

## Eritropoese e Eritropoetina. Produção e Destruição de Hemácias

Marco Antonio Zago • Rodrigo Tocantins Calado

### PRODUÇÃO DE HEMÁCIAS

Em condições normais, um adulto produz cerca de 200 bilhões de hemácias por dia, substituindo número equivalente de células destruídas e, assim, mantendo estável a massa total de hemácias do organismo. A proporção de hemácias produzidas e destruídas diariamente corresponde a 0,83% do total, e, em condições normais, essa produção ocorre exclusivamente na medula óssea.

Após o período embrionário e fetal, a eritropoese pode ocorrer fora da medula óssea em duas circunstâncias: resposta a um estímulo proliferativo intenso (como em anemias hemolíticas) ou como parte de um quadro de proliferação neoplásica do tecido mieloide. Em anemias hemolíticas, os níveis elevados de eritropoetina podem levar à substituição da medula gordurosa por medula ativa, inclusive nos ossos longos, expandindo a produção intramedular de hemácias até 6 a 7 vezes acima de sua taxa habitual. O estímulo persistente pode fazer aparecer tecido eritroide no baço, fígado e, eventualmente, em outros locais do organismo. Particular-

mente em talassemias intermediárias têm sido descritas massas paravertebrais e musculares de tecido eritroide, algumas vezes determinando sintomas compressivos. Nas síndromes mieloproliferativas, como mielofibrose e policitemia vera, a eritropoese acompanha a *metaplasia mieloide*, em especial no fígado e baço, não tendo papel compensatório.

### ► Células eritroides na medula óssea

A eritropoese pode ser dividida em três fases distintas: a vinculação da célula progenitora pluripotencial com a diferenciação eritroide, a fase eritropoetina-independente ou precoce, e a fase eritropoetina-dependente ou tardia. O processo de maturação eritroide envolve grande variedade de células em diferentes estágios de maturação, sendo que o conjunto total de células eritroides é chamado éritron, termo que enfatiza a unidade funcional das células envolvidas na eritropoese.

Os precursores da linhagem eritroide constituem cerca de um terço das células da medula óssea (Tabelas 3.1

**Tabela 3.1**

► Células da linhagem eritroide da medula óssea.

Célula	Diâmetro, relação N/C	Citoplasma	Núcleo
Pró-eritroblasto	14-20 $\mu\text{m}$ , Alta (4/1)	Escasso, em coroa, halo claro, perinuclear	Cromatina avermelhada, clara, homogênea, finamente reticulada
Eritroblasto basófilo	12-17 $\mu\text{m}$ , Média (1/1)	Mais amplo, em coroa, intensamente basófilo	Central, cromatina irregular com condensações
Eritroblasto policromatófilo	10-15 $\mu\text{m}$ , Baixa (1/4)	Azul pálido-cinza, tom lilás	Central, redondo, cromatina condensada
Eritroblasto ortocromático	8-12 $\mu\text{m}$ , Muito baixa (1/8)	Abundante, acidófilo	Pequeno, condensado, central ou excêntrico

e 3.2). O proeritroblasto é o tipo celular mais imaturo que pode ser identificado como pertencente a essa linhagem; essa célula deriva de precursores mais primitivos que não podem, no entanto, ser reconhecidos morfológicamente, mas podem ser avaliados em testes funcionais. As técnicas de cultura de precursores hematopoéticos reconhecem dois precursores eritroides: a unidade formadora de crescimento rápido-eritroide (BFU-E = *Burst-Forming Unit-Erythroid*) e a unidade formadora de colônia-eritroide (CFU-E = *Colony-Forming Unit-Erythroid*). Ambas não apresentam diferenciação eritroide no que diz respeito à morfologia e só podem ser classificadas do ponto de vista funcional. As BFU-E compreendem a fase da eritropoese eritropoetina-independente, embora as formas mais maduras já expressem receptores para esse fator de crescimento. As BFU-E dão origem às CFU-E, que representam o estágio seguinte da maturação, apesar da morfologia incomum. A partir deste ponto, os precursores eritroides já são morfológicamente reconhecíveis. Os precursores eritroides têm capacidade proliferativa intensa, assim, cada proeritroblasto origina de 8 a 32 eritroblastos ortocromáticos; essas células, por sua vez, não têm mais capacidade de dividir-se e, perdendo o núcleo, dão origem às hemácias maduras.

Além da capacidade multiplicativa, os precursores eritroides caracterizam-se pela intensa síntese proteica. A principal proteína sintetizada e acumulada pelos eritroblastos é a hemoglobina. Os genes de globinas estão muito ativos, produzindo grande quantidade do RNA mensageiro que, no citoplasma, controla a síntese das cadeias de globina. Quando o eritroblasto perde o núcleo, deixa de sintetizar RNA mensageiro; a síntese de hemoglobina persiste por algum tempo, na dependência do RNA que estava presente no citoplasma, mas vai esgotando-se rapidamente.

A morfologia dos precursores eritroides reflete essas duas características fundamentais: a *capacidade proliferativa* e a *intensa síntese de hemoglobina*. Assim, a célula mais primitiva tem núcleo mais imaturo, volumoso e cromatina fina. À medida que amadurece, o núcleo vai diminuindo de volume

e a cromatina fica mais condensada até o núcleo tornar-se picnótico, correspondendo à célula que perdeu a capacidade de se dividir. No citoplasma, observa-se inicialmente o acúmulo de RNA mensageiro, intensamente basófilo (azulado); à medida que a célula amadurece, a hemoglobina vai sendo acumulada, dando ao citoplasma uma tonalidade acidófila (rósea), que nas fases intermediárias mescla-se com a basofilia do RNA (policromatofilia) e finalmente a substitui (eritroblastos ortocromáticos).

Dois tipos de receptores são essenciais para a diferenciação eritroide: o receptor de eritropoetina e o receptor de transferrina. A expressão *Receptor De Eritropoetina* (EpoR) pode ser identificada em precursores da linhagem eritroide (BFU-E e CFU-E) e atinge o máximo nos proeritroblastos e eritroblastos basófilos. O *receptor de transferrina* é expresso virtualmente em todas as células do organismo, pois é essencial para a incorporação de ferro pela célula; esses receptores estão presentes em grande número nos precursores eritroides, desde a fase de proeritroblastos, atingindo sua expressão máxima em eritroblastos ortocromáticos e ainda estão presentes em pequena quantidade nos reticulócitos. Outra característica que distingue os precursores eritroides é a expressão de glicoforina A, uma das mais abundantes proteínas da membrana dos eritroblastos e eritrócitos.

### ► Reticulócitos

O eritroblasto ortocromático perde o núcleo transformando-se em reticulócito, que é uma “célula” anucleada que ainda conserva no citoplasma alguns resquícios de organelas: retículo endoplasmático, ribossomas (com RNA mensageiro) e mitocôndrias. Cerca de 10 a 20% da síntese de hemoglobina completa-se nesse estágio e, como ainda conserva mitocôndrias, tem certa capacidade de respiração aeróbica.

Há um sistema elaborado que mantém as células eritroides ancoradas na medula óssea até que estejam maduras para serem liberadas à circulação, que envolve o estroma da

**Tabela 3.2**

► Massa de células eritroides em diferentes fases de diferenciação.

Células eritroides	10 <sup>9</sup> Células/kg peso
Pró-eritroblastos	0,10
Eritroblastos basófilo	0,48
Eritroblastos policromatófilos	1,47
Eritroblastos ortocromáticos	2,95
Reticulócitos medulares	8,20
Reticulócitos circulantes	3,10
Hemácias produzidas por dia	3,00

medula óssea, macrófagos que produzem fibronectina e os receptores de fibronectina nas células eritroides em desenvolvimento. Quando os eritrócitos estão maduros, desaparecem os receptores de fibronectina, liberando as células para circulação.

Os reticulócitos são ligeiramente maiores do que as hemácias maduras, e ainda retêm no citoplasma ligeiros traços de basofilia, dando uma coloração com policromatofilia. Por isso, em esfregaços de sangue corados pelo Leishman são descritos como *macrócitos policromatófilos*.

O uso de corantes supravitais, ou seja, que coram as células vivas antes de serem fixadas, como o azul brilhante de cresil ou azul de toluidina, revela esses restos de organelas no interior dos reticulócitos, precipitando-se sobre as organelas, formando estruturas reticuladas no citoplasma, daí o nome “reticulócito”.

O reticulócito recém-formado permanece de um a três dias na medula óssea, sendo em seguida liberado para a circulação. Um ou dois dias depois de entrarem em circulação, os reticulócitos perdem todas as organelas, têm o volume ligeiramente reduzido e adquirem a coloração citoplasmática própria das hemácias maduras. Neste ponto, cessa a síntese proteica e perdem também qualquer capacidade de metabolismo aeróbico, restringindo-se a metabolização da glicose pela via de Embden-Meyerhoff (geração de ácido láctico) e pelo *shunt* das pentoses. Durante a maturação, os reticulócitos perdem pequenas vesículas contendo lipídios e proteínas de membrana, num processo denominado exocitose; a principal proteína perdida nesse processo é o receptor de transferrina, que desaparece completamente na hemácia madura. O processo final de maturação do reticulócito, incluindo a eliminação de grânulos sideróticos do citoplasma e modificações da membrana, pode ocorrer no baço, num processo denominado *culling*; em pacientes esplenectomizados ou com asplenia, a ausência de função do baço pode resultar no acúmulo de hemácias com anormalidades morfológicas (corpos de Howell-Jolly, *pits* na microscopia de contraste de interferência).

### ► Contagem de reticulócitos

Como a produção diária de hemácias corresponde a 0,83% do total, e como o reticulócito persiste em circu-

lação durante um a dois dias, em torno de 0,8 a 1,6% das hemácias coram-se como reticulócitos. A determinação da porcentagem de reticulócitos no sangue periférico constitui um importante indicador da capacidade funcional da medula óssea diante da anemia: elevação de reticulócitos indica atividade proliferativa compensatória por parte da medula óssea (por exemplo, nas anemias hemolíticas), enquanto uma porcentagem normal ou reduzida em paciente anêmico indica uma medula hipoproliferativa (anemia por menor produção de hemácias).

Na prática, a contagem de reticulócitos deve considerar o grau de anemia. Em um paciente anêmico, a porcentagem de reticulócitos pode parecer aumentada porque estes são liberados mais precocemente da medula óssea (prolongando a fase de “reticulócito” no sangue), e porque há redução na proporção de células maduras. Ao serem liberados mais precocemente, o tempo de maturação dos reticulócitos em circulação aumenta de um dia para dois a três dias. Para corrigir esses efeitos, calcula-se a Contagem de Reticulócitos Corrigida (CRC), levando-se em conta o hematócrito do paciente em relação ao hematócrito normal de 45%.

$$\text{Contagem de reticulócitos corrigida} = \text{Reticulócitos (\%)} \times (\text{Hematócrito}/45)$$

Em indivíduos normais, a CRC deve estar ao redor de 1%; em pacientes com anemia, com hematócrito de 35%, a CRC deve estar em 2 a 3%, e quando o hematócrito está em 25% ou menos, a CRC deve estar em 3 a 5%.

### ► Eritropoese ineficaz

A parcela dos eritroblastos que não chega a completar o desenvolvimento e é destruída na própria medula óssea representa a fração “ineficaz” da eritropoese. A hemoglobina sintetizada nessas células nunca chega a circular, embora seu catabolismo dê origem a bilirrubina juntamente com o restante da hemoglobina liberada das hemácias circulantes. A medida do catabolismo de urobilinogênios derivados da destruição de hemácias permite estimar que cerca de 4 a 12% da hemoglobina sintetizada é destruída na própria medula óssea, sem ter entrado em circulação,

quadro

3.1

## Contagem de reticulócitos na anemia

Paciente com hemoglobina de 6 g/dL e hematócrito de 18% tem uma contagem de reticulócitos de 4,5%. O exame demonstra, pois, uma anemia importante. À primeira vista, a resposta da medula óssea é adequada, pois a porcentagem de reticulócitos está aumentada em relação aos valores de referência (1,5%). No

entanto, o cálculo da CRC =  $4,5 \times (18/45) = 1,8\%$  revela uma resposta inadequada da medula óssea (com hematócrito de 18% a CRC deveria estar entre 3 e 5%), indicando uma anemia do tipo hipoproliferativa como anemia aplástica ou de insuficiência renal ou, ainda, por deficiência de folato, vitamina B<sub>12</sub> ou ferro.

A eritropoetina humana recombinante (rHuEpo), obtida pela atividade do gene humano de eritropoietina, expresso em células em cultura, deve ser usada preferencialmente por via subcutânea, que simula mais as condições fisiológicas, em doses dependentes da condição a ser tratada, com meia-vida de eliminação de 19-22 horas. A principal indicação para terapia com eritropoetina é a insuficiência renal crônica. Mais de 95% dos pacientes com insuficiência renal crônica respondem ao uso de eritropoetina, ficam independentes de transfusões, e têm sensível melhora da qualidade de vida, com elevação dos níveis médios de hemoglobina de 6-7 g/dL para 9-12 g/dL (ver detalhes de dose no capítulo sobre anemia da insuficiência renal). Além da uremia, a rHuEpo pode ser utilizada em numerosas condições para prevenir ou para tratar anemia. A rHuEpo pode ser usada para prevenir anemia quando ocorre transfusão autóloga, antecedendo cirurgia eletiva (250-300 UI/kg SC 2×/semana, por três semanas) e em pacientes sob tratamento com cisplatina ou carboplatina (150 UI/kg 3×/semana enquanto durar a quimioterapia). A rHuEpo pode também ser utilizada para tratar anemia nos casos em que a produção de eritropoetina não se eleva ou eleva-se inadequadamente: a) anemia em prematuros (para recém-nascidos com peso entre 750 e 1.300 g, doses recomendadas de 250 UI/kg 3×/semana, da 1ª à 6ª semana de vida, com suplementação de 5 mg de ferro por kg/dia por via oral); b) anemia da artrite inflamatória; c) infecção por HIV: anemia complica a evolução de cerca de dois

terços dos pacientes com Aids, sendo agravada pelo uso de AZT. Particularmente, os pacientes com níveis basais de eritropoetina inferiores a 500 mUI/mL beneficiam-se de doses de 100-200 UI/kg, 3×/semana, com elevação do hematócrito e redução das necessidades transfusionais; d) no mieloma múltiplo, especialmente em estágio avançado, a anemia é complicação muito frequente e a grande maioria dos pacientes responde ao uso de eritropoetina (200 UI/kg/semana quando há atividade residual da medula, com plaquetas acima de  $100 \times 10^9/l$ , ou 500 UI/kg/semana, quando o nível de plaquetas é menor); outras aplicações a serem consideradas incluem o tratamento da anemia do câncer (em especial na presença de quimioterapia ou radioterapia) e síndromes mielodisplásicas. Pacientes com câncer (câncer de mama, de cabeça e pescoço, linfoma) e anemia relacionada ao tratamento podem responder ao uso de eritropoetina, com sensível melhora da qualidade de vida; não há, no entanto, recomendação para utilização de eritropoetina em anemia do câncer não associada ao tratamento quimioterápico. Na mielodisplasia de risco baixo ou intermediário, a eritropoetina produz resposta em 15 a 30% dos pacientes não selecionados, com melhora da qualidade de vida e redução ou abolição da necessidade de transfusões. Há indícios, resultantes da meta-análise de numerosos trabalhos, de que o uso de eritropoetina poderia ter efeito positivo em pacientes anêmicos com insuficiência cardíaca, mas ainda são necessários estudos prospectivos maiores para confirmar esta indicação.

correspondendo à *eritropoese ineficaz* em condições normais. Numerosas doenças são acompanhadas de um aumento da eritropoese ineficaz: nesses casos há uma desproporção entre a riqueza eritroide da medula óssea e a quantidade de hemácias efetivamente liberadas em circulação; em alguns casos, proporção ineficaz da eritropoese ultrapassa 80%. Exemplos de situações em que há aumento da eritropoese ineficaz: anemias megaloblásticas, talassemias, síndromes mielodisplásicas, eritroleucemia. Laboratorialmente a eritropoese ineficaz produz associação de hiperplasia eritroide da medula óssea, reticulócitos baixos ou normais, e ligeiro aumento de bilirrubina indireta. Na citologia de medula óssea poderão ser identificados os sinais morfológicos de *diseritropoese*: assincronia na maturação nucleocitoplasmática, lobulação nuclear, cariorréxis, fragmentação nuclear, pontes cromatínicas internucleares, binuclearidade ou multinuclearidade, excrescências citoplasmáticas, vacuolização citoplasmática. Além disso, a coloração específica para ferro, em geral, revela anormalidades, como granações múltiplas e grosseiras.

### ► Controle da produção de hemácias

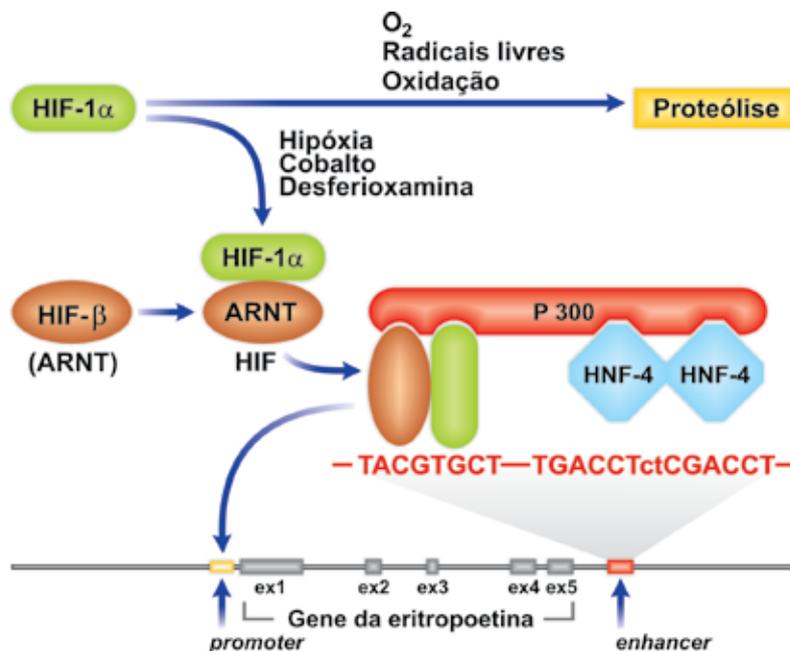
A produção de hemácias é controlada principalmente por fatores de crescimento que agem sobre as células precursoras e estimulam seu desenvolvimento e maturação, como a eritropoetina e a Interleucina 3 (IL-3), e os hor-

mônios tireoidianos e andrógenos, pelo seu efeito sobre o metabolismo.

## ERITROPOETINA

A eritropoetina é o principal fator de crescimento que regula a produção de hemácias. Trata-se de um hormônio glicoproteico constituído de 165 aminoácidos, com peso molecular de 34,4 kDa. A principal fonte de eritropoetina no organismo é o tecido renal, provavelmente as células intersticiais peritubulares renais, que produzem cerca de 90% do hormônio, sendo os 10% restantes produzidos por hepatócitos que rodeiam as veias centrais no fígado. A parcela produzida pelo rim é altamente sensível ao nível de oxigenação do sangue renal ou a outros mecanismos que causam redução da oxigenação dos tecidos renais, como a anemia. Nessas circunstâncias, a produção de eritropoetina pode aumentar até mil vezes. O hormônio liga-se ao Receptor de Eritropoetina (EpoR) expresso especificamente em precursores eritroides, estimulando a sua proliferação e diferenciação, levando a um aumento da massa eritrocitária.

A eritropoetina é codificada por um gene com cinco éxons, que se encontra no braço longo do cromossomo 7 (em 7q21). A análise da estrutura do gene de eritropoetina revelou uma série de sítios que cooperam para regular a expressão do gene, em particular sua expressão aumentada na hipóxia (Figura 3.1). A principal estrutura responsiva à



**Figura 3.1** A principal região responsiva à hipóxia no gene da eritropoetina no rim está situada a 0,7 kb de sua região 3', onde se ligam os fatores denominados HIF-2 $\alpha$ , HNF-4 e ARNT (ou HIF- $\beta$ ). Sua ligação ativa a *promoter* do gene na região 5' e promove a transcrição do RNA mensageiro da eritropoetina. O processo inicia com a produção de sirtuína-1 que desacetila o gene HIF-2 $\alpha$ , aumentando a produção da subunidade proteica.

hipóxia é um *enhancer* situado a 0,7 kb da região 3'-final do gene (no fígado a situação é inversa, ou seja, a região responsiva está a 5' do início do gene). Esse *enhancer* contém três sítios críticos para a resposta à hipóxia, aos quais se ligam três intermediários denominados HIF-2 $\alpha$  (*Hypoxia Inducible Factor*),<sup>1</sup> HNF-4 (*Hepatic Nuclear Factor*) e ARNT (*Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator* ou HIF- $\beta$ ). Na presença desses três fatores, em associação com p300, um coativador transcripcional, forma-se um complexo que interage com fatores de transcrição, criando condições para ativação da transcrição gênica localizada, aumentando a produção de mRNA do gene da eritropoetina. O processo começa pela ação de sirtuína-1 (cuja produção aumenta com estresse hipóxico); essa, por sua vez, produz desacetilação da região do gene HIF-2 $\alpha$ , aumentando a expressão deste gene.

A regulação do gene da eritropoetina pela hipóxia depende, então, fundamentalmente da formação do complexo HIF; a subunidade HIF- $\beta$  (ou ARNT) é expressa constitutivamente em níveis que não são afetados pela tensão de oxigênio, enquanto que a subunidade HIF- $\alpha$  não é detectada em condições normais, mas aumenta em resposta à hipóxia.

O *Receptor De Eritropoetina* (EpoR) pertence à superfamília dos receptores de citocina (juntamente com os re-

ceptores de IL-3, IL-4, IL-6, G-CSF, GM-CSF e outros). É uma glicoproteína transmembrana, de 59 kDa (508 aminoácidos), codificada por gene de 8 éxons, que está no braço curto do cromossoma 19 em 19p13.3-p13.2. Quando a eritropoetina se liga à parte extracelular do receptor, ele se dimeriza provocando a autofosforilação e a ativação de JAK2. Este, por sua vez, ativa uma série de mediadores como MAP cinase, AKT cinase e Stat5 que vão atuar na ativação e transcrição de genes que promovem a diferenciação eritroide. Na ausência da ativação do EpoR, os precursores eritroides sofrem apoptose.

### ► Variações dos níveis de eritropoetina e do seu receptor

A produção aumentada de eritropoetina associa-se tipicamente a situações de hipóxia renal, levando à elevação do hematócrito (policitemia secundária), como ocorre na doença pulmonar obstrutiva crônica, cardiopatia congênita cianosante, apneia do sono, hemoglobinopatia com aumento de afinidade pelo oxigênio, metemoglobinemia hereditária, tabagismo e hipóxia renal localizada. Também os indivíduos que vivem em altitudes elevadas estão submetidos a baixas tensões de oxigênio, determinando uma elevação da produção de eritropoetina e dos níveis médios de hematócrito.

Produção deficiente de eritropoetina ocorre em várias formas de anemia, como a anemia da insuficiência renal crônica, anemia das inflamações crônicas, doenças autoimunes, Aids e neoplasias. É possível que a menor produção de eritropoetina em muitas dessas doenças esteja associada

1 Embora os estudos iniciais tenham revelado o gene HIF-1 $\alpha$ , estudos posteriores determinaram que o fator primariamente responsivo à hipóxia nas células renais é o HIF-2 $\alpha$  (também chamado EPAS1).

Há tumores cujas células têm receptores de eritropoetina; há resultados controversos, não confirmados, que poderiam sugerir que o uso de eritropoetina em pacientes com alguns tipos de cânceres poderia acelerar a evolução do tumor, levando a sobrevida menor. Embora não haja confirmação, o uso nesses casos deve ser cauteloso e somente empregado quando há claro benefício em termos de controle da anemia, com redução ou abolição da

necessidade transfusional. Assim, ASH e ASCO [*Blood* 100:2303-2320, 2002] recomendam conjuntamente que não se deve buscar “normalizar” os níveis de hemoglobina, mas manter níveis de 11-12 g/dL, suficientes para melhorar a qualidade de vida. É também prudente evitar o uso de eritropoetina em pacientes com risco de tromboembolismo e ser muito cauteloso em pacientes com câncer, pois este é o grupo mais sujeito a eventos adversos.

à elevação de IL-1. Ao avaliar os níveis de eritropoetina em um paciente com anemia é necessário comparar os resultados obtidos com o nível esperado para indivíduos com aquele hematócrito, e não com indivíduos normais. Como a produção de eritropoetina é muito sensível à redução da oxigenação renal, pacientes com anemia que têm níveis de eritropoetina equivalentes aos indivíduos normais têm, de fato, deficiência da produção de eritropoetina. Na prática médica, isso significa que muitos deles podem responder ao tratamento com eritropoetina recombinante (Tabela 3.3).

são descritas na maior proporção das síndromes mieloproliferativas BCR-ABL negativas (ver Capítulos 32, 45 e 46).

### DESTRUIÇÃO DE HEMÁCIAS

Após cerca de 120 dias em circulação, em virtude de seu esgotamento metabólico e alterações degenerativas, as hemácias são removidas e destruídas intracelularmente, em células do sistema monocítico-macrofágico, especialmente no baço, no fígado e na medula óssea. Em condições normais, a retirada do baço não altera a sobrevida das hemácias, pois a destruição medular continua inalterada. No entanto, quando há hemólise patológica a destruição esplênica pode ser muito significativa, como ocorre na esferocitose e nos talassêmicos com esplenomegalia submetidos a transfusão crônica. Nesses casos, a retirada do baço pode levar a uma acentuada redução da hemólise e aumento da sobrevida das hemácias em circulação. Em outras anemias hemolíticas, como a anemia falciforme, a destruição aumentada de células ocorre predominantemente no fígado.

De grande interesse é o mecanismo pelo qual as hemácias velhas são reconhecidas e eliminadas de circulação. Vários fatores contribuem para isto, em especial a redução da atividade metabólica e a oxidação da hemoglobina. A formação de agregados de proteína de banda 3 (uma das mais abundantes proteínas transmembranais da hemácia), estabilizados por moléculas de hemoglobina oxidadas (hemimicrossom) seriam reconhecidos como antígenos por anticorpos IgG autólogos e complemento. Com a deposição de uma densidade crítica de anticorpos e moléculas de complemento, as hemácias senescentes seriam reconhecidas e eliminadas.

Uma vez fagocitada, a hemácia é decomposta em seus componentes, sendo os mais importantes a membrana e a hemoglobina (Figura 3.2). Proteínas e fosfolípidos de membrana são digeridos. A hemoglobina é decomposta em globina (que é metabolizada, dando origem a aminoácidos) e o heme, que, por sua vez, com a abertura do anel da protoporfirina, libera o ferro e forma a bilirrubina.

O ferro permanece no macrófago e será reaproveitado para a síntese de hemoglobina. Não há no organismo via

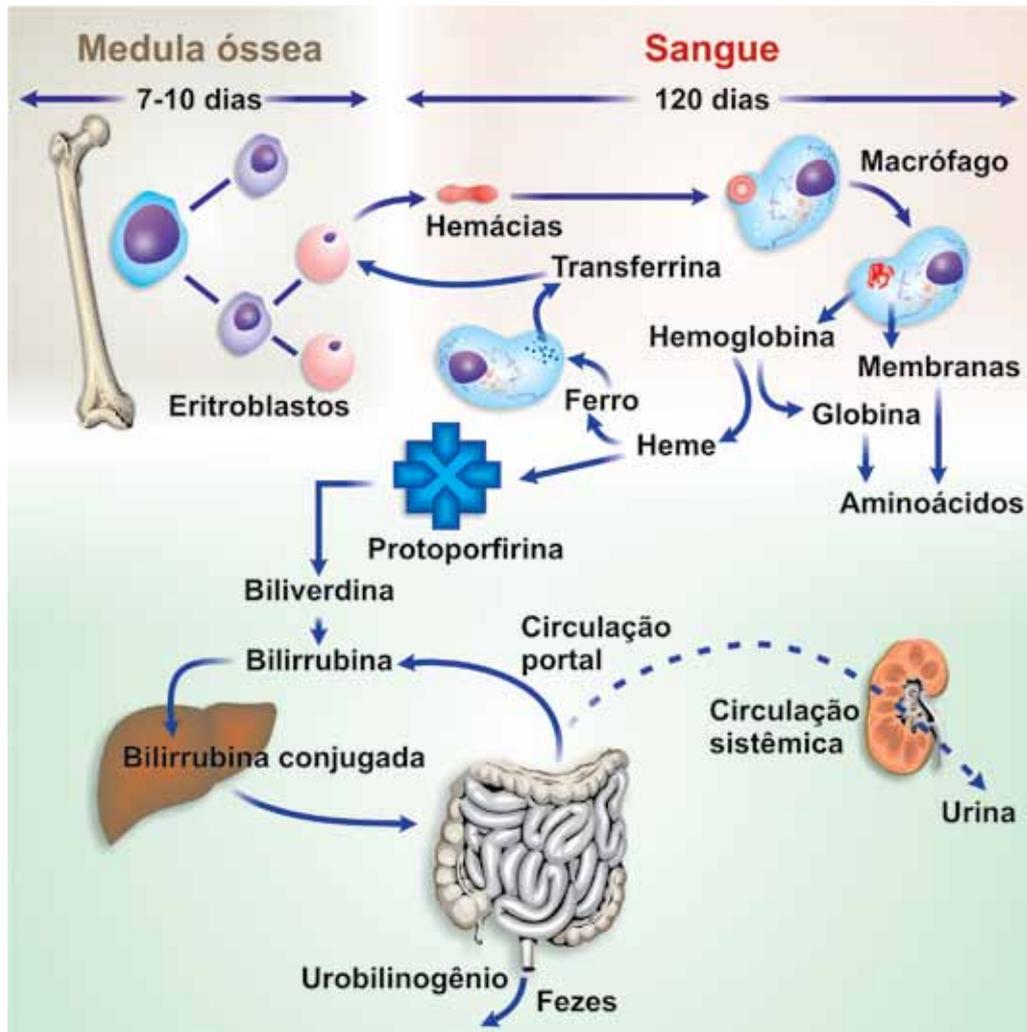
Tabela 3.3

► Algumas indicações clínicas para o uso de eritropoetina humana recombinante.

- Anemia da insuficiência renal crônica
- Infecção por HIV tratada com zidovudina
- Anemia durante tratamento para o câncer
- Autotransfusão
- Anemia na insuficiência cardíaca?
- Cirurgia

Mutações do gene do receptor de eritropoetina representam causas raras de policitemias familiares, como: mutação G-A em nt 6002 (*nonsense mutation* com término precoce em Trp439), inserção G em nt 5975 (com *frameshift* a partir do aminoácido 430 e molécula truncada com perda de 64 aminoácidos), deleção de sete nucleotídeos entre 5985-5991, no éxon 8 (molécula truncada com 59 aminoácidos a menos), e a mutação C-G no nt 5964 (determinando a síntese de uma molécula truncada com 83 aminoácidos a menos, interrompida no códon 426).

JAK2 é um importante intermediário da ação da eritropoetina, pois sua auto-fosforilação desencadeia a ação de vias que vão promover a diferenciação mieloide, em especial, da linhagem eritroide. Por esse motivo, mutações desse gene, em especial a JAK2V617F, e as mutações do éxon 12,



**Figura 3.2** Ciclo vital das hemácias, que são produzidas na medula óssea, circulam cerca de quatro meses, e são finalmente fagocitadas pelas células do sistema de macrófagos mononucleares. O catabolismo da hemoglobina dá origem ao ferro, que é reaproveitado, e à série de pigmentos derivados do anel tetrapirrólico, incluindo as bilirrubinas e o urobilinogênio.

de excreção de ferro, de forma que a molécula passa a fazer parte do *pool* de armazenamento e poderá ser utilizada novamente para síntese de hemoglobina. Para voltar a um eritroblasto em desenvolvimento, o ferro pode ser liberado na superfície da célula e transportado para o eritroblasto ligado à transferrina; alternativamente, pequenos fragmentos do citoplasma podem passar diretamente do macrófago ao eritroblasto, num processo semelhante à fagocitose denominada *rofecitose*.

A bilirrubina lipossolúvel (bilirrubina “indireta” ou não conjugada), formada a partir da abertura do anel do heme, e liberação do ferro, circula ligada à albumina, sendo retirada de circulação pelos hepatócitos. Nos hepatócitos a bilirrubina é conjugada com compostos que a tornam hidrossolúvel, em especial o ácido glicurônico, pela ação de glicuroniltransferase. O composto hidrossolúvel formado (bilirrubina “direta” ou conjugada) é excretado nos canalículos hepáticos, indo finalmente alcançar o duodeno como parte da bile. No intestino,

numerosos compostos são derivados da oxidação e do metabolismo da bilirrubina direta; esse conjunto é coletivamente (e de maneira pouco acurada) denominado “urobilinogênio fecal”, e seus produtos de oxidação contribuem para dar coloração às fezes. Uma parte do urobilinogênio é reabsorvida do intestino e alcança o fígado pela circulação portal (circulação enteroepática), sendo praticamente todo captado pelo hepatócito e re-excretado no intestino. Apenas quando há lesão funcional dos hepatócitos é que quantidades significativas de urobilinogênio deixam de ser captadas pelos hepatócitos e alcançam a circulação sistêmica, sendo filtrado pelo rim e aparecendo na urina. Portanto, a maior destruição de hemoglobina, que caracteriza as anemias hemolíticas, aumenta a concentração de bilirrubina indireta no plasma e a quantidade de urobilinogênio fecal produzida diariamente, mas não leva ao aumento grosseiro de urobilinogênio na urina; esse aumento ocorre apenas quando há lesão funcional dos hepatócitos.

## REFERÊNCIAS CONSULTADAS

1. Adamson JW, Eschbach JW. Erythropoietin for end-stage renal disease. *N Eng J Med.* 1998;339:625-7.
2. Davis SL, Littlewood TJ. The investigation and treatment of secondary anaemia. *Blood Rev.* 2012 Mar;26(2):65-71.
3. Ginzburg Y, Rivella S.  $\beta$ -thalassemia: a model for elucidating the dynamic regulation of ineffective erythropoiesis and iron metabolism. *Blood.* 2011;118:4321-30.
4. Heuser M, Ganser A. Recombinant human erythropoietin in the treatment of nonrenal anemia. *Ann Hematol.* 2006;85:69-78.
5. Jelkmann W. Regulation of erythropoietin production. *J Physiol.* 2011;589:1251-8.
6. Lim JH, Lee YM, Chun YS, Chen J, Kim JE, Park JW. Sirtuin 1 modulates cellular responses to hypoxia by deacetylating hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ . *Mol Cell.* 2010;38:864-78.
7. Maxwell PH. Hypoxia-inducible factor as a physiological regulator. *Exp Physiol.* 2005;90:791-7.
8. Rizzo JD, Lichtin AE, Woolf SH, Seidenfeld J, Benett CL, Cella D, et al. American Society of Clinical Oncology; American Society of Hematology. Use of epoetin in patients with cancer: evidence-based clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology and the American Society of Hematology. *Blood.* 2002;100:2303-20.
9. Scott LM. The JAK2 exon 12 mutations: a comprehensive review. *Am J Hematol.* 2011;86:668-76.
10. Spivak JL. The clinical physiology of erythropoietin. *Semin Hematol.* 1993;30:2-11.
11. Tehrani F, Dhesi P, Daneshvar D, Phan A, Rafique A, Siegel RJ, Cercek B. Erythropoiesis stimulating agents in heart failure patients with anemia: a meta-analysis. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2009 Dec;23(6):511-8.