

## PERSPECTIVAS E IMPORTÂNCIA CLÍNICA DA HEMORREOLOGIA — INFLUÊNCIA DA DEFORMABILIDADE ERITROCITÁRIA

J. MARTINS E SILVA

Grupo Português de Trabalho sobre Filtração Eritrocitária. Departamento de Bioquímica. Faculdade de Medicina de Lisboa. Lisboa.

A hemorreologia é, no momento, uma ciência multidisciplinar que congrega os interesses científicos de biofísicos, bioquímicos e clínicos de diversas especialidades.<sup>1-5</sup> As considerações hemorreológicas desenvolvidas começam a influenciar significativamente a prática clínica, com reflexos na procura exaustiva de métodos terapêuticos específicos. Inclusivamente, alguns dos medicamentos utilizados de rotina em determinadas situações patológicas podem revelar-se, à luz dos princípios hemorreológicos, mais prejudiciais que benéficos.<sup>4</sup> É o que poderá suceder, com os diuréticos. No caso da hipertensão arterial (situação comum e potencialmente devastadora quando não tratada), o aumento tensional poderá resultar de uma resposta compensadora do coração ao aumento da viscosidade sanguínea e da resistência periférica; os diuréticos, ao expoliarem os líquidos do organismo, poderão acentuar a viscosidade sanguínea, num círculo vicioso de agravamento progressivo da doença hipertensiva. Nesse ponto, talvez se revele muito vantajosa a introdução de terapêuticas orientadas para a melhoria da deformabilidade eritrocitária ou da viscosidade sanguínea, em geral.<sup>1</sup>

Apesar desta lógica, duas razões principais, justificariam que a hemorreologia — entendida como a ciência das propriedades e deformação do fluxo sanguíneo<sup>1,5</sup> — ainda seja quase ignorada em tratados de medicina; em primeiro lugar, a isquémia ou anomalias do fluxo circulatório continuam a ser interpretadas com base na falência cardíaca ou limitações das paredes vasculares por lesões ateroscleróticas, facilmente identificáveis; em segundo lugar, a metodologia de avaliação da viscosidade sanguínea só recentemente se tornou disponível; até então o sangue vinha sendo estudado em condições estáticas, geralmente por microscopia, que pouco mais representa(va) do que imagens de *cadáveres* corados.

A viscosidade do sangue total foi o primeiro parâmetro hemorreológico a reunir consenso clínico geral: diversas doenças associadas a anomalias hemorreológicas poderiam ser classificadas numa base etiológica,<sup>4</sup> determinada pelo factor que se encontrava alterado: viscosidade plasmática (dependente de variações quantitativas e qualitativas das proteínas), hematócrito, agregação eritrocitária e deformabilidade eritrocitária.

As pesquisas incentivadas na última década, acompanhadas por diversos progressos internacionais recentes (Nancy, 1979; Gotemburg, 1980; Londres, 1981) justificam os ajus-

tamentos verificados nos últimos dois anos quanto ao conceito de hemorreologia;<sup>1,4</sup> actualmente admite-se que os diversos factores hemorreológicos constituem uma amálgama de situações múltiplas e complexas. Assim, a viscosidade sanguínea não dependerá apenas da viscosidade do plasma e da deformabilidade eritrocitária mas também da concentração e intra-agregação dos glóbulos vermelhos; outro exemplo elucidativo diz respeito às proteínas plasmáticas, sobretudo o fibrinogénio, que além de influenciar a viscosidade plasmática afectaria igualmente a agregação e, talvez também, a deformabilidade eritrocitária. A adsorção das proteínas plasmáticas à superfície exterior dos eritrocitos e revestimento interno das paredes vasculares, ao condicionar as propriedades reológicas daqueles componentes, poderá mediar interacções célula-célula e célula-parede vascular, com influência fulcral em hemorreologia.

Os eritrocitos, que podemos definir sumariamente como um líquido rico em hemoglobina envolvido por uma membrana flexível, são, em condições normais, deformáveis.<sup>1,5,7-10</sup> A deformabilidade eritrocitária representa a capacidade do eritrocito poder variar de forma em resposta a forças que nele incidem.<sup>1,5,8,9</sup> Por conseguinte, sendo os eritrocitos os principais constituintes celulares do sangue, exercem extrema influência no fluxo sanguíneo, particularmente ao nível da microcirculação.<sup>5,11</sup> Este sector, que engloba cerca de 50 % da volémia corporal, inclui numerosos microvasos cujo calibre atinge valores cerca de duas vezes inferiores ao diâmetro eritrocitário.<sup>3</sup> A menos que as hemácias conservem a deformabilidade intacta não atravessam aqueles microvasos mais estreitos e, conseqüentemente, bloqueiam o fluxo circulatório local.<sup>1,5,11</sup> Também ao nível da macrocirculação, a deformabilidade eritrocitária contribui para a redução da viscosidade sanguínea total; glóbulos pouco deformáveis elevam a viscosidade sanguínea.<sup>1,5</sup>

A deformabilidade intrínseca dos eritrocitos é função de 3 variáveis: (a) viscosidade do conteúdo globular; (b) geometria eritrocitária; (c) propriedades reológicas da membrana eritrocitária. A viscosidade interna depende da concentração da hemoglobina (Hb) e propriedades físico-químicas inerentes.<sup>1,2</sup> Assim, a viscosidade intraglobular regista um aumento não-linear com a concentração de hemoglobina, acentuando-se particularmente a níveis superiores ao normal. Na presença de hemoglobinas anormais, p. ex., a HbS desoxigenada,<sup>12</sup> a viscosidade interna é sempre superior ao

normal para dada concentração de Hb, o que reduz sensivelmente a deformabilidade eritrocitária. Pelo contrário, a coexistência da hemoglobina glicosilada em excesso, própria de diabéticos descompensados, não parece ser a causa da rigidez globular observada.<sup>13</sup>

Os factores geométricos (forma geral globular e relação área/volume) exercem também profunda influência na deformabilidade. O eritrocito normal caracteriza-se por um excesso de área superficial (cerca de  $140 \mu^2$ ), relativamente ao volume (aproximadamente  $90 \mu^3$ ).<sup>8</sup> Esta diferença justifica a capacidade dos eritrocitos assumirem formas diversas sem necessidade de expandirem a respectiva área.<sup>3, 9, 11</sup> A redução da deformabilidade eritrocitária observada, p. ex., na esferocitose hereditária pode ser atribuída à redução da área superficial, em relação ao volume globular coexistente.<sup>14</sup>

Finalmente, a composição estrutural e comportamento funcional da membrana eritrocitária influencia marcadamente a forma globular.<sup>9, 10, 12, 15</sup> A membrana eritrocitária é uma estrutura dinâmica composta por uma dupla camada lipídica e proteínas extrínsecas e intrínsecas.<sup>14</sup> A fracção lipídica, com assimetria considerável relativamente à composição dos fosfolípidos em cada folheto, confere a fluidez à membrana.<sup>10, 16, 17</sup> Na sua face interna, a membrana eritrocitária é revestida como que por um retículo constituído por algumas proteínas extrínsecas, designadamente a espectrina e actina.<sup>14, 18-22</sup> Estas proteínas parecem ligar-se a outras proteínas intrínsecas que atravessam a membrana em toda a sua espessura.<sup>23-25</sup> A resistência mecânica da membrana eritrocitária tem sido atribuída, em parte, à rede da espectrina-actina.<sup>9, 10, 14, 22, 26</sup> A perda quantitativa destas proteínas ou alterações qualitativas nas suas interligações (que começam a ser agora observadas em diversas anomalias hematológicas)<sup>27-31</sup> poderão explicar as anomalias morfológicas incidentes e, conseqüentemente, a redução da deformabilidade eritrocitária.

Do mesmo modo, as interações entre as proteínas de revestimento interno e as proteínas intrínsecas ou constituintes lipídicos da membrana poderão ter uma acção significativa na manutenção da forma normal eritrocitária e respectiva flexibilidade intravascular.<sup>9, 10, 17, 32</sup> No momento, são já conhecidas observações que relacionam as variações localizadas na estrutura eritrocitária (p. ex., formação de esferocitos por depleção do ATP) com alterações da fosforilação lipídica.<sup>28, 33</sup>

A membrana do discócito exibe baixa resistência à deformação desde que a sua área permaneça constante (como sucede na circulação em condições fisiológicas).<sup>2, 7-10</sup> Em contraste, a membrana resiste ao estiramento; quando a força de cisalhamento que actua no plano da membrana ultrapassa determinado nível crítico, tende a originar uma deformação plástica e irreversível da membrana.<sup>1</sup> O comportamento visco-elástico da membrana eritrocitária reflecte a sua organização e interações, dependentes da viscosidade e elasticidade mecânica. Todavia, estão ainda por esclarecer as relações exactas entre a estrutura e funções. É admissível que alterações na organização molecular da membrana eritrocitária possam justificar anomalias no comportamento reológico. Embora algumas dessas situações tenham já sido recentemente evidenciadas em determinadas doenças hematológicas, falta concretizar a sua interdependência global.

Até à data, a generalidade dos estudos sobre a deformabilidade eritrocitária tem sido baseada em testes de filtrabilidade que, de certo modo, constituem uma fase de rastreio.<sup>1, 34</sup> Nesses testes é avaliado o tempo necessário para que determinado volume de sangue total ou de suspensões eritrocitárias passe através de uma membrana com

poros de diâmetro comparável ao dos microvasos mais estreitos de circulação humana. Na filtração, a geometria globular será o factor eventualmente mais influente, mas as características viscosas do eritrocito (membrana e conteúdo) têm de ser também consideradas. Estudos adicionais são requeridos para elucidação da importância relativa dos factores determinantes da deformabilidade eritrocitária, quando avaliada pelo teste de filtração. Os resultados obtidos nas mais diversas condições patológicas (incluindo diabetes, hipertensão, enfarte de miocárdio, doença vascular cerebral, vasculopatia periférica e hemoglobinopatias, entre outras),<sup>35-45</sup> embora limitados pela disponibilidade tecnológica referida, não deixam de ser promissores. Quer em suspensões eritrocitárias ou de sangue total, verificam-se alterações significativas, atribuíveis a anomalias da deformabilidade eritrocitária.

Embora muito escassos, são de referir os estudos que tentam relacionar a deformabilidade eritrocitária com determinadas variações do metabolismo globular, designadamente os níveis de 2,3-DPG e ATP.<sup>46-50</sup>

Num futuro próximo, que já se desenha, prevê-se a inclusão de equipamento mais sofisticado que possibilite uma interpretação mais correcta dos resultados, em bases bioquímicas e biofísicas.

## BIBLIOGRAFIA

1. CHIEN, S.: Determinants of blood viscosity and red cell deformability. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1981; 41 (suppl. 156): 7-12.
2. SCHMID-SCHONBEIN, H., GAETHGENS, P.: What is red cell deformability? *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1981; 41 (suppl. 156): 13-26.
3. BRANEMARK, P. I.; BAGGE, U.: Intravascular rheology of erythrocytes in man. *Blood. Cells.* 1977; 3: 11-24.
4. DORMANDY, J. A.: Clinical significance of haemorheology. *Acta Méd. Port.* 1983; 4: 47-53.
5. LEBLOND, F.: L'importance rhéologique de la déformabilité érythrocytaire. *L'Union Méd. Canada.* 1976; 105: 117-185.
6. MARCEL, G. A.: Pharmacologie de la déformabilité érythrocytaire. *Acta Méd. port.* 1983; suppl. 4: 55-60.
7. CHIEN, S.; SUNG, K. L. P.; SKALAK, R.; USAMI, S.; TORENSSEN, A.: Theoretical and experimental studies on viscosity properties of red cell membrane. *Biophys. J.* 1978; 24: 463-487.
8. SKALAK, R.: Theoretical models of deformability in blood flow. *Scand. J. Clin. Invest.* 1981; 41 (suppl. 156): 55-81.
9. HOCHMATH, R. M.: Deformability and viscoelasticity of human erythrocyte membrane. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1981; 41 (suppl. 156): 63-66.
10. RICE-EVANS, C.; CHAPMAN, D.: Red blood cell biomembrane structure and deformability. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1981; 41 (suppl. 156): 99-110.
11. GAETHGENS, P.: Distribution of flow and red cell flux in the microcirculation. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1981; 41 (suppl. 156): 83-88.
12. WALLACH, D. F. A.: Membrane and endoskeletal defects in HbSS erythrocytes. In *The Function of Red Blood Cells*, D. H. F. Wallach (ed.), Allan R. Liss Inc., New York, 1980; pp. 333-353.
13. MCMILLAN, D. E.; GION, K. M.: Glucosylated hemoglobin and reduced erythrocyte deformability in diabetes. In *Pathogenic Concepts of Diabetic Microangiopathy*, E. Standl, H. Mehner (eds.), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1981, pp. 108-112.

14. BOIVIN, P.: Interactions moléculaires des protéines de la membrane et déformabilité érythrocytaire. *Acta Méd. Port.* 1983; suppl. 4: 13-36.
15. SHOHET, S. B.: Possible roles of the membrane cytoskeleton in regulation of red cell stability and deformability. *Scand. J. Clin. Invest.* 1981; 41 (suppl. 156): 123-130.
16. REOLOFSEN, B.; VAN MEER, G.; OP. DER KAMP, J. A. F.: The lipids of red cell membranes: compositional, structural and functional aspects. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1981; 41 (suppl. 156): 111-116.
17. COOPER, R. A.: Abnormalities of cell membrane fluidity in the pathogenesis of disease. *N. Engl. J. Med.* 1977; 297: 371-377.
18. PALEK, J.; LUI, S. C.: Alterations of spectrin assembly in the red cell membrane: functional consequences. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1981; 41 (suppl. 156): 131-138.
19. FAIRBANKS, E.; STECK, T. C.; WALLACH, D. F. H.: Electrophoretic analysis of the major polypeptides of the human erythrocyte membrane. *Biochemistry.* 1971; 6: 2606-2617.
20. LUX, S. E.: Spectrin-actin membrane skeleton of normal and abnormal red blood cells. *Semin. Hematol.* 1974; 16: 21-51.
21. ATKINSON, M. A. L.; MORROWS, J. S.; MARCHESI, V. T.: The polymeric state of actin in the human erythrocyte cytoskeleton. *J. Cell. Biochem.* 1982; 18: 493-505.
22. BENNETT, V.: The molecular basis for membrane-cytoskeleton association in human erythrocyte. *J. Cell. Biochem.* 1982; 118: 49-65.
23. BENNETT, V.; STERBUCK, P. J.: The membrane attachment proteins for spectrin is associated with band 3 in human erythrocyte membrane. *Nature.* 1979; 280: 468-473.
24. CABAUTCHIK, Z. I.; ROTHSTEIN, A.: Membrane proteins related to anion permeability of human red blood cells. *J. Memb. Biol.* 1974; 15: 207-226.
25. COHEN, C.M.; FOLEY, S. F.: The role of band 4.1. in the association of actin with erythrocyte membrane. *Biochem. Biophys. Acta.* 1982; 688: 691-701.
26. MAISELMAN, H. J.: Morphological determinants of red cell deformability. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1981; 41 (suppl. 156): 27-34.
27. FEO, C. S.; FISCHER, S.; PIAU, J. P.; GRANGE, M. J.; TCHERMIA, G.: Première observation de l'absence d'une protéine de la membrane érythrocytaire (bande 4.1.) dans un cas d'anémie elliptocytaire familiale. *Nouv. Rev. Fr. Hématol.* 1980; 22: 315-325.
28. GOODMAN, S.R.; KESSELRINGS, J. J.; WEIDNER, S. A.; EYSTER, E. M.: The molecular alterations in the cytoskeleton of hereditary spherocyte. *J. Supramol. Struct.* 1981; 5: 131.
29. MULLER, T. J.; MORRISON, M.: Cytoskeletal alterations in hereditary elliptocytosis. *J. Supramol. Struct.* 1981; suppl. 5: 131.
30. PALEK, J.; LIU, S. C.; LIU, P. A.: Polymerisation of red cell membrane proteins contributing to spherocytocytic shape irreversibility. *Nature.* 1978; 274: 205-207.
31. RAVINDRANATH, Y.; JOHNSON, R.: A case of hemolytic anemia associated with severe microcytosis, elevated intracellular calcium (Ca) and loss of spectrin. *Blood.* 1981; 58 (suppl. 1): 489.
32. HAEST, S. W. M.; PLASE, G.; KAMP, O.; DEUTICKE, B.: Spectrin as a stabilizer of phospholipid asymmetry in the human erythrocyte membranes. *Biochem. Biophys. Acta.* 1979; 509: 21-32.
33. SCHUBERT, D.; KLAPPAUF, E.: Interactions of band 3-protein from human erythrocyte membranes with phospholipid monolayer at air-water surface. *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.* 1980; 361: 1171-1179.
34. GREGERSEN, M. I.; BRYANT, C. A.; HAMMERLE, W.; USAMI, S.; CHIEN, S.: Flow characteristics of human erythrocyte through polycarbonate sieves. *Science.* 1967; 157: 825-827.
35. BOISSEAU, M. R.; LORIENT-ROUDAUT, M. F.; DE CONNINK, L.; DOUTREMEPUICH, C.; LE REBELLER, M. J.; BRICAUD, A.: Troubles hémo-rhéologiques et alterations de la filtrabilité érythrocytaire au cours des maladies vasculaires. *Acta Méd. Port.* 1983; suppl. 4: 37-45.
36. HERMANN, T.; VASELON, C.; GEYSSANT, A.; HEALY, J. C.: Red blood cell filterability, oxygen saturation, ATP intracellular stock and cerebral microcirculation. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1981; 41 (suppl. 156): 213-216.
37. SIRS, J. A.: Effects of storage on the respiratory function and flexibility of red blood cells. *Blood Cells.* 1977; 3: 409-423.
38. JUHAN, I.; BUONOCORE, M.; JOUVE, R.; VAGUE, P.; MOULIN, J.; VIALETES, B.: Abnormalities of erythrocyte deformability and platelet aggregation in insulin-dependent diabetics corrected by insulin in vivo and in vitro. *Lancet.* 1982; i: 535-537.
39. BARNES, A. J.; LOCKE, P.; SCUDDER, P. R.; DORMANDY, T. L.; DORMANDY, J. A.; SLACK, J.: Is hyperviscosity a treatable component of diabetic microcirculatory disease? *Lancet.* 1977; ii: 789-791.
40. DORMANDY, J. A.: Haemorheological aspects of thrombosis. *Brit. J. Haematol.* 1980; 45: 519-522.
41. BOISSEAU, M. R.; LORIENT, M. F.; BRICAUD, H.: Red cell deformability and risk factors in one hundred patients with cerebro-vascular thrombosis. *Thromb. Haemost.* 1979; 42: 107-114.
42. DORMANDY, J. A.; BOYD, M.; ERNST, E.: Red cell filterability after myocardial infarction. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1981; 41 (suppl. 156): 195-197.
43. CATALIOTTI-R.: Spectroscopic evidence of structural modification in erythrocyte membrane of diabetic patients. *Studia Biophysica.* 1980; 73: 199-206.
44. REID, H. L.; DORMANDY, J. A.; BARNES, A. J.; LOCKE, P. J.; DORMANDY, T. L.: Impaired red cell deformability in peripheral vascular disease. *Lancet.* 1978; i: 666-668.
45. SCHMID-SCHONBEIN, H.; VOLGER, E.: Red cell aggregation and red cell deformability in diabetes. *Diabetes.* 1976; 25: 897-902.
46. SCHEETZ, M. P.; CASALY, J.: Phosphate metabolite regulation of spectrin interactions. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1981; 41 (suppl. 156): 117-122.
47. FAIRBANKS, G.; PATEL, V.; DINO, E.: Biochemistry of ATP-dependent red cell membrane shape change. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1981; 41 (suppl. 156): 139-144.
48. LaCELLE, P. J.; SMITH, B. D.: Biochemical factors in influencing erythrocyte deformability and capillary entrance phenomena. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1981; 41 (suppl. 156): 145-149.
49. WEED, R.; LACELLE, P. L.; MERRILL, E. W.: Metabolic dependence of red cell deformability. *J. Clin. Invest.* 1969; 48: 795-809.
50. SKAKLAI, N.; BENITEZ, L.; RANNEY, H. M.: Binding of 2,3-diphosphoglycerate by spectrin and its effects on oxygen affinity of hemoglobin. *Amer. J. Physiol.* 1978; 234 (1): C36-C40.

Pedido de separatas: J. Martins e Silva  
 Departamento de Bioquímica  
 Faculdade de Medicina de Lisboa  
 1600 Lisboa, Portugal