ,A	3,0	0,5	1,3	0
9. RC	F	27	4,8	14,1	0,42	88	29,3	A ₂ ,A	2,8	0,7	0,6	0,04
10. AC	F	28	4,57	12,0	0,38	84	26,4	A ₂ ,A	2,2	0,53	0,4	0
11. D	F	30	4,22	13,2	0,40	95	31,2	A ₂ ,A	2,7	0,8	0	0
12. MLD	M	2	5,3	12,0	0,37	69,8	22,6	A ₂ ,A	2,7	1,8	0	0
13. OSF	M	33	4,64	14,9	0,45	98	31,9	A ₂ ,A	3,0	0,4	1,4	0
14. MFPG	F	29	4,52	14,1	0,41	92	31,5	A ₂ ,A	2,0	-	0	0
15. VLG	F	23	4,73	13,0	0,41	87	28,1	A ₂ ,A	2,1	0,4	0	0
16. ARG	M	25	4,73	14,9	0,44	94	31,4	A ₂ ,A	2,0	0,7	0,8	0
17. EK	F	23	4,2	13,8	0,41	99	32,8	A ₂ ,A	2,4	0,8	1,3	0
18. ASL	F	43	4,55	12,5	0,39	86	27,6	A ₂ ,A	3,2	0,5	1,0	0,05
19. LEM	M	29	5,31	14,6	0,44	84	27,5	A ₂ ,A	2,1	0,2	0,2	0
20. ASN	F	29	4,71	13,1	0,40	86	27,9	A ₂ ,A	2,8	0,4	0,6	0
21. JCO	M	25	4,89	14,7	0,45	92	30,0	A ₂ ,A	3,2	0,6	0,18	0
22. HFO	F	30	5,26	13,0	0,40	76	24,9	A ₂ ,A	2,4	0,42	0,4	0

Nome	Sexo	Idade (anos)	GV ($\times 10^6/ml$)	Hb (g/dl)	HT	VCM (fl)	HCM (pg)	Padrão Ele troforético	HbA ₂ (%)	HbF (%)	PITS (%)	H-J (%)
23. EMP	M	16	4,88	13,6	0,41	86	27,8	A ₂ ,A	2,9	0,5	0,8	0
24. MP	F	27	4,22	13,8	0,40	97	32,5	A ₂ ,A	2,7	0,8	0,4	0
25. MPP	F	18	4,55	12,1	0,37	81	26,7	A ₂ ,A	3,0	0,5	0,6	0
26. ESR	M	25	5,36	15,0	0,46	88	28,0	A ₂ ,A	2,4	1,0	0,3	0
27. RAM	M	22						A ₂ ,A	2,6	0,6	0,39	0
28. LDS	F	45	4,57	9,7	0,31	70	21,3	A ₂ ,A	2,2	-	1,8	0
29. SMFS	F	24	3,99	12,9	0,39	99	32,3	A ₂ ,A	3,0	0,6	1,4	0
30. MFS	M	25	5,3	15,5	0,46	87	29,3	A ₂ ,A	-	-	0	0
31. LAT	F	21	4,43	9,8	0,32	74	22,1	A ₂ ,A	-	-	1,3	0

TABELA XIV- CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS DO GRUPO CONTROLE SUBMETIDO À DEPURAÇÃO PELO BAÇO DE
 HEMÁCIAS AUTÓLOGAS LESADAS E MARCADAS COM Cr⁵¹

Nome	Sexo	Idade	Hb (g/dl)	HT	GV (x10 ⁶ /ml)	VCM (fl)	MCM (pg)	HbA ₂ (%)	Hbf (%)
1. EB	F	41	8,8	0,28	4,7	60	18,4	2,1	1,4
2. LAT	F	21	9,8	0,32	4,43	74	22,1	-	-
3. LOS	F	45	9,7	0,31	4,57	70	21,3	2,2	-
4. MFS	M	25	15,5	0,46	5,3	87	29,3	-	-

TABELA XV - CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS DO GRUPO ESPLENECTOMIZADO SUBMETIDO À DEPURÇÃO PELO BAÇO
DE HEMÁCIAS AUTÓLOGAS LESADAS E MARCADAS COM Cr⁵¹

Nome	Sexo	Idade	Hb (g/dl)	HT	$\frac{5V}{6}$ ($\times 10^6$ /ml)	VCM (fl)	HCM (pg)
1. JAM	F	36	12,7	0,39	4,96	80	26,1
2. AAP	M	16	13,7	-	-	-	-
3. ILS	F	39	14,9	0,41	4,67	90	32,3
4. CPM	F	21	13,2	0,39	4,67	84	28,9

TABELA XVI - CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS DO GRUPO COM ESPLENOMEGALIA SUBMETIDO À DEPURÇÃO PELO
 BAÇO DE HEMÁCIAS AUTÓLOGAS LESADAS E MARCADAS COM Cr⁵¹

Nome	Sexo	Idade	Hb (g/dl)	HT	GV (x10 ⁶ ml)	VCM (fl)	HCM (pg)
1. JVCS	M	47	11,4	0,34	3,93	88	29,1
2. MANS	F	35	12,4	0,39	4,43	89	28,0
3. NDJ	M	26	11,7	0,36	4,16	87	28,7
4. AJE	M	41	7,4	0,23	2,15	107	34,5

TABELA XVII - CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS DO GRUPO COM ANEMIA FALCIFORME, SUBMETIDO À DEPURAÇÃO PELO
 BAÇO DE HEMÁCIAS AUTÓLOGAS LESADAS E MARCADAS COM Cr⁵¹

Nome	Sexo	Idade	Hb (g/dl)	HT	Gy (x10 ⁶ /ml)	VCM (fl)	HCH (pg)	HbA ₂ (%)	HbF (%)	Solubilidad de (%)
1. LSG	M	23	8,8	0,27	3,20	87	27,7	2,6	6,9	20,8
2. SHF	F	31	7,9	0,25	3,06	83	31,0	2,2	2,9	-
3. DAL	M	19	7,9	0,25	2,88	89	27,5	3,1	4,5	6,6
4. IFS	M	19	7,9	0,25	2,87	89	27,8	2,35	5,9	7,25
5. DPC	M	20	7,1	0,22	2,88	77	25,2	2,7	2,3	1,0

TABELA XVIII - CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS DO GRUPO COM HEMOGLOBINOPATIA SC, SUBMETIDO À DEPURAÇÃO PELO BAÇO DE HEMÁCIAS AUTÓLOGAS LESADAS E MARCADAS COM Cr⁵¹

Nome	Sexo	Idade	Hb (g/dl)	HT	GV (x10 ⁶ /ml)	VCM (fl)	HCM (pg)	HbA ₂ (%)	HbF (%)	Solubili- de (%)
1. JAA	M	15	9,9	0,30	3,86	79	25,9	-	1,4	42,1
2. MSS	F	22	11,6	0,35	4,75	74	24,5	-	0,96	22,2

TABELA XIX - CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS DOS PACIENTES COM $S\beta^+$ TALASSEMIA (1 e 2) E $S\beta^0$ TALASSEMIA (3), SUBMETIDOS À DEPURAÇÃO PELO BAÇO DE HEMÁCIAS AUTÓLOGAS LESADAS E MARCADAS COM Cr^{51}

Nome	Sexo	Idade	Hb (g/dl)	HT	GV ($\times 10^6$ /ml)	VCM (fl)	HCM (pg)	HbA ₂ (%) ²	HbF (%)	Solubili- dade (%)
1. AFB	M	25	11,8	0,34	4,75	73	24,7	4,5	1,6	2,3
2. SIB	F	22	9,0	0,27	4,01	69	22,5	5,1	2,3	-
3. BV	F	24	9,3	0,29	3,68	79	25,3	4,4	7,5	22,6