

DEPARTAMENTO DE HISTOLOGIA E EMBRIOLOGIA DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE S. PAULO (DIRETOR: PROF. CARMO LORDY)

## FISIOLOGIA DA PRODUÇÃO E DESTRUIÇÃO DE GLOBULOS VERMELHOS — INTRODUÇÃO AO ESTUDO DAS ANEMIAS (\*)

DR. EMILIO MATTAR

Define-se como anemia aquela condição em que a taxa global de hemoglobina diminua: ainda que não haja queda do numero de hemaceas, baixando a quantidade de hemoglobina por cada globulo, a condição será de anemia. Si o numero de globulos cae a niveis abaixo dos limites normais, sem que se modifique a taxa global do pigmento hemoglobínico no volume total de sangue, não haverá anemia.

O conceito de anemia baseia-se assim na anoxia anêmica. Baixa no sangue o elemento em que o oxigenio vai se fixar para ser distribuido aos tecidos, sem que se tenha diminuição da saturação arterial de oxigenio, pois em condições puras, não ha anormalidades da tensão arterial do oxigenio inspirado, nem da absorção do oxigenio ao nivel dos alveolos pulmonares.

As anemias devem ser distinguidas das hipervolemias por aumento do volume do plasma circulante (gravidez, nefrite, cardiopacias, etc) em que a diluição da parte figurada do sangue faz com que por mm<sup>3</sup> haja menor numero de globulos do que o normal, e por 100 cc de sangue, taxa hemoglobínica abaixo de 14,5 grs. Nestes casos, existem niveis normais de hemaceas e hemoglobina para o volume total de sangue circulante. A condição oposta tambem deve ser levada em conta, para a diferenciação com as poliglobulias; nas diarreias, vomitos, estados febris, todas as condições acompanhadas de inflamação serosa, pode aumentar a taxa de pigmento sanguíneo por cento, assim como o numero de globulos por mm<sup>3</sup>, sem alteração destes elementos quando se considera o volume total de sangue circulante.

\* \* \*

No homem normal, desde o nascimento, os globulos vermelhos tem uma unica origem: a medula óssea. Neste órgão podem se encontrar duas porções, uma funcionante, ativa, vermelha, em que ha

---

(\*) Texto taquigrafado de aula do curso de férias de "Hematologia morfológica e clinica" promovido pelo Departamento de Histologia e Embriologia da Faculdade de Medicina da Universidade de S. Paulo, em Janeiro de 1940.

proliferação de eritroblastos com formação constante de hemáceas, e outra, não funcionante, inativa, amarela, constituída, em sua grande parte, por células gordurosas. Normalmente só a primeira tem função hemopoética, enquanto a segunda só em condições particulares, diante de fatores anemizantes, pode se transformar em medula hemopoeticamente ativa, dando-se então a evolução das células progenitoras aí situadas, com proliferação rápida das células germinais de cada série, sobretudo a série eritroblástica. Somente no recém-nascido e na infância, é possível encontrar em todos os ossos medula vermelha. De fato, de acordo com Piney, toda medula é vermelha, ativa portanto, no recém-nascido. Posteriormente vai se fazendo uma progressiva transformação da medula ativa em um órgão predominantemente gorduroso, transformação que se inicia simetricamente nos ossos longos dos membros e evolue centralmente em direção ao tronco. Assim, a medida que o indivíduo se desenvolve, dá-se concentração centripeta da medula funcionante, de maneira que na puberdade ela fica restringida aos ossos do tronco, aos ossos chatos do crânio, e às extremidades proximais dos ossos longos dos membros (fêmur, humero, rádio e cubito). Nas extremidades distais destes últimos segmentos pode ou não existir medula vermelha, e nas diafizes, em condições normais, só há medula amarela. No entanto esta parte gordurosa da medula óssea tem uma labilidade funcional (Sabin) muito acentuada, no sentido de que, aumentando as necessidades orgânicas, como por exemplo diante de uma hemorragia aguda, em 24 a 48 horas torna-se francamente ativa, desenvolvendo a série normal, acelerada dos eritroblastos, transformando-se em medula vermelha. Em outras ocasiões, ainda mais particulares, não só a medula amarela pode voltar a sua função eritro e hemopoética, mas também a produção de glóbulos vermelhos pode se dar fora da medula, em órgãos que na vida embrionária foram hemopoéticos: estes órgãos, com especialidade o baço e o fígado, constituem um repositório de células mezenquimatózas que conservaram sua propriedade embrionária de multidiferenciação, e portanto, contêm, em sua estrutura, células potencialmente hemopoéticas. Estas células, que Aschoff e Kyono englobaram no sistema retículo-endotelial, podem voltar à sua função hemopoética e produzir células de sangue, de qualquer série, granulocítica, eritropoética, ou linfocítica. Em condições eritremoides ou eritremicas, as células retículo-histiocitárias podem fazer aparecer a sua propriedade eritropoética, diferenciando-se para eritroblastos, passando ou não através a fase indiferenciada, fixa, de hemocitoblastos. Estes focos de proliferação eritroblástica, extra-medular, autóctones, constituem as metaplasias eritroblásticas.

Concomitantemente à formação de células vermelhas, na medula se completa a formação da hemoglobina. A célula primitiva da série vermelha, o pro-eritroblasto basófilo, se transforma com a perda de nucleolos, em eritroblasto basófilo, que ao adquirir hemoglobina torna-se policromático; num último estágio de evolução, o eritroblasto perde

todos os seus caracteres de imaturidade — nucleo e basofilia citoplasmica — e origina o eritrocito acidofilo. Como Cunningham, Sabin e Doan demonstraram, os eritroblastos tem formação intravascular, derivando do endotelio histiocitario dos sinusoides medulares; cada unidade vascular capilar da medula consiste de uma rede constituída, em parte, por sinusoides extensamente dilatados e, em parte, por capilares constringidos, por onde pode passar um globulo vermelho; neste sistema ha um balanceamento tal que quando uns capilares se abrem outros se fecham, e vice-versa. Os sinusoides mais acentuadamente eritrogenicos, ou aqueles que se tornam mais rapidamente eritrogenicos apos hipoplasia medular, são os que se comunicam com a circulação atravez os capilares fechados. Devido a este fato, e por serem os endotelios dos capilares medulares unidos entre si sem solução de continuidade, diz-se que este orgão é provido de circulação fechada. A circulação medular só se comunica com a circulação geral, quando os eritroblastos completam a sua evolução, transformando-se em eritrocitos acidofilos. O mecanismo intimo deste processo não é conhecido.

Lançados á circulação, as hemaceas vão exercer suas funções, das quais a principal é a de seu componente essencial, a hemoglobina, isto é, o transporte de oxigenio. A função respiratoria da hemoglobina se faz pela união deste elemento ao oxigenio formando-se a oxihemoglobina, que se desdobra ao nivel dos tecidos perifericos, cedendo oxigenio ás celulas, e unindo-se ao anidrido carbonico com formação de carboxihemoglobina, que deixa desprender o  $\text{CO}_2$  ao nivel dos pulmões. O ciclo vital do globulo vermelho dura de 60 a 90 dias, em que se dá o envelhecimento progressivo da celula até sua destruição, em parte no proprio sangue circulante, e em parte nos orgãos hemocatereticos. A elasticidade dos globulos vermelhos permite a sua passagem em vasos mais estreitos que o seu diametro. Com o tempo a elasticidade se gasta e a celula, ao passar pelos pequenos capilares, pode se fragmentar (Krumphaar), originando os fragmentos de hemaceas, ou schizocitos de Ehrlich, que, em condições patologicas, por perda da elasticidade das hemaceas, circulam em quantidade aumentadas. A maior parte da destruição das celulas vermelhas, no entanto, se dá nas celulas reticulo-endoteliais, difusas por todo organismo. Sendo o baço o orgão mais rico em celulas reticulo-histiocitarias, e sendo dotado de uma circulação muito lenta á custa das lacunas e capilares sinusoidais permitindo contato prolongado entre hemaceas e celulas histiocitarias, é ele o orgão hemocateretico por excelencia.

Com a destruição dos globulos vermelhos não termina o ciclo da hemoglobina. O pigmento sanguineo é uma cromoproteina, constituída de uma porção pigmentar contendo ferro (hematina) ligada a uma proteina do grupo da histona ( globina). A molecula de porfirina é formada por 4 nucleos pirrolicos, e o seu derivado, a protoporfirina, quando se une a um atomo de ferro origina a hematina. Não

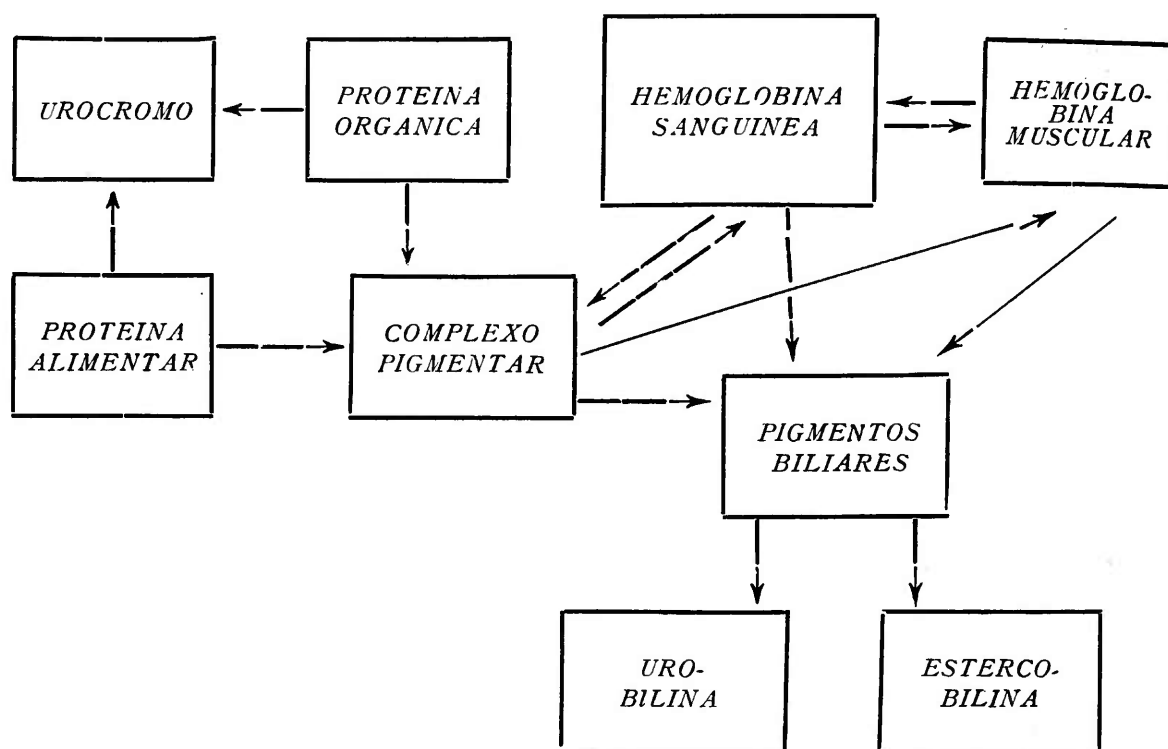
se conhece todo o mecanismo de formação da hemoglobina no organismo. As pesquisas de Whipple e seus colaboradores sugerem que o organismo pode sintetizar o núcleo pirrólico para a formação do pigmento hemático; é possível também que porfirinas alimentares, diferentes da que faz parte da hemoglobina, sejam desdobradas no organismo em seus núcleos pirrólicos, que seriam então resintetizados em protoporfirina. A parte proteica — a globina, existente principalmente na carne, é um fator importantíssimo para a formação normal da hemoglobina. Provavelmente todos os amino-ácidos que fazem aumentar a regeneração hemoglobínica, tem sua ação explicada pelo papel desempenhado na síntese da globina.

Ao serem destruídos os glóbulos na periferia e sobretudo no baço, a hemoglobina é desdobrada em seus componentes: o pirrólo vai ser utilizado para a fabricação de bilirubina; a globina e o ferro acumulam-se no baço e vão ser aproveitados na medida das necessidades, para a formação de nova hemoglobina. Também o fígado pelo seu papel de armazenamento do ferro alimentar, e pela sua influência na síntese da globina é um órgão de reserva de material hemoglobínico formador e hemopoietico regulador, sinergicamente com o baço. O conceito da formação de hemoglobina á custa de fatores endógenos e exógenos é fundamental para a compreensão da fisiopatologia das anemias. Quando se faz uma esplenectomia, retira-se um órgão essencial para a reserva de material necessário á normal hemopoiese; o esplenectomizado é, porisso, sempre um anêmico por deficiente formação de hemoglobina. Além disto, deante de condições anemizantes, o esplenectomizado não é dotado da mesma capacidade de resposta á anemia, por estar desprovido do órgão que guarda o material resultante da destruição das hemáceas envelhecidas, e necessário á formação de nova hemoglobina. O organismo perde então o seu processo económico de reformação de pigmento hemático, e é necessário fazer vir por via exógena, alimentar, o material necessário á formação de hemoglobina e glóbulos vermelhos em taxas normais.

Quando se pratica uma hemorragia aguda experimental, em animais de laboratório, ou quando se dá uma hemorragia aguda espontânea no homem, os processos de reação são de ordem central e periférica. Periféricamente os órgãos de reserva hemopoietica cedem á medula maior quantidade de material hemoglobínico e eritropoietico formador, pois, num individuo normal, estes órgãos estão dotados de reservas suficientes para as condições de maior necessidade. Centralmente, dá-se a transformação rápida de medula amarela, gordurosa, em funcional, intensamente ativa, pois também num individuo normal a medula dispõe de elevada capacidade regenerativa de reserva. A reação hemopoietica se processa de tal forma que a condição é mais de hipovolemia do que de anemia, e o tratamento visa mais restabelecer o volume diminuído de sangue do que fazer voltar ao normal os valores hematológicos.

Nas hemorragias crônicas, o problema assume outro aspecto. Experimentalmente, submetendo-se um animal a hemorragias crônicas, constantes, por tempo prolongado, dá-se progressiva e lenta diminuição de hemoglobina e de globulos vermelhos, que se tornam hipocromicos e microcíticos. A hemorragia, cronicamente mantida, exgotou as reservas de material hemopoietico guardadas nos órgãos depositos, o baço e o figado. Exgotados as reservas, si o animal é mantido em dieta pobre em produtos regeneradores de hemoglobina, a medula vermelha sofre por carencia, e não consegue manter o mesmo ritmo de formação em relação á intensidade da destruição ou da perda sanguinea. Por falta deste material necessario a hemopoiese normal, a medula vermelha gradativamente perde seu carater funcional, ativo, e se transforma em gordurosa. A conversão de medula vermelha em amarela faz-se muito lentamente, em contraste com o fenomeno inverso, devido á "estabilidade funcional" da parte ativa da medula ossea. Miller e Rhoads realizaram hemorragias crônicas em animais de laboratorio, mas ao invéz de desprezar o sangue retirado, hemolisavam-no, e reinjetaram a hemoglobina libertada, repetindo, assim, com alguma analogia, o fenomeno tal como se passa biologicamente. Os animais não se tornavam anemicos, permanecendo a resposta medular ativa ás repetidas hemorragias, por dispor o órgão eritropoietico, dos produtos de destruição uteis para a formação de novas celulas e nova hemoglobina. O mesmo material pode ser fornecido por via exogena, e Whipple e Robscheit-Robbins mantendo cães, submetidos a hemorragias crônicas, em dieta altamente proteica (carnea) ou então com grandes doses de ferro, preveniam o desenvolvimento de estados anemicos, conservando-se a medula intensamente ativa.

Ficou estabelecido, desta maneira, um conceito fundamental, o de que a regeneração eritropoetica e a formação de hemoglobina, de acordo com as necessidades e as condições variaveis do organismo, dependem de fatores, em parte exogenos e em parte endogenos.



METABOLISMO PIGMENTAR SEGUNDO WHIPPLE

A clinica oferece exemplos sugestivos que documentam as asserções feitas. Na ictericia hemolítica, por diminuição da resistencia globular, e por hiperexcitabilidade das celulas histiocitárias para destruir hemaceas, processa-se destruição, em maior escala do que o normal, das celulas vermelhas. No entanto, a destruição vai se dar justamente no baço, órgão que acumula tambem, então em quantidades mais elevadas, os produtos hemoglobino e eritroblasto-formadores resultantes. Apesar da cronicidade desta condição, a medula mantém sua funcionalidade em alto gráo, e o paciente não é sinão discretamente anemico.

Como na ictericia hemolítica, não se altera a capacidade funcional da medula, nem perde ela o seu poder de reserva para regeneração, temos um ótimo exemplo para mostrar a reação hemopoietica a um fator anemizante. No quadro periferico, ao lado de discreta queda quantitativa dos globulos vermelhos, aparece aumento dos reticulocitos, e em menor escala, de outras hemaceas trazendo consigo sinais de imaturidade (corpos de Jolly, substancia azurofila, policromatofilia, etc), e ainda em menor intensidade, de eritroblastos circulantes, sobretudo ortocromaticos. Não fazem parte importante do quadro, a aniso nem a poiquilocitose. O conjunto perfaz o que se denomina de reação escalonada, por ser constituída de elementos proprios da evolução normal dos eritroblastos, e, sobretudo, por ser uma reação eritrocitica, em que as celulas quanto mais imaturas, aparecem em menor escala no sangue circulante.

Nas crises hemolíticas da anemia perniciosa, a resposta é muito diferente. Também aqui a maior destruição de hemácias se processa internamente, sobretudo no baço, acumulando-se o material de reserva resultante. O fator periférico é, portanto, ativo. Mas falha o elemento central, porque na anemia perniciosa, a medula óssea não está íntegra, e reage mal a uma condição anemizante. A reação não é escalonada, pois relativamente aparecem mais eritroblastos do que reticulócitos, e no sangue circulante encontram-se elementos que não fazem parte da evolução normal do eritroblasto para o eritrócito; de fato, existem em quantidade apreciável anéis de Cabot, aniso e poiquilocitose intensas, o que só aparece em condições de resposta patológica.

Conquista magnífica da medicina moderna deve-se à escola norte-americana, ao estabelecer os vários fatores, em sua maioria de ordem nutritiva, que intervêm na manutenção e na regulação da eritropoiese normal, abrindo um grande campo — a etiologia carencial — no estudo das afecções hemopáticas.

Os estudos foram sobretudo sistematizados por Whipple e Robscheit-Robbins, que estudaram experimentalmente o poder hematogênico de regeneração hemoglobínica e globular, de vários alimentos e de várias substâncias medicamentosas. Obedeceram os pesquisadores americanos a um experimento standard que se tornou clássico; coloca-se cães em determinado regime alimentar pre estabelecido, e em condições basais de experimentação. Provoca-se, em seguida, anemia, por sangrias hebdomadarias, que fazem descer a hemoglobina de 140 a 150% (normal para o cão) para 40 a 50%. Verificaram então o poder regenerativo sanguíneo das várias substâncias e das dietas.

Estas pesquisas primordiais foram seguidas, clínica e experimentalmente, por Minot e Murphy, Castle, Meulengracht, Wilkinson, Sturgis, Isaacs, Cohn, Strauss, Rhoads, Miller, etc.

Atualmente está estabelecido que para manutenção da hemopoiese normal e para normal formação de pigmento hemático, são necessários certos fatores, alguns já bem definidos, e outros apenas entrevistos, à espera de novos estudos. É possível esquematizar os principais: 1) Fatores dietéticos. 2) Ferro. 3) Princípio anti-pernicioso. 4) Cobre. 5) Vitamina C. 6) Tiroxina.

Os *fatores dieteticos* são do mais alto valor. O quadro abaixo traduz, em esquema, os resultados das experiencias de Whipple-Robbins:

<i>Dieta</i>	<i>grs. diariamente</i>	<i>Hemoglobina produzida em 2 semanas</i>
Leite	450	3 grs
Creme	100	10 "
Manteiga	100	15 "
Espinafre	200	15 "
Peixe total	250	13 "
Musculos	250	17 "
Ovos	150	45 "
Ferro	40 mgrs.	50 "
Rim	250	70 "
Figado	450	95 "

Assim, inesperadamente verificou-se que o fígado e o rim são as substancias que mais fornecem elementos para a regeneração hemoglobínica. Este grande achado da medicina experimental não encontrou logo toda sua importancia na compreensão do clinico. Pelo contrario, Gibson e Howard e outros não confirmaram, na clinica, as conclusões valiosas de Whipple e Robbins. Minot e Murphy tiveram o genio de utilizar dietas altamente carneas, sobretudo ricas em fígado, pobres em gorduras na molestia fatal que era a anemia perniciosa. Desde então os fatores dieteticos passaram para a primeira linha de importancia nas anemias humanas. No fígado ha 2 frações: Na fração precipitavel pelo alcool a 95%, eficiente na anemia perniciosa, Castle verificou a presença de um *principio anti-anemico* (melhor denominado principio anti-pernicioso) que no organismo forma-se pela união de um fator extrinseco, existente na carne, levedo de cerveja, etc, e de um fator intrinseco secretado pela mucosa gastro-duodenal (Meulengracht). Nenhum destes fatores está ainda definitivamente isolado; o fator exogeno provavelmente identifica-se com componentes do complexo vitaminico B, e o fator intrinseco não pode ser identificado a qualquer dos fermentos ou acidos secretados pela mucosa gastro-duodenal. Da união destes fatores, endogeno e exogeno, resulta o principio anti-pernicioso que absorvido pela mucosa intestinal vai se acumular em grande parte no fígado, e em menor escala no rim, eliminando-se pela urina.

A falta deste principio de Castle, ou por não existir secreção de fator intrinseco, ou por carencia do fator extrinseco, faz com que o hemohistioblasto ao invéz de evoluir para o eritroblasto, forma o megaloblasto (Storti, Introzzi, Ferrata) com retorno á hemopoiese embrionaria pre-hepatica. A condição necessaria para haver hemopoiese normal, eritroblastica, é a existencia de principio antipernicio-



so. Não se trata de um fator estimulante, mas só de um principio manutensor da normal eritropoiese.

No fígado ha uma 2.<sup>a</sup> fração existente no precipitado alcoolico a 70%, ou no extrato aquoso do fígado, que é eficiente na formação e regeneração de hemoglobina, e portanto, eficiente nas anemias hipocromicas. Devido aos elementos ainda não isolados existentes nesta subfração do fígado, este é o elemento dietetico que maior quantidade de hemoglobina forma nas anemias experimentais. Em seguida, vem o rim, o ferro, os ovos. Os vegetais crus tem pouco valor; as frutas são mais importantes porque contem sais minerais, que os vegetais não contem. A carne de peixe tem pouco valor hematogenico, e mesmo o fígado de peixe é desprovido deste poder.

Os alimentos naturalmente exigem, para seu normal desdobramento e absorção, secreção e permeabilidade gastro-intestinal normais. Todos os fatores gastro-intestinais que tornam deficientes estas funções devem ser tidas em conta a anemias humanas.

Nas anemias hipocromicas clinicas, o *ferro* é o elemento cuja carencia maior importancia tem. O ferro é absorvido principalmente ao nivel do intestino delgado, sobretudo duodeno. Não tem importancia que o ferro seja ou não organico. O que interessa é a solubilidade. Assim, o ferro metalico tem a mesma ou maior capacidade para formar hemoglobina que o ferro organico. Ao contrario, os sais ferricos que são insolúveis são menos uteis que os sais ferrosos que são solúveis. O ferro reduzido, que é o mais usado entre nós, reage com o HCl no estomago, resultando o cloreto ferroso, que é absorvido. Quando ha aquilia é necessario acrescentar HCl em doses suficientes, se se utiliza a terapeutica pelo ferro.

O ferro absorvido não vai ser utilizado imediatamente, mas acumula-se em órgãos de reserva (fígado e baço). Schmidt submeteu macacos a dietas pobres em ferro. Após intervalo de tempo suficientemente prolongado, os animais eram sacrificados e verificou-se exgotamento das reservas ferricas no fígado e diminuição pequena no baço. Isto significa que o fígado é o órgão deposito para o ferro que o organismo recebe por via exogena, enquanto o baço acumula o ferro resultante do desdobramento da hemoglobina libertada após destruição dos globulos vermelhos.

O ferro acumulado é fornecido, na medida das necessidades, á medula ossea, aonde age em parte na constituição da molecula de hemoglobina, em parte excitando a proliferação da serie vermelha (Naegeli) e talvez, tambem, por ação catalizadora na complexa formação do pigmento hemoglobinico. Quando falta o ferro, alem de se formar menor quantidade de hemoglobina, ha hipoformação de hemaceas: resulta, pois, anemia hipocromica oligocitemica. Segundo os estudos da escola brasileira, sobretudo W. O. Cruz, o papel do ferro não se limita á formação de globulos, mas a sua carencia acarreta menor estruição de hemaceas, traduzindo-se, a anormal longevi-

dade destas, por hipocromia, microcitose, aniso e poiquilocitose. Da-se, então, uma paralisia da emissão das hemáceas, apesar da hiperplasia eritroblástica medular. Segundo W. O. Cruz, há necessidade de uma previa destruição de hemáceas, para nova formação de sangue.

O *cobre* tem grande importância nas anemias experimentais, mas clinicamente, excluindo alguns raros resultados nas anemias da infância, nunca se verificou valor. Experimentalmente, Hart e Coll. mostraram a ação catalizadora do cobre na formação da molécula hemoglobínica. A alimentação do cobre combinado ao ferro nas anemias experimentais era mais valiosa que a dieta exclusivamente ferrica.

A *vitamina C* é um fator que só recentemente vem sendo colocado em evidência nas anemias não escorbuticas. Sobretudo Faulkner verificou resposta reticulocitária evidente nas anemias hipocromicas, e em algumas anemias hipercromicas da infância, com o suco de laranja. Estes resultados sugerem que a deficiência de vitaminas C acarreta hipo-produção de hemáceas.

O mesmo diga-se para a *ironina*, cuja falta acarreta oligocitemia e hipocromia (mixedema experimental e clínico). Talvez a baixa de todas atividades orgânicas, traduzidas no baixo metabolismo basal, seja a responsável pela deficiência da produção de hemoglobina e de globulos, não se tratando de qualquer ação específica no sistema hemopoietico.

Outros fatores regulam a produção e destruição dos globulos vermelhos, sem que sua deficiência acarrete anemia. Entre estes, destacamos a tensão arterial de oxigênio. Barcroft mostrou que nas altitudes, em que a pressão parcial do oxigênio é menor, entram em jogo os chamados órgãos e territórios depositos de sangue (baço, fígado, rede sub-papilar da pele, pulmão, rede esplancnica) mobilizando maior quantidade de sangue que estava praticamente fora da circulação ativa. Os globulos vermelhos chegam a aumentar na proporção de 5% do total. Este primeiro mecanismo de compensação é completado por uma hiperplasia da série vermelha com transformação da medula amarela em vermelha. É o que se dá nos cardiacos, sobretudo o cardíaco negro em que a anoxia anóxica é mais acentuada.

Veremos, em aula posterior, com mais detalhes, a importância destes órgãos reservatorios de sangue nos processos de compensação das hipovolemias, anemias, etc.