

ÍNDICES PLAQUETÁRIOS EM DOENTES INFECTADOS COM O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA E COM TROMBOCITOPENIA

Carla Pinto ■ Clara Barros ■ Elísio Costa

RESUMO

CONTEXTO: Existem poucos estudos sobre alterações nos índices plaquetários em doentes trombocitopénicos infectados com o Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH). O objectivo deste trabalho foi o de procurar alterações nos índices plaquetários e determinar o grau de correlação destes parâmetros entre si e com os restantes parâmetros hematológicos.

PLANO DE ESTUDO: Estudaram-se 49 indivíduos com VIH e trombocitopenia, com idades compreendidas entre os 20 e os 64 anos, de ambos os sexos, e 49 indivíduos controlos. A todos se efectuou hemograma completo, incluindo os índices plaquetários: volume plaquetário médio (MPV), distribuição do tamanho das plaquetas (PDW), plaquetócrito (PCT) e percentagem de plaquetas gigantes (PLCR).

RESULTADOS: Na população de doentes com VIH e trombocitopenia encontrou-se um aumento estatisticamente significativo do MPV, PDW e PLCR, quando comparados com o grupo controlo, e uma diminuição do PCT. A contagem de plaquetas correlacionou-se com o PCT, hemoglobina e com as contagens de eritrócitos, neutrófilos e basófilos. O PCT correlacionou-se com as contagens de eritrócitos, neutrófilos e basófilos, e com a hemoglobina. O MPV correlacionou-se com o hematócrito, PDW e PLCR. O PDW correlacionou-se com PLCR, e este com o hematócrito.

CONCLUSÕES: Estes resultados sugerem, por um lado, aumento da destruição plaquetária periférica e, por outro lado, uma produção plaquetária acelerada.

Palavras-chave: VIH, Trombocitopenia, Índices Plaquetários

ABSTRACT

BACKGROUND: There are few studies on the changes in platelet parameters in Human Immunodeficiency Virus (HIV) infected patients with thrombocytopenia. The aim of this study is to identify these changes and to determine correlations of these parameters with other hematological data.

STUDY DESIGN: We studied 49 individuals of both sexes with HIV infection and thrombocytopenia, with an age range between 20 and 64 years old, and also a control group of 49. Complete hematological counts, including platelets, mean platelet volume (MPV), distribution of the size of platelets (PDW), plateletocrit (PCT) and platelet large cell ratio (PLCR) were performed on all patients and controls.

RESULTS: Amongst the HIV infected patients with thrombocytopenia, we found a statistically significant increase of MPV, PDW and PLCR, and a decrease of for PCT when compared with the controls. The platelet count is correlated with PCT, hemoglobin and red cell, neutrophil and basophil counts, whilst the PCT is correlated with hemoglobin and red cell, neutrophil and basophil counts. Furthermore, the MPV is correlated with the hematocrit, PDW and PLCR and the PDW is correlated with PLCR, and this in turn with the hematocrit.

CONCLUSIONS: Our findings suggest an increase in peripheral platelet destruction and at the same time an accelerated production of bone marrow platelet.

Keywords: HIV, Thrombocytopenia, Platelet Parameters

INTRODUÇÃO

Os Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH), VIH-1 e o VIH-2, tal como o vírus da imunodeficiência dos símios, são membros do género *Lentivirinae* da família *Retroviridae*. São vírus com invólucro, com um diâmetro de cerca de 110nm. A infecção pelo VIH afecta predominantemente o sistema imunológico e o cérebro. A característica imunológica dominante da infecção pelo VIH consiste na depleção progressiva de subpopulações de linfócitos T CD4 (auxi-

liares-indutores), condicionando uma inversão da relação normal CD4:CD8, o que condiciona imunodeficiência. A depleção dos linfócitos CD4 deve-se, predominantemente, ao tropismo do VIH para essas células, bem como para outras células possuidoras de receptores CD4^{1,2}.

Alterações hematológicas em doentes infectados pelo VIH estão presentes durante toda a evolução da doença mas,

mais frequentemente, 2 a 3 anos após a seroconversão. A etiopatogenia destas alterações hematológicas pode estar relacionada directamente com a acção do vírus, ser consequência de infecções oportunistas ou neoplasias, resultar da acção tóxica dos fármacos anti-retrovirais usados no tratamento da infecção ou resultarem do conjunto de todos estes mecanismos^{3,4}.

A alteração da série megacariocítica mais frequente em doentes infectados por VIH é a trombocitopenia⁴⁻¹⁰. Calcula-se que cerca de 11% dos doentes infectados por VIH apresentem contagem de plaquetas inferior a $100 \times 10^3/\mu\text{L}$. Destes, apenas uma pequena proporção (6% a 24%) apresenta trombocitopenia grave (contagem plaquetária inferior a $50 \times 10^3/\mu\text{L}$). No entanto, os quadros hemorrágicos graves, que comprometam a vida destes doentes, não são frequentes^{5,11}.

A incidência de trombocitopenia aumenta com a duração da infecção, estimando-se que 25-45% dos doentes com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) apresentem trombocitopenia. Sloand *et al*¹² estudaram 1004 doentes em diferentes estádios de infecção por VIH-1 e observaram que a trombocitopenia incide com maior frequência em doentes com SIDA (21,2%), em relação aos infectados sem SIDA (9,2%).

A etiologia da trombocitopenia em doentes infectados por VIH não está ainda totalmente esclarecida. Sabe-se, no entanto, que está relacionada, por um lado, com o aumento da destruição periférica das plaquetas pela presença de anticorpos anti-plaquetários, complexos imunes circulantes e/ou a hiperesplenismo e, por outro lado, pode estar associada a trombopoiese ineficaz por acção directa do vírus nos megacariócitos, que pode condicionar alterações na função e na maturação destas células. É sabido também que, nestes doentes, os níveis de trombopoietina (TPO) e do complexo TPO-c-Mpl na superfície plaquetária se encontram significativamente elevados^{13-17,21}, o que exclui o défice de trombopoietina como causa de trombocitopenia.

Os contadores hematológicos de uso generalizado em rotina laboratorial, além de fornecerem a contagem do número de plaquetas, disponibilizam um conjunto de parâmetros habitualmente pouco usados na prática clínica - os índices plaquetários - sendo o mais estudado, e conhecido, o volume plaquetário médio (MPV), parâmetro que se tem vindo a relacionar com a função e a actividade plaquetária¹⁸. O plaquetócrito (PCT) corresponde ao volume total de plaquetas num determinado volume de sangue e está directamente relacionado com a contagem do número de plaquetas e o seu volume¹⁹. Além destes,

existem outros índices plaquetários que fornecem informação sobre a morfologia das plaquetas. O PDW (platelet distribution width) que corresponde à distribuição do tamanho das plaquetas e o PLCR (platelet large cell ratio) que traduz a percentagem de plaquetas com tamanho superior a 12 fl^{18,20}.

Existem poucos estudos sobre alterações nos índices plaquetários em doentes trombocitopénicos com VIH. Assim, foi objectivo deste trabalho procurar alterações nos índices plaquetários e determinar o grau de correlação destes parâmetros entre si e com os restantes parâmetros hematológicos.

MATERIAL E MÉTODOS

POPULAÇÃO

Incluíram-se neste trabalho 49 indivíduos com diagnóstico de VIH e contagem de plaquetas inferior a $150 \times 10^3/\mu\text{L}$, com idades compreendidas entre os 20 e os 64 anos, de ambos os sexos, provenientes do internamento, consulta externa do Hospital Pedro Hispano E.P.E., Centro de Saúde de São Mamede Infesta, Centro de Saúde de Lavra e Centro de Saúde de Leça da Palmeira.

Incluiu-se também uma população controlo constituída por 49 indivíduos não infectados pelo VIH, sem alterações hematológicas, emparelhados por idade e sexo com o grupo de doentes.

ESTUDO LABORATORIAL

A colheita de sangue periférico efectuou-se por punção venosa, para tubos com anticoagulante (EDTA_{K₃}). Todas as amostras foram processadas até 2 horas após a colheita. A contagem de células sanguíneas realizou-se num autoanalisador hematológico Sysmex[®] XE 2100 (Kobe, Japão), no qual se efectuou hemograma completo que incluiu os índices plaquetários (PCT, MPV, PDW e PLCR).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

No tratamento estatístico dos resultados utilizou-se o teste *T-student* e o teste de *Mann-Whitney* para comparação de médias e a correlação de *Pearson* e de *Spearman* na determinação do grau de correlação, dependendo de se tratar ou não de variáveis com distribuição normal. Consideraram-se significativos os valores de *p* inferiores a 0,05.

RESULTADOS

Na população de doentes com VIH e trombocitopenia encontrou-se uma diminuição estatisticamente significativa na contagem total de leucócitos, linfócitos, monócitos e neutrófilos. Em relação aos índices plaquetários, encontrou-se um aumento estatisticamente significativo do MPV, PDW e PLCR e uma diminuição do PCT na população de doentes, quando comparada com a população controlo. (Quadro 1)

Correlacionando as variáveis entre si, verificou-se que a diminuição na contagem de plaquetas se associou à diminuição do PCT ($r=0,929$; $p<0,0001$), da hemoglobina ($r=0,339$; $p=0,017$), do número de eritrócitos ($r=0,408$; $p=0,004$) e da contagem de neutrófilos ($r=0,534$; $p<0,0001$). O aumento do MPV associou-se ao aumento do hematócrito ($r=0,347$; $p=0,014$), do PDW ($r=0,870$; $p<0,0001$) e do PLCR ($r=0,983$; $p<0,0001$). O aumento do PDW revelou-se igualmente associado ao aumento do PLCR ($r=0,909$; $p<0,0001$).

QUADRO 1: VALORES OBTIDOS NOS DOIS GRUPOS DE INDIVÍDUOS ESTUDADOS (RESUMO)

Parâmetros	Controlos*	Doentes*	Valor de <i>p</i>
Eritrócitos ($10^3/\mu\text{L}$)	4,59 (4,14-4,92)	4,50 (3,60-4,98)	0,151
Hb (g/dL)	14,40 (12,60-15,40)	14,10 (12,30-15,50)	0,572
Hematócrito (%)	41,82 \pm 4,56	39,98 \pm 6,31	0,101
VGM (fL)	91,80 (87,95-94,45)	90,80 (86,75-100,80)	0,587
HGM (pg)	30,60 (29,55-32,05)	30,70 (29,05-34,95)	0,466
CHCM (%)	33,70 (32,85-34,40)	34,10 (33,25-34,90)	0,088
RDW (%)	12,90 (12,60-13,30)	13,00 (12,55-13,90)	0,470
Plaquetas ($10^3/\mu\text{L}$)	224,00 (193,00-257,00)	121,00 (86,50-134,50)	<0,0001
PCT (%)	0,24 (0,20-0,28)	0,13 (0,095-0,14)	<0,0001
MPV (fL)	10,67 \pm 0,70	11,05 \pm 0,78	0,012
PDW (%)	12,64 \pm 1,35	13,42 \pm 1,86	0,020
PLCR (%)	30,59 \pm 6,16	33,74 \pm 6,51	0,016
Leucócitos ($10^3/\mu\text{L}$)	6,60 \pm 2,02	4,06 \pm 1,55	<0,0001
Neutrófilos ($10^3/\mu\text{L}$)	3,60 (2,35-4,14)	1,98 (1,44-2,63)	<0,0001
Linfócitos ($10^3/\mu\text{L}$)	2,52 \pm 0,77	1,44 \pm 0,73	<0,0001
Monócitos ($10^3/\mu\text{L}$)	0,45 \pm 0,14	0,37 \pm 0,13	0,008

* Os valores são apresentados com média \pm DP nas variáveis com distribuição normal, e Mediana (Q25%-Q75%) no caso de variáveis que não seguem uma distribuição normal.

DISCUSSÃO

No grupo de doentes infectados pelo VIH, para além da trombocitopenia, encontrou-se uma diminuição na contagem de leucócitos total, incluindo os linfócitos, neutrófilos e monócitos, quando comparado com o grupo controlo.

Relativamente aos índices plaquetários, os resultados obtidos sugerem que estes doentes, para além de apresentarem trombocitopenia, também apresentam alterações morfológicas nas plaquetas, identificáveis pelo MPV, PDW e PLCR, nomeadamente, um aumento da percentagem de plaquetas grandes (MPV e PLCR aumentados) e presença de anisocitose plaquetária (PDW aumentado). O PCT encontra-se diminuído no grupo de doentes, estando este parâmetro relacionado com o número de plaquetas

circulantes. De referir que o significado clínico do PLCR e do PDW é ainda considerado controverso^{9,10}. No entanto, valores aumentados sugerem a existência de uma população celular heterogénea, produzida como resposta medular à trombocitopenia. Assim, um valor alto de PLCR sugere resposta à destruição periférica acelerada, já que a presença destas plaquetas de dimensões aumentadas surgem para compensar a trombocitopenia, uma vez que estas plaquetas são metabolicamente mais activas, por apresentarem maior quantidade de grânulos, aminoácidos, factor plaquetário – 4 (PF4), fosfolípidos, β -tromboglobulina e serem mais susceptíveis à estimulação pelo ADP e colagénio^{19,21}. No entanto, devido às suas grandes dimensões, são preferencialmente sequestradas no baço e consumidas durante os processos de coagulação, levando à sua retirada prematura da circulação. Craig B *et al*²¹ e Fezoui H. *et al*²² referem que aproximadamente 80% dos

doentes infectados por VIH e com trombocitopenia apresentam uma elevada percentagem das plaquetas grandes sequestradas no baço.

Também o PDW pode ser considerado o marcador fidedigno para distinguir a trombocitopenia por hiperdestruição da trombocitopenia por hipoprodução. Murphy S *et al*³ referem que a anisocitose e macrocitose plaquetárias (dada pelo PDW e MPV, respectivamente), surgem quando ocorre uma produção acelerada relacionada com aumento do consumo ou com destruição acelerada, distinguindo-a assim da trombopoiese ineficaz. Por outro lado, a ausência de plaquetas grandes em doentes com trombocitopenia é sugestivo de um défice de produção.

O aumento de destruição periférica, nestes doentes, pode ser resultante da presença de anticorpos dirigidos contra os complexos glicoproteicos IIB-IIIa da membrana plaquetária. Esses auto-anticorpos exibem reacção cruzada com a gp-120 do VIH levantando, assim, a possibilidade de mimetismo molecular. Acredita-se que esses anticorpos de reactividade cruzada tenham a capacidade de opsonizar as plaquetas e favorecer a sua destruição prematura no baço. Alguns estudos também implicaram a deposição inespecífica de imuno-complexos sobre a superfície plaquetária como factor responsável pela remoção levada a cabo pelo sistema mononuclear fagocítico⁶.

Alterações nos índices plaquetários também têm vindo a ser relacionadas com agregação plaquetária induzida *in vitro* pelo anticoagulante usado¹⁸. Efectivamente, está descrito que o anticoagulante EDTA induz a agregação plaquetária e provoca 10% a 15% de alterações no MPV a partir de 2 horas²¹. Por norma, recomenda-se que todo o resultado baixo de plaquetas deve ser confirmado com a observação do esfregaço sanguíneo. Este permite descartar situações de pseudotrombocitopenia, presença de plaquetas grandes, e também assegurar que não existem microcoágulos na amostra, por inadequada homogeneização na recolha do sangue. Neste estudo, as amostras analisaram-se imediatamente após a colheita e observou-se o esfregaço de todos os doentes que apresentavam um valor baixo de plaquetas. Isto sugere que as alterações encontradas estão relacionadas com a patologia dos doentes e não com alterações *in vitro* resultantes da colheita e/ou do armazenamento da amostra.

As correlações positivas encontradas entre os índices plaquetários, a contagem eritrócitaria e a contagem de neutrófilos deverão estar relacionadas com o facto de estas células terem origem numa *stem cell* comum e, como tal, serem coordenadamente reguladas durante os diferentes estádios hematopoiéticos²¹.

Em conclusão, a análise dos resultados sugere-nos aumento da destruição periférica das plaquetas em doentes com VIH que condiciona a estimulação da trombopoiese e conseqüente produção acelerada, originando plaquetas de maiores dimensões. O grau de heterogeneidade das plaquetas, conjuntamente com o seu número, fornece informação importante sobre a sua fisiologia e pode ser útil para uma melhor compreensão da etiopatogenia da trombocitopenia nos indivíduos infectados por VIH. Contudo, os índices plaquetários ainda têm um potencial muito baixo na aplicação clínica, apesar de já serem fornecidos rotineiramente pelos contadores celulares automáticos.

Em futuros trabalhos seria importante estudar a relação entre os índices plaquetários, com a presença de anticorpos anti-plaquetários e imuno-complexos, assim como com o grau de imunodeficiência e a carga vírica.

REFERÊNCIAS

1. Kahn JO, Walker BD. Acute Human Immunodeficiency Virus type 1 infection. *N Engl J Med* 1998; 331:33-9.
2. Roitt I, Brostoff J & Male D. *Imunologia*. 6ª ed. Brasil: Manole; 2003.
3. Mansilla M, Galzerano J, Di Landro J, Magariños A, Bobliaccini G & Braselli A. Esplenectomia en la trombocitopenia inmune (PTI) asociada a la infección por HIV. *Revista Médica do Uruguai* 2001;17:213-17.
4. Alaei K, Alaei A, Mansoori D. Thrombocytopenia in HIV-infected patients. *East Mediterr Health J* 2002; 8:758-64.
5. Iribarren JA, Miralles R, Baraia J & Diez F. Tratamiento en situaciones especiales: infección aguda, embarazo, afécción del sistema nervioso central, trombocitopenia, exposición accidental. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 1996; 14:36-41.
6. Mazza JJ. *Manual of Clinical Hematology*. 3ª ed. Espanha: Marban; 2004.
7. Louache F, Bettaieb A, Henri A, Oksenhendler E, Farcet JP, Bierling P, Seligmann M & Vainchenker. Infection of Megakaryocytes by Human Immunodeficiency Virus in Seropositive Patients with Immune Thrombocytopenic Purpura. *Blood* 1991; 78:1697-1705.
8. Kouri YH, Borkowsky W, Nardi M, Karpatkin S, Basch RS. Human Megakaryocytes have a CD4 Molecule Capable of Binding Human Immunodeficiency Virus-1. *Blood* 1993; 81: 2664-2670.
9. Sacher RA, McPherson RA. *Widman. Interpretação Clínica dos Exames Laboratoriais*. 11ª ed. Brasil: Manole; 2002.
10. Miller O. *Laboratório para o Clínico*. 8ª ed. São Paulo: Atheneu; 1999.
11. Mannucci PM & Gringeri A. HIV – related thrombocytopenias. *Ann Ital Med Int Rev* 2000; 15:20-27.
12. Sloand EM, Klein HG, Banks SM, Varelzdis B, Merrit S, Pierce P. Epidemiology of thrombocytopenia in HIV infection. *Eur J Haematol* 1992; 48:168-72.

13. Sundell IB & Koka PS. Thrombocytopenia in HIV infection: impairment of platelet formation and loss correlates with increased c-Mpl and ligand thrombopoietin expression. *Curr HIV Res* 2006; 4:107-16.
14. Evatt BL. HIV Infection and thrombocytopenia. *Curr Hematol Rep* 2005; 4:149-53.
15. Domínguez A, Gamallo G, Garcia R, Lopez-Pastor A, Peña JM & Vazquez JJ. Pathophysiology of HIV related thrombocytopenia: an analysis of 41 patients. *J Clin Pathol* 1994; 47:999-1003.
16. Miguez-Burbano M J, Jackson J Jr. & Hadrigan S. Thrombocytopenia in HIV disease: clinical relevance, physiopathology and management. *Curr Med Chem Cardiovasc Hematol Agents* 2005; 3:365-76.
17. Scaradavou. HIV related thombocitopenia. *Blood Rev* 2002; 16: 73-76.
18. Santos EV & Meirelles J. Plaquetograma em gestantes normais e com pré-eclâmpsia. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2004; 26:17-19.
19. Lewis S, Bain B & Bates I – Hematologia Prática de Dacie e Lewis. 9ª ed. Brasil: Artmed; 2006.
20. Palma LS. Educacion continua hemograma automatizado – el estudio de las plaquetas. *Rev Col de MQC de Costa Rica* 2002; 8:196-97.
21. Craig B, Thompson & Joseph A. The pathophysiology and clinical relevance of platelet heterogeneity. *Blood Rev* 1988; 72: 1-8.
22. Fezoui H, Garnier G, Taillan B, Cassuto JP & Pesce A. Anomalies de l'hémostase et infection par le virus de l'immuno déficience humaine. *Rev Med Interne* 1996; 17:738-745.
23. Murphy S, Oski FA, Naiman JL, Lusch CJ, Goldberg S, Gardner FH. Platelet size and kinetics in hereditary and acquired thrombocytopenia. *N Engl J Med* 1972; 286:499.

AUTORES: Carla Pinto^{1,2}, Clara Barros², Elísio Costa¹

¹Departamento de Tecnologias de Diagnóstico e Terapêutica da Escola Superior de Saúde, Instituto Politécnico de Bragança. ²Serviço de Patologia Clínica, Hospital Pedro Hispano E.P.E.

Correspondência: Elísio Costa, Escola Superior de Saúde, Instituto Politécnico de Bragança, Avenida D. Afonso V, 5300-121 Bragança (Portugal).