

Introdução

Hematologia é o ramo da biologia que estuda o sangue. A palavra é composta pelos radicais gregos: Haima (de haimatos), "sangue" e lógos, "estudo, tratado, discurso".

A Hematologia estuda, particularmente, os elementos figurados do sangue: hemácias (glóbulos vermelhos), leucócitos (glóbulos brancos) e plaquetas. Estuda, também, a produção desses elementos e os órgãos onde eles são produzidos (órgãos hematopoiéticos): medula óssea, baço e linfonodos.

Por outro lado, além de estudar o estado de normalidade dos elementos sangüíneos e dos órgãos hematopoiéticos, estuda também as doenças a eles relacionadas.

HEMATOPOIESE é o processo de substituição das células sanguíneas, que ocorrem nos chamados órgão hematopoiéticos, que compreendem a medula óssea e o sistema linfóide.

MEDULA ÓSSEA é o mais importante órgão da gênese das mais diversas células sanguíneas pois lá estão as células tronco que dão origem a células progenitoras de linhagens mielocíticas, linfocítica, megacariócitos e eritroblastos.

LINHAGEM MIELÓIDE compreende os granulócitos polimorfonucleados (neutrófilo, eosinófilo e basófilo) e monócitos. Quando os monócitos migram para os tecidos se transformam em macrófagos, que são células com alto poder de fagocitose.

LINHAGEM LINFÓIDE engloba os linfócitos T e B. Os linfócitos B saem maduros da medula óssea enquanto os linfócitos T precisam migrar para o Timo onde irão sofrer o processo de maturação. Os linfócitos B ainda se diferenciam em plasmócitos quando encontram um antígeno num órgão linfóide secundário e secretam anticorpos nos tecidos.

MEGACARIÓCITO partes de seu citoplasma dão origem às plaquetas, responsáveis pela coagulação sanguínea.

ERITROPOIESE é o processo de produção de eritrócitos. Em humanos adultos, a eritropoiese ocorre na medula óssea, mas fetos e em situações especiais como anemias severas pode ocorrer em outros órgãos, principalmente no fígado e no baço.

ERITROBLASTO origina as hemácias do sangue, que atuam nas trocas gasosas.

HEMOGLOBINA

Estrutura

A hemoglobina é um tetrâmero composto de duas de cada dois tipos de cadeias de globina, a alfa e a beta. Cada uma dessas cadeias contém cerca de 141 aminoácidos. Existem quatro grupos heme por proteína; estes possuem um íon de ferro no seu centro, que liga a molécula de O₂. É uma proteína alostérica, pois a ligação e a liberação do oxigênio é regulada por mudanças na estrutura provocadas pela própria ligação do oxigênio ao grupo heme.

Existe três tipos de hemoglobina, devido a variação na cadeia polipeptídica: Hemoglobina A1, Hemoglobina A2 e Hemoglobina F.

A hemoglobina (Hb) é uma proteína composta de grupamentos heme que compõe 95% da proteína total desta célula. Os benefícios de conter hemoglobina dentro das células, ao contrário de livre no plasma, incluem: uma meia-vida maior (a Hb livre no plasma possui uma meia-vida de apenas algumas horas), a capacidade metabólica dos eritrócitos de manter o ferro ligado à Hb em seu estado funcional e a habilidade de controlar a afinidade do oxigênio pela Hb, alterando as concentrações de fosfatos orgânicos (especialmente o 2,3-DPG).

Distribuição do Oxigênio

A distribuição é feita através da interação da hemoglobina com o oxigênio do ar (que pode ser inspirado ou absorvido, como na respiração cutânea). Devido a isto, forma-se o complexo oxi-hemoglobina, representado pela notação HbO₂. Chegando às células do organismo, o oxigênio é liberado e o sangue arterial (vermelho) transforma-se em venoso (vermelho arroxeado). A hemoglobina livre pode ser reutilizada no transporte do oxigênio. A hemoglobina distribui o oxigênio para as todas as partes do corpo irrigadas por vasos sanguíneos.

Localização

A hemoglobina pode ser encontrada dispersa no sangue (em grupos animais simples) ou em várias células especializadas (as hemácias de animais mais complexos).

O aumento de glóbulos vermelhos no sangue (eritrocitose) geralmente se dá por uma adaptação fisiológica do organismo em locais de altitude elevada. Uma vez que o aumento de glóbulos vermelhos favorece o transporte de oxigênio pelo sangue, seu uso melhora a performance de atletas, principalmente em esportes que necessitem muita resistência. Quando os atletas realizam treino em locais de alta altitude, a pequena concentração de oxigênio estimula a produção natural de EPO (Eritropoietina, hormônio que aumenta o número de GV e da capacidade muscular) e ao retornar às baixas altitudes, seu corpo está mais preparado e sua resistência está maior.

HEMOGRAMA

HEMOGRAMA é um exame realizado que avalia as células sanguíneas de um paciente. O exame é requerido pelo médico para diagnosticar ou controlar a evolução de uma doença. Que compreende o eritrograma, leucograma e plaquetograma.

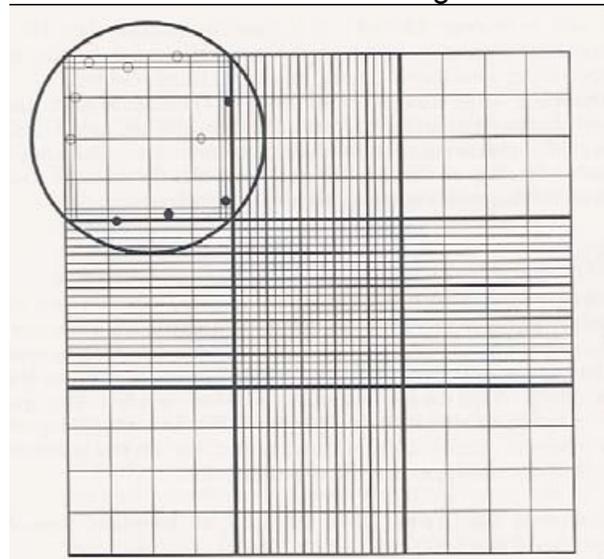
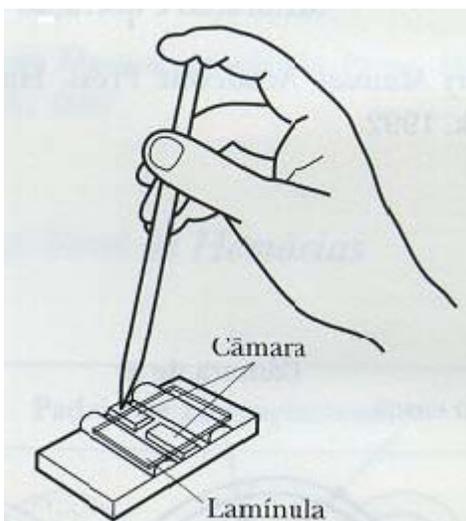
Coleta de sangue

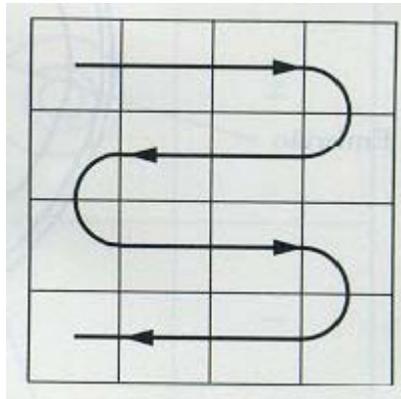
O sangue do indivíduo é colhido com anticoagulante (EDTA), para se evitar a coagulação do mesmo. Não há necessidade de colher o sangue com o indivíduo em jejum.



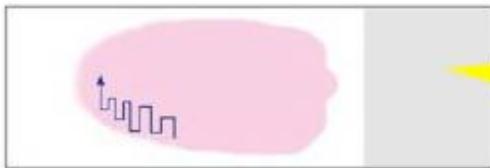
Processo Manual

Contagens manuais do número de hemácias e leucócitos podem ser feitos em câmara de Neubauer, após uma diluição prévia do sangue. O método dificilmente é usado, sendo usado em poucos casos de dúvidas da metodologia automática .

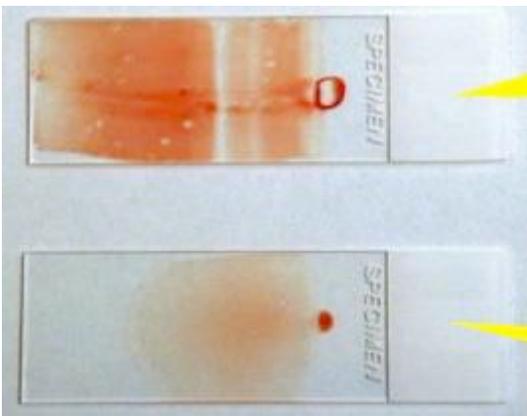




O esfregaço de sangue é usado para fazer uma diferenciação entre os leucócitos, isto é, fazer uma contagem do número de neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos. Chegando-se a uma porcentagem de cada célula encontrada. Usado também para avaliar a série vermelha e as plaquetas. É feito com uma pequena gota de sangue sendo colocada sobre uma lâmina de vidro, onde o técnico fará um esfregaço, arrastando a gota de sangue com uma outra lâmina de vidro, com isso forma-se uma película. O sangue tem que ser homogenizado antes de se fazer o esfregaço para que as células estejam bem distribuídas. O esfregaço é corado com Leishman ou Giemsa. E observado em microscópio com objetiva de aumento de 100X.

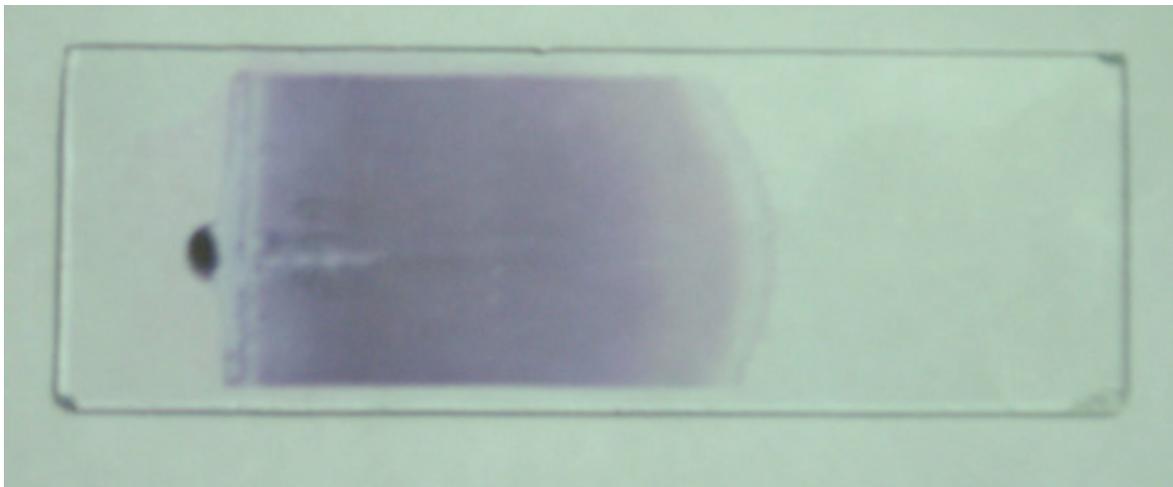
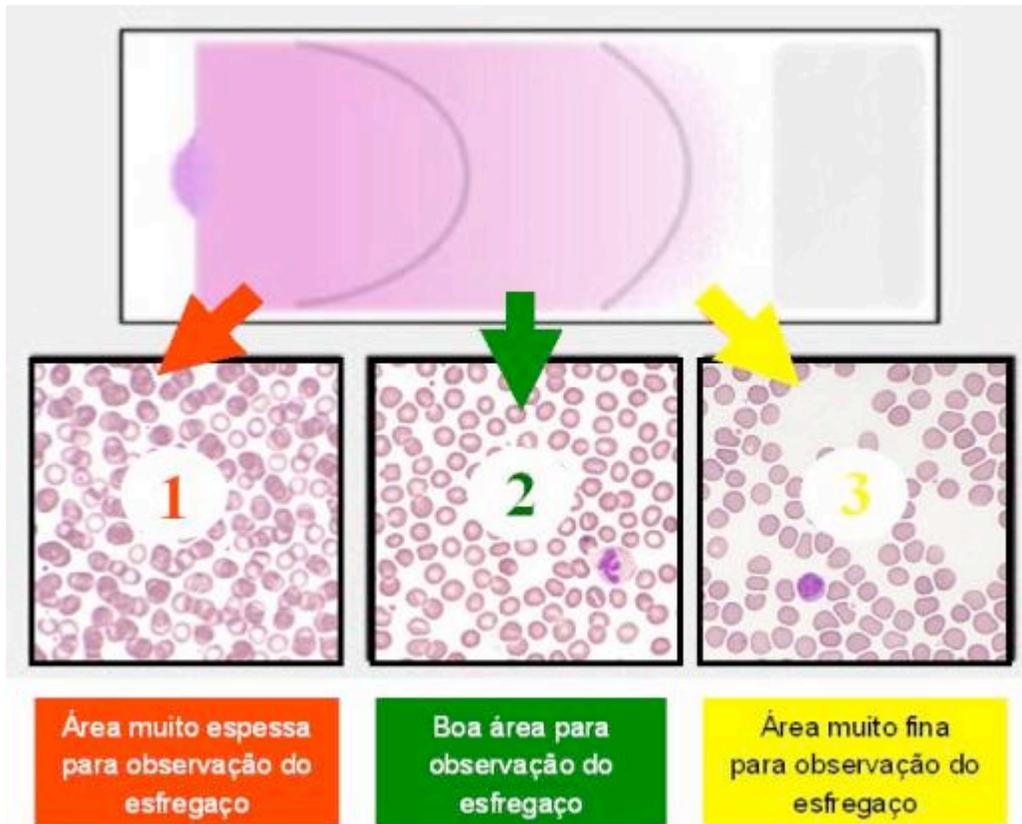


Nº do registro hospitalar do paciente
Data
Espécie animal



ESFREGAÇO DE
PÉSSIMA
QUALIDADE

ESFREGAÇO
IDEAL



A vantagem de se fazer um hemograma é que algumas células podem ser contadas erradamente pelos processos automáticos. Alguns aparelhos não contam células imaturas e podem levar a um erro quanto a um diagnóstico de leucemia. O esfregaço, porém, deve ser avaliado por pessoal experiente. ff

Processo automático

Hoje em dia o hemograma é feito em aparelhos. Os aparelhos usam uma pequena quantidade de sangue. Há dois sensores principais: um detector de luz e um de impedância elétrica.

As células brancas, ou leucócitos, podem ser contadas baseando-se em seu tamanho ou através de suas características. Quando a contagem é baseada no tamanho das células, o aparelho as diferencia por 3 tipos: células pequenas (linfócitos), células médias (neutrófilos, eosinófilos e basófilos) e células grandes (monócitos). Esse primeiro tipo de aparelho requer uma contagem manual de células pois não diferencia as células de tamanho médio, podendo omitir uma eosinofilia por exemplo. Os que utilizam o método de características da células são mais precisos.

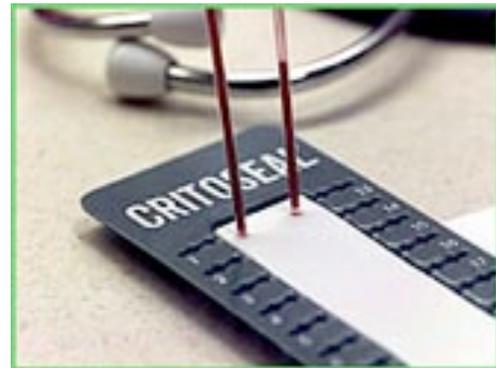
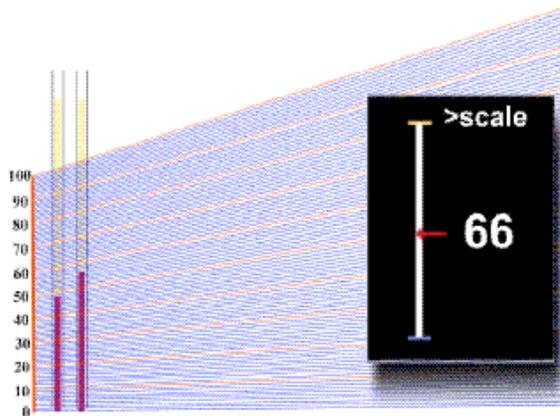
Em relação a série vermelha, o aparelho mede a quantidade de hemoglobina, o número de hemácias e o tamanho das hemácias. Realizando cálculos para chegar ao valor do hematócrito, e os outros índices hematimétricos. As plaquetas também são contadas por aparelhos.



The LH 1500 Series offers labor saving technology in a small footprint.
Standard configuration shown: LH 755 workcell, LH 750 analyzer, 200 tube inlet and 200 tube outlet.

HEMATÓCRITO é a percentagem do volume total de sangue correspondente aos glóbulos vermelhos.

É uma medição calculada a partir do tamanho médio e do número de glóbulos vermelhos e quase sempre é parte também da contagem sanguínea completa, como a (quantidade de) hemoglobina. Os valores médios são diferentes segundo o sexo e variam entre 0,42-0,52 (42%-52%) nos homens e 0,36-0,48 (36%-48%) nas mulheres. Caso o valor seja inferior à média significa que existe pouca quantidade de glóbulos vermelhos e se for superior existe uma maior quantidade de glóbulos vermelhos para o volume de sangue. Esta é uma medida cada vez mais importante para efeitos clínicos.



HEMOGLOBINA é a proteína que dá a cor aos glóbulos vermelhos (eritrócitos) e tem a função vital de distribuir o oxigênio pelo organismo.

ERITROGRAMA é o estudo da série vermelha (eritócitos ou hemácias). Ao microscópio, as hemácias tem coloração acidófila (afinidade pelos corantes ácidos que dão coloração rósea) e são desprovidos de núcleo. As hemácias apresentam coloração central mais pálida e coloração um pouco mais escura na periferia. Elas são bicôncavas e têm aparência de bala soft. Em indivíduos normais, possui tamanho mais ou menos uniforme. Quando uma hemácia tem tamanho normal ela é chamada de normocítica. Quando ela apresenta coloração normal é chamada de normocrômica.

O estudo da série vermelha revela algumas alterações relacionadas como por exemplo anemia, eritrocitose (aumento do número de hemácias).

Os resultados a serem avaliados são:

Número de glóbulos vermelhos: Os valores normais variam de acordo com o sexo e com a idade. Valores normais: Homem de 5.000.000 - 5.500.000, Mulher de 4.500.000 - 5.000.000. Seu resultado é dado em número por litro.

Hematócrito: Representa a quantidade de hemácias existentes em 100ml de sangue total. Os valores variam com o sexo e com a idade. Valores: Homem de 40

- 50% e Mulher de 36 - 45%. Recém nascidos tem valores altos que vão abaixando com a idade até o valor normal de um adulto.

Hemoglobina: segundo a Organização Mundial de Saúde é considerado anemia quando um adulto apresentar Hb < 12,5g/dl, uma criança de 6 meses a 6 anos Hb < 11g/dl e crianças de 6 anos a 14 anos, uma Hb < 12g/dl.

VCM (Volume Corpuscular Médio): é o índice mais importante pois ajuda na observação do tamanho das hemácias e no diagnóstico da anemia: se pequenas são consideradas microcíticas (< 80fl, para adultos), se grandes consideradas macrocíticas(> 96fl, para adultos) e se são normais, normocíticas (80 - 96fl). Anisocitose: é denominação que se dá quando há alteração no tamanho das hemácias. As anemias microcíticas mais comuns são a ferropriva e as síndromes talassêmicas. As anemias macrocíticas mais comuns são a anemia megaloblástica e perniciosa. O resultado do VCM é dado em femtolitro.

HCM (Hemoglobina Corpuscular Média): é o peso da hemoglobina na hemácia. Seu resultado é dado em picogramas.

CHCM (Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média): é a concentração da hemoglobina dentro de uma hemácia. O intervalo normal é de 32 - 36g/dl. Como a coloração da hemácia depende da quantidade de hemoglobina elas são chamadas de hipocrômicas (< 32), hiperocrômicas (> 36) e hemácias normocrômicas (no intervalo de normalidade). É importante observar que na esferocitose o CHCM geralmente é elevado.

RDW (Red Cell Distribution Width): é um índice que indica a anisocitose (variação de tamanho), sendo o normal de 11 a 14%, representando a percentagem de variação dos volumes obtidos. Nem todos os laboratórios fornecem o seu resultado no hemograma.

Normalmente realiza-se uma análise estatística em testes realizados em um grande grupo de indivíduos normais para se chegar aos limites estabelecidos para hemoglobina, hematócrito e número de hemácias, isto quer dizer que cada região possui um limite de normalidade.

A Morfologia das hemácias (ou estudo da forma das hemácias) é feita em microscópio, analisando o esfregaço de sangue, as formas encontradas são:

Drepanócitos (forma de foice): aparece somente nas síndromes falciformes (não aparecendo no traço falciforme).

Esferócitos (forma esférica, pequena e hiperocrômica): em grande quantidade é comum na anemia esferocítica (esferocitose), em menores quantidades podem estar presentes em outros tipos de anemias hemolíticas.

Eliptócitos (forma de charuto): em grandes quantidades comum na eliptocitose. Em menores quantidades podem aparecer em qualquer tipo de anemia.

Hemácias em alvo em grandes quantidades (células cujas membranas são grandes havendo uma palidez e um alvo central mais corado) aparece em hemoglobinopatias C, E ou S, nas síndromes talassêmicas e em pacientes com doença hepática.

Dacriócitos (forma de lágrima): em grande quantidade na mielofibrose. Em pequena quantidade podem aparecer em qualquer tipo de anemia.

Hemácias policromáticas (forma normal mas com coloração azul devido a presença de RNA residual): aparece quando grandes quantidades de hemácias novas estão sendo produzidas. Comuns em anemias hemolíticas.

Esquisócitos (são hemácias fragmentadas): aparecem quando nas hemácias há uma lesão mecânica, em casos de hemólise, ou em casos de pacientes que sofreram queimaduras.

Acantócitos (hemácias com pontas de diversos tamanhos): nas hepatopatias, hipofunção esplênica, esplenectomizados.

Crenadas (hemácias com várias pontas pequenas): na uremia, quando o paciente faz tratamento com heparina, deficiência de piruvatoquinase.

Outros achados não relacionados a forma:

Hemácias aglutinadas (agrupamentos de hemácias): quando a hemólise é causada por um anticorpo contra hemácias, elas acabam se agrupando (crioaglutininas).

Hemácias em Roleux (hemácias em rolos, formam pilhas de rolos de hemácias): aparece em alta concentração de globulinas anormais, mieloma múltiplo e macroglobulinemia.

Inclusões nas hemácias:

Corpuscúlos de Howell-Jolly (aparecem como se fossem um botão azul escuro junto à membrana da hemácia, por fragmento nuclear ou DNA condensado): após esplenectomia, anemias hemolíticas severas.

Hemácias com pontilhados basófilos: (vários pontos roxos dentro da hemácia, pela precipitação dos ribossomos ricos em RNA): aparecem na talassemia beta, intoxicação por chumbo, anemia hemolítica por deficiência de pirimidina-5-nucleotidase.

Anel de Cabot (forma de uma anel ou em oito dentro da hemácia, por restos nucleares): em anemias hemolíticas severas.

Leucograma é o estudo da série branca (ou leucócitos), faz-se uma contagem total dos leucócitos e uma contagem diferencial contando-se 100 células. O adulto normalmente apresenta de 5.000-10.000 leucócitos por 100ml de sangue.

Contagem diferencial de Leucócitos: Em um paciente normal as células encontradas são:

Monócitos: uma das maiores células da série branca, têm citoplasma azulado, núcleo irregular (indentado, lobulado, em C ou oval) podem ter vacúolos (pela recente fagocitose). Quando estão aumentados usa-se o termo monocitose e

ocorre em infecções virais, leucemia mielomonocítica crônica e após quimioterapia.

Linfócitos: se pequenos têm citoplasma escasso, núcleo redondo; se grandes têm citoplasma um pouco mais abundante. Podem ter grânulos. É a célula predominante nas crianças. Seu aumento é chamado de linfocitose. Em adultos, seu aumento pode ser indício de infecção viral ou leucemia linfocítica crônica.

Eosinófilos: citoplasma basofílico que não é visualizado por causa da presença de grânulos específicos (de coloração laranja-avermelhada), com núcleo com 2-3 lóbulos. Quando seu número aumenta é chamado de eosinofilia, e ocorre em casos de processos alérgicos ou parasitoses.

Basófilos: citoplasma cheio de grânulos preto-purpúreos que cobrem o citoplasma. Em um indivíduo normal, só é encontrado até uma célula (em termos percentuais).

Neutrófilos Segmentados: citoplasma acidófilo (róseo), núcleo com vários lóbulos (2-5 lóbulos) conectados com filamento estreito. É a célula mais encontrada em adultos. Seu aumento pode indicar infecção bacteriana, mas pode estar aumentada em infecção viral.

Outras Células que podem ser encontradas:

Blasto:

Linfoblasto:

L1: célula pequena, citoplasma basofílico e escasso. Encontrada nas leucemia linfóide aguda tipo L1.

L2: célula de tamanho médio, citoplasma de tamanho e basofilia variada. Encontrada na leucemia linfóide aguda tipo L2.

L3: célula grande ou média, citoplasma com intensa basofilia, com vacúolos. Aparece no linfoma de Burkitt.

Mieloblasto: possui citoplasma escasso, azulado (basofílico), núcleo redondo ou oval, com um ou mais nucléolos evidentes. Pode apresentar grânulos no seu citoplasma e bastão de Auer (forma de agulha). Os mieloblastos aparecem em casos de leucemia mielóide, síndrome mielodisplásica ou na reação leucemóide (infecção grave).

Monoblasto: similar a outros blastos mas com núcleo mais contorcido ou irregular que o mieloblasto. Aparece na leucemia mielomonocítica aguda ou na leucemia monocítica aguda.

Promielócitos Neutrofílico: O mieloblasto evolui para promielócito, célula maior que o mieloblasto, citoplasma basófilo, grânulos de coloração vermelho-púrpura (grânulos primários), núcleo oval com uma pequena indentação.

Mielócitos Neutrofílico: O promielócito evolui para mielócito, célula com citoplasma acidófilo (rosa), mais abundante que o promielócito e com poucos grânulos e já não são mais visualizados os nucléolos.

Metamielócitos Neutrofílico: citoplasma acidófilo, núcleo indentado com forma de feijão, poucos grânulos.

Bastonetes Neutrofílico: citoplasma acidófilo, núcleo em forma de S ou C. Não é comum seu achado em sangue de pacientes normais, mas aparecem em número aumentado em casos de infecção.

Linfócitos Atípicos: citoplasma mais basofílico que o linfócito normal, núcleo irregular. Aparece em infecções virais. Em grande número na mononucleose infecciosa, na infecção por citomegalovírus, na toxoplasmose.

Células Plasmáticas: citoplasma basofílico, tamanho moderado e núcleo excêntrico. Pode aparecer no mieloma múltiplo.

Células Linfomatosas: citoplasma em quantidade variada, núcleo dobrado, convoluto, clivado ou dobrado. Com um ou mais nucleólos. Aparece em linfomas.

Hairy Cells: citoplasma azul pálido, com projeções citoplasmáticas. Aparece somente na leucemia das células cabeludas.

Célula Cerebriforme: núcleo escuro contendo fendas e dobras (aparência de cérebro). Aparece na síndrome de Sézary.

Inclusões citoplasmáticas que podem ser encontradas em neutrófilos:

Granulações Tóxicas: quando há um aumento na produção dos granulócitos, há uma diminuição no tempo da maturação das células precursoras dos neutrófilos. Por isso os neutrófilos aparecem no sangue com os grânulos primários. Estão presentes em casos de infecções.

Vacuólos: resultantes da fagocitose. Podem aparecer nos neutrófilos e monócitos. Seu relato só é importante quando aparece nos neutrófilos. Aparece em casos de infecções graves.

Plaquetas são observadas em relação a quantidade e seu tamanho. Seu número normal é de 150.000 à 400.000 por microlitro de sangue. O tamanho de uma plaqueta varia entre 1 a 4 micrometros.

A contagem de plaquetas é feita pelo método automático. A maioria dos laboratórios usam aparelhos cuja contagem de plaquetas se faz no mesmo canal de contagens de hemácias, sendo que a diferenciação de ambas se dá pelo volume (plaquetas são menores que 20 fl e hemácias maiores que 30 fl). Devido ao grande volume de exames feito por um laboratório ficou inviável a contagem manual de todas as plaquetas, mas a contagem manual não foi totalmente abandonada. Quando o número de plaquetas encontra-se diminuído, o laboratório faz um esfregaço de sangue para confirmar se elas estão diminuídas ou não. Se isso não for confirmado, a contagem de plaquetas é feita de modo manual, isto é, contagem em câmara de Neubauer.

Os erros mais comuns em uma contagem automática são: aparelhos mal calibrados e problemas na coleta do sangue. A coleta é muito importante, uma coleta muito lenta, agitação errada do sangue colhido entre outros problemas podem fazer com que as plaquetas se agrupem e ao realizar a contagem em aparelhos, seu número estará diminuído. O agrupamento de plaquetas não é um sinal clínico.

Citometria de fluxo

A técnica de citometria de fluxo é usada para contar e analisar as características físicas e moleculares de partículas microscópicas (ex.: células) num meio líquido. Um feixe de luz (normalmente laser) de uma única frequência (cor) é direcionado a um meio líquido em fluxo. Estão apontados ao local onde a corrente do fluido passa através do feixe de luz alguns detectores: (i) Forward Scatter ou FSC, que está na linha do laser e atrás da zona onde passam as partículas, e é uma medida do volume das partículas; (ii) Side Scatter ou SSC, que está perpendicular à direcção do laser, e é uma medida da complexidade das células, i.e., forma do núcleo, quantidade e tipo de grânulos citoplasmáticos ou rugosidade membranar; (iii) Detectores fluorescentes (um ou mais), também perpendiculares à direcção do laser.

Cada partícula que passa através do feixe de luz dispersa-a de alguma forma e os corantes químicos na partícula podem ser excitados de modo a emitir luz numa frequência mais baixa que a da fonte de luz. Esta combinação de luz dispersa e fluorescente é detectada pelos detectores e analisando as flutuações de brilho de cada detector (um para cada pico de emissão fluorescente) é possível vários factos sobre a estrutura física e química de cada partícula individual.

Os parâmetros possíveis de medir são: volume e complexidade morfológica das células, pigmentos celulares como clorofila, ADN (análise de tipo de células, cinética celular, proliferação, etc.), RNA, análise e classificação de cromossomos, proteínas, antígenos à superfície celular (marcadores CD), antígenos intracelulares (várias citosinas, mediadores secundários, etc.), antígenos nucleares, atividade enzimática, pH, cálcio ionizado intracelular, magnésio, potencial membranar, fluidez membranar, apoptose (quantificação, medidas da degradação do ADN, potencial da membrana mitocondrial, alterações na permeabilidade, atividade da caspase), viabilidade celular, monitorização da electropermeabilização das células, caracterização da multi resistência a fármacos em células tumorais, glutatona, várias combinações (DNA/antígenos de superfície, etc.). Esta lista é muito longa e está em constante expansão.

ANEMIAS

É uma anomalia caracterizada pela diminuição da concentração da hemoglobina dentro das hemácias, intraeritrocitária, e pela redução na quantidade de hemácias no sangue. Isso resulta em uma redução da capacidade do sangue em transportar o oxigênio aos tecidos. A hemoglobina, uma proteína presente nas hemácias, é responsável pelo transporte de oxigênio dos pulmões para os demais órgãos e tecidos e de dióxido de carbono destes para ser eliminado pelo pulmão.

Sinais e sintomas

São variáveis, mas os mais comuns são fadiga, fraqueza, palidez (principalmente ao nível das conjuntivas), déficit de concentração ou vertigens. Nos quadros mais severos podem aparecer taquicardias, palpitações. Afeta também a gengiva (causando, em casos mais graves, o seu sangramento).

Causas da Anemia

Genéticas:

Hemoglobinopatias, sendo as mais comuns hemoglobinopatias S (anemia falciforme), C, E e D

Síndromes Talassêmicas (talassemia alfa ou beta)

Defeitos na membrana da hemácia: eliptocitose e esferocitose

Anormalidades enzimáticas: deficiência em glucose-6-fosfato desidrogenase

Abetaproteinemia

Anemia de Fanconi

Nutricionais:

Deficiência de ferro (Anemia Ferropriva)

Deficiência de vitamina B12 (Anemia megaloblástica)

Deficiência de folato (Anemia megaloblástica)

Perda de sangue:

Hemorragia excessiva por acidentes, cirurgia, parto

Sangramento crônico por sangramentos causados em casos de úlcera, câncer intestinal, ciclo menstrual excessivo, sangramento nasal recorrente (epistaxes), sangramento por hemorróidas

Imunológicas:

mediadas por anticorpos

Efeitos Físicos:

Trauma
Queimaduras

Uso de medicamentos e exposição a produtos químicos:

Anemia aplásica
Anemia Megaloblástica

Doenças Crônicas:

Uremia
Hipotireoidismo
Hepatite
Doença Renal(provocando problemas na síntese de eritropoietina)
Neoplasias

Infecções:

Bacterianas: septicemia ;

Protozoários: Malária, Toxoplasmose, Leishmaniose

Virais: hepatite, Aids, Mononucleose, Citomegalovírus;

MIELOGRAMA

O mielograma é o estudo de uma amostra da medula óssea, obtida por punção aspirativa com agulha apropriada, em ossos onde existe atividade hematopoética.

O local mais indicado para a punção em crianças é a crista íliaca e no adulto o esterno. Com o material da punção são confeccionados esfregaços, corados pela mistura Romanovsky e avaliados microscopicamente.

Basicamente a observação se refere a celularidade, que nos mostra se a medula é normo, hipo ou hiper celular. A relação entre os elementos mielóides e os eritróides, nos fornece a relação mielóide - eritróide ou M / E, que varia entre 2 / 1 a 4 / 1.

Verificamos também o percentual de linfócitos que oscila em torno de 10 %, a serie megacariocítica, observando a produção de plaquetas e outros elementos tais como: parasitas e células neoplásicas.

Estuda-se a medula óssea, particularmente nas anemias, leucemias, púrpuras, agranulocitoses, mielomas e controle de quimioterapia. Além de analisarmos a morfologia das células, relatamos um percentual relativo à contagem de 500 células, cuja tabela normal descrevemos abaixo:

CÉLULA	MÉDIA %	VALORES DE REFERÊNCIA %
Mieloblasto	3	0,5 – 5,5
Pró-Mielócito	5	1,5 – 8,0
Mielócito Neutrófilo	12	4,5 – 18,0
Mielócito Eosinófilo	2	0,0 – 3,0
Mielócito Basófilo	0,5	0,0 – 1,0
Metamielócito Neutrófilo	27	12,0 – 42,0
Metamielócito Eosinófilo	2	0,5 – 3,5
Metamielócito Basófilo	0	0,0 – 0,1
Bastão Neutrófilo	24	15,0 – 33,0
Bastão Eosinófilo	1	0,0 – 2,0
Bastão Basófilo	0,2	0,0 – 0,5
Segmentado Neutrófilo	25	14,0 – 35,0
Segmentado Eosinófilo	4	1,0 – 7,0
Segmentado Basófilo	0,2	0,0 – 0,5
Linfócito	22	7,0 – 38,0
Monócito	3	0,0 – 5,0
Pró-Eritroblasto	3	0,0 – 6,0
Eritroblasto Basófilo	3	1,0 – 6,0
Eritroblasto Policromatófilo	15	5,0 – 26,0
Eritroblasto Acidófilo	11	2,0 – 21,0
Célula Reticular	1	0,0 – 2,0
Célula Plasmática	1	0,0 – 3,0
Megacariócito	0,5	0,0 – 1,0
Relação M / E	3 / 1	2 / 1 – 4 / 1
Mitoses	Raras	Raras

MORFOLOGIA DAS CÉLULAS DA MEDULA ÓSSEA

CÉLULA	DIÂMETRO MÉDIO - micra -	NÚCLEO	CITOPLASMA
		Cromatina delicada	Intensamente

APOSTILA DE HEMATOLOGIA CLÍNICA

Pró-Eritroblasto	12 (10 – 14)	e homogênea Nucléolos 1 a 2	basofílico Ausência de grânulos
Eritroblasto Basófilo	11 (10 – 12)	Cromatina mais densa Ausência de nucléolos	Intensamente basofílico Ausência de grânulos
Eritroblasto Policromatófilo	9 (8 – 10)	Condensado, Grumado	Azul / Marrom
Eritroblasto Acidófilo	7 (6 – 8)	Picnótico	Cor da hemácia
Mieloblasto	17 (15 – 20)	Cromatina delicada Nucléolos 2 a 6	Basofílico Grânulos azurófilos: raros / nenhum
Pró-Mielócito	16 (14 – 18)	Cromatina mais condensada 1 Nucléolo	Granulações azurófilas: numerosas
Mielócito	15 (12 – 18)	Redondo ou oval	Granulações azurófilas e específicas
Metamielócito	14 (10 – 18)	Riniforme, Invaginado	Granulações azurófilas e específicas
Plasmócito	11 (8 – 15)	Pequeno, Excêntrico e Cromatina em raios de roda de carroça	Intensamente basofílico Vacuolizado
Megacarioblasto	21 (18 – 25)	Sem lóbulos Sem nucléolos	Azul claro
Pró-Megacariócito	18	Início da lobulação	Irregular, sem grânulos
Megacariócito Granuloso	35	Lobulado Cromatina grumada	Granulações azurófilas
Megacariócito Trombocitógeno	70 (35 – 100)	Muito lobulado	Vermelho granuloso Plaquetas na periferia

PATOLOGIAS DA MEDULA ÓSSEA

PATOLOGIA	MIELOFIBROSE	AGRANULOCITOSE	PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA
Celularidade	Reduzida	Reduzida	Aumentada
Célula	Megacariócito	Linfócitos	Eritroblastos

Predominante		Plasmócitos	
Série Eritróide	Número reduzido de Eritroblastos	Eritroblasto Policromatófilo Eritroblasto Acidófilo	Pró-Eritroblasto Eritroblasto Basófilo Eritroblasto Policromatófilo Eritroblasto Acidófilo
Série Mielóide	Número reduzido de Granulócitos	Número reduzido de Mieloblastos e Mielócitos	Todo o escalonamento Mielóide
Outras Séries	Número reduzido de Mononucleares, Linfócitos, Monócitos e Plasmócitos Presença de numerosos Fibroblastos	Linfocitose Monocitose Células Reticulares	Megacariócitos aumentados Número reduzido de Mononucleares
Relação M / E	_____	10 / 1 a 50 / 1	1 / 1 a 4 / 1

BIÓPSIA DA MEDULA ÓSSEA

A biópsia da Medula Óssea proporciona um estudo arquitetural, fornecendo informações quanto a celularidade medular e relações anatômicas dos diversos componentes.

Para isto, retiramos fragmentos ósseos da crista ílica superior anterior. O material passa por uma descalcificação e um processamento histológico, para posterior estudo.

COLORAÇÃO CITOQUÍMICA

Esta modalidade de coloração é mediada por reação química e mostra substâncias intracelulares com cores específicas, perceptíveis à microscopia ótica.

Várias colorações citoquímicas especiais podem definir melhor e mais especificamente as características celulares. Elas também nos permitem distinguir linhagens celulares, e são úteis no diagnóstico de malignidades hematopoiéticas.

Podemos utilizar amostras frescas de sangue periférico, medula óssea, linfonodos e baço. As colorações mais utilizadas na rotina são as peroxidases, o azul da prússia para ferro, o sudan black B para demonstrar lipídeos, o ácido periódico de schiff que detecta glicogênio intracelular e a fosfatase alcalina leucocitária, enzima presente no citoplasma dos neutrófilos.

COLORAÇÃO CITOQUÍMICA DAS PEROXIDASES:

Nos grânulos citoplasmáticos está presente uma enzima, a mieloperoxidase, que age sobre o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), produto do metabolismo celular, liberando oxigênio que oxida a benzidina, formando um composto corado.

As células possuidoras da enzima peroxidase terão seus grânulos corados de verde ou verde-azulado e estas células serão peroxidase positivas.

Esta coloração citoquímica é utilizada na distinção entre as células de origem mielóide e linfóide. As células da linhagem mielóide são peroxidase positivas, enquanto que as linfóides são peroxidase negativas. Na leucemia mieloblástica, 25 % dos leucócitos são peroxidase positivos, enquanto que na leucemia linfoblástica, 95 % dos leucócitos são peroxidase negativos. Nas leucemias agudas, quando presente um grande número de blastos, a peroxidase torna-se uma técnica segura para a diferenciação entre mieloblastos e linfoblastos.

AZUL DA PRÚSSIA OU PERLS:

É utilizado para identificação do ferro celular na forma de ferritina ou hemossiderina. A reação se processa na interação de íons ferrocianeto com íons férricos no interior da célula, resultando um produto de cor azul-esverdeado chamado ferrocianeto férrico.

O azul da prússia é utilizado para detectar ferro no interior do eritroblasto (sideroblasto), no histiócito (SER) e identificar corpúsculos de Pappenheimer nas hemácias.

O corante pode ser aplicado em cortes histológicos, porém sua grande atuação é no aspirado de medula óssea, na identificação do depósito de ferro e ferro sideroblástico.

SUDAN BLACK B:

O sudan black B revela lipídeos, especialmente os fosfolipídeos intracelulares. O padrão de coloração corresponde ao das peroxidases, sendo positivo para as séries

neutrófilas e eosinófilas, negativo para os linfócitos e fracamente positivo para os monócitos.

Utilizada para diferenciar leucemia mielóide aguda (LMA) de leucemia linfóide aguda (LLA), possui a vantagem sobre a peroxidase por permitir corar esfregaços mais antigos.

ÁCIDO PERIÓDICO DE SCHIFF (PAS):

O ácido periódico de schiff revela glicogênio intracelular. A maioria das células hematopoiéticas são PAS positiva, por este motivo, a reação tem pouco valor no diagnóstico das leucemias agudas.

Seu valor diagnóstico se faz presente na confirmação da Eritroleucemia (LA-M6) na classificação FAB.

FOSFATASE ALCALINA LEUCOCITÁRIA (LAP):

Há nos tecidos hematopoiéticos, principalmente no citoplasma dos neutrófilos, atividade da fosfatase alcalina. Algumas metodologias são usadas para quantificar esta enzima, sendo a principal a de Kaprow.

Este procedimento envolve o uso de naftol e violeta B, produzindo um precipitado vermelho brilhante.

O estudo da LAP tem uma grande utilidade prática, nos auxiliando no diagnóstico diferencial das doenças hematopoiéticas. Seu principal interesse se aplica nas síndromes mielo proliferativas (SMP), especialmente na diferenciação da leucemia mielóide crônica (LMC) e reações leucemóides, onde a atividade da LAP é alta.