

Rosângela de Fátima do Nascimento e Silva

**SIGNIFICADO DA PRESENÇA DE ESQUIZÓCITOS NO  
SANGUE PERIFÉRICO DE GESTANTES COM  
PRÉ-ECLÂMPSIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em  
Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia, Faculdade de Medicina  
de Botucatu – UNESP, para obtenção do Título de Mestre

**Orientador: José Carlos Peraçoli**  
**Co-Orientadora: Lucilene Silva Ruiz e Resende**

Botucatu – SP  
2004

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO  
DA INFORMAÇÃO  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: SELMA MARIA DE JESUS

Silva, Rosangela de Fátima do Nascimento e.

Significado da presença de esquizócitos no sangue periférico de gestantes com pré-eclâmpsia / Rosangela de Fátima do Nascimento e Silva. – 2004.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu, 2004.

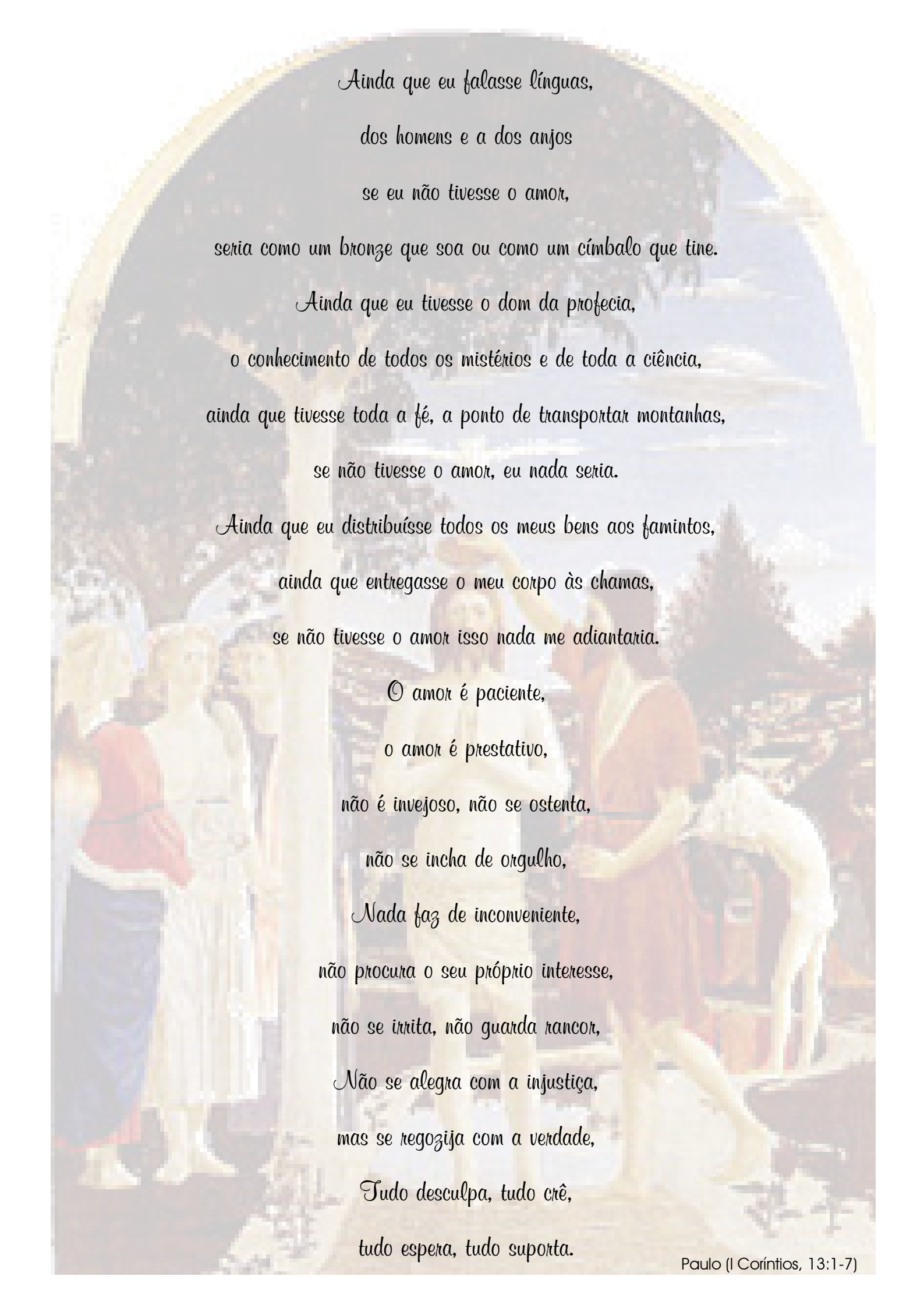
Orientador: José Carlos Peraçoli

Assunto CAPES: 40101150

1. Hipertensão na gravidez

CDD 618.3261

Palavras-chave: Esquizócitos; Hemólise; Pré-eclâmpsia; Síndrome HELLP



Ainda que eu falasse línguas,  
dos homens e a dos anjos  
se eu não tivesse o amor,  
seria como um bronze que soa ou como um címbalo que tine.

Ainda que eu tivesse o dom da profecia,  
o conhecimento de todos os mistérios e de toda a ciência,  
ainda que tivesse toda a fé, a ponto de transportar montanhas,  
se não tivesse o amor, eu nada seria.

Ainda que eu distribuísse todos os meus bens aos famintos,  
ainda que entregasse o meu corpo às chamas,  
se não tivesse o amor isso nada me adiantaria.

O amor é paciente,  
o amor é prestativo,  
não é invejoso, não se ostenta,  
não se incha de orgulho,  
Nada faz de inconveniente,  
não procura o seu próprio interesse,  
não se irrita, não guarda rancor,  
Não se alegra com a injustiça,  
mas se regozija com a verdade,

Tudo desculpa, tudo crê,  
tudo espera, tudo suporta.



# *Dedicatórias*

## Dedicatória

Aos meus pais, Horácio e Aida,  
referências de vida, que me fizeram acreditar desde  
pequena que diferenças sociais, de sexo e de raça  
podem ser ultrapassadas na conquista dos ideais.

André, meu companheiro  
pelo encontro de amor,  
apoio, estímulo e compreensão nas ausências  
cotidianas.

Marcella, Rafaella e Matheus, meus filhos,  
três flores que perfumam a minha caminhada pela  
vida.

*Agradecimento Especial*

# Agradecimento Especial

Ao professor e doutor José Carlos Peraçoli, que com seu exemplo gera lições, com suas palavras propõe conceitos e junto com os discípulos elabora idéias.

- Professor, Francisco de Assis falava “que as palavras convencem, mas que só o exemplo arrasta multidões”.

Minha eterna gratidão.

# *Agradecimientos*



# Agradecimentos

*A Deus em primeiro lugar que tem me permitido habitar esse corpo e chegar à realização de mais este sonho.*

*Aos Professores do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP que me acolheram com simplicidade e paciência, qualidades de quem tem sabedoria.*

*À Dra Lucilene Silva Ruiz e Resende, cuja ajuda foi fundamental para elaboração e conclusão deste trabalho, não tenho palavras para agradecer as orientações hematológicas que foram fundamentais.*

*Ao Professor Joelcio Francisco Abbade, agradeço-lhe pelos trabalhos bibliográficos que me forneceu no início da elaboração da tese e principalmente pela ajuda final na análise dos dados estatísticos. Muito obrigado.*

*Ao Professor Reinaldo José da Silva, professor assistente doutor do Departamento de Parasitologia do Instituto de Biociências do campus de Botucatu, obrigado pelo acolhimento e a boa vontade de emprestar e ensinar como usar o microscópio para elaboração das fotos das lâminas.*

*Ao Dr Bruno Cardoso agradeço-lhe pela disponibilidade de ajudar na obtenção dos dados e análise das lâminas.*

*A auxiliar de enfermagem Maria Claudete Zanella, que contribuiu com muita gentileza na elaboração dos esfregaços de sangue periférico.*

*Ao Hospital Monte Sinai que contribuiu através do centro de estudos na aquisição de alguns levantamentos bibliográficos e em especial a*

*Marcio Luiz de Paulo* por ter me permitido usar o laboratório para reavaliação de algumas lâminas.

À minha segunda mãe *Filó*, que com açúcar e com afeto, tem uma significação particular na continuidade da minha vida.

À minha irmã *Silvia*, que me ensina a compartilhar encontros, despedidas, descobertas.

À amiga *Zezé*, que descobri no primeiro dia da Residência, que tem me permitido trocas constantes na vida, com quem dividi também idas e vindas à Botucatu, o que nos permitiu múltiplas histórias para contar.

À *Professora Linda* que me alfabetizou, ensinando-me a aprender a ler o mundo.

Aos *Professores da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora*, que me incentivaram a conhecer os desafios para a reconquista da vida.

Aos *Colegas e Professores da Residência Médica*, que compartilharam experiências, conquistas, coragem e determinação.

À *Cristiane Abe*, que com dedicação, carinho e apreço acompanhou e contribuiu para a efetivação deste trabalho.

As funcionárias da *secretaria do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia*. e aos funcionários da *Seção de Pós-graduação*, que com gentileza e presteza souberam atender e solucionar necessidades urgentes.

Ao *motorista Natalino*, que compartilhou das histórias vividas, no decorrer das viagens à Botucatu, acertando caminhos e assumindo que a chegada aconteceria, em tempo certo.



# *Sumário*

## SUMÁRIO

---

### Capítulo I

<i>Anemia hemolítica microangiopática e gravidez</i> .....	1
--	---

Leituras Suplementares .....	14
------------------------------	----

### Capítulo II

#### ***Significado da presença de esquizócitos no sangue periférico de gestantes com pré-eclâmpsia***

Introdução .....	22
------------------	----

Objetivos .....	28
-----------------	----

Sujeitos e Métodos .....	30
--------------------------	----

Resultados .....	38
------------------	----

Discussão .....	45
-----------------	----

Conclusões .....	53
------------------	----

Resumo .....	55
--------------	----

Abstract .....	58
----------------	----

Referências Bibliográficas .....	61
----------------------------------	----

### Anexo

Anexo I - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa .....	69
--	----

# *Capítulo I\**

## *Anemia hemolítica microangiopática e gravidez*

\* Normas de publicação da revista Femina

## ANEMIA HEMOLÍTICA MICROANGIOPÁTICA E GRAVIDEZ

A anemia hemolítica microangiopática foi primeiramente estudada por Symmers em 1952, que definiu como sua característica a fragmentação das hemácias (esquizócitos ou esquistócitos). Essa anemia ocorre na gravidez fazendo parte de intercorrências como a síndrome HELLP, a púrpura trombocitopênica trombótica, a síndrome urêmica hemolítica e o fígado gorduroso agudo da gravidez.

A fragmentação é conseqüente a lesão da íntima e depósito de fibrina em pequenos vasos, provocando rotura das hemácias com liberação de parte da membrana eritrocitária, e muitas vezes, perda de seu conteúdo celular. No momento seguinte a membrana é capaz de desenvolver o auto-reparo e adquirem o formato de capacete, triângulo ou mordida. Entretanto, sua sobrevivência fica reduzida, sendo removida da circulação pelo sistema retículoendotelial. A lesão endotelial e a formação de trombos determinam anemia, trombocitopenia, aumento dos níveis de hemoglobina livre e de desidrogenase láctica, e redução dos níveis de haptoglobina (Foerster, 1999).

O diagnóstico precoce e diferencial das anemias hemolíticas microangiopáticas é responsável pela adequada conduta terapêutica diminuindo a morbidade e a mortalidade materna e fetal.

## **Púrpura Trombocitopênica Trombótica**

A púrpura trombocitopênica trombótica (PTT) foi descrita, primeiramente, em 1924 por Moschcowitz, como uma síndrome composta por púrpura trombocitopênica, anemia hemolítica e manifestações neurológicas. Atualmente, é caracterizada por cinco manifestações clássicas: febre, distúrbios neurológicos, disfunção renal, anemia hemolítica microangiopática e trombocitopenia, que na prática estão presentes em apenas 40% das pacientes (Kemp et al., 1999; Halevy et al., 2002).

A PTT é uma doença rara com incidência de 1/45.000 a 1/50.000 casos na população, com prevalência no sexo feminino na proporção de 3 para 2 (Lesesve et al., 2001). Em 10% dos casos ocorre durante a gravidez, normalmente no segundo semestre (em torno de 24 semanas), o que não inclui a possibilidade de diagnosticá-la no terceiro trimestre e no pós-parto. A hipertensão arterial normalmente está ausente (Kemp et al., 1999).

A excessiva liberação do fator de Von Willebrand em tamanhos maiores que o normal é a teoria para explicação da patogenia da doença (Kemp et al., 1999; Halevy et al., 2002). Segundo Bithell (1998), existe comprometimento específico das arteríolas e capilares terminais, uma vez que os trombos são compostos principalmente por plaquetas e fibrina, variando morfológicamente desde agregados

plaquetários frouxos até tampões de fibrina e plaquetas densamente aderentes. Estas lesões estão freqüentemente associadas a microaneurismas e depósitos hialinos nas camadas subendoteliais dos capilares, localizando-se entre o endotélio e as camadas musculares das arteríolas. As lesões subendoteliais são consideradas as formas histopatológicas mais características deste distúrbio. A proliferação endotelial é freqüentemente evidente, estando a necrose fibrinóide e infiltração perivascular ausentes.

As lesões da PTT são mais comumente observadas no cérebro, víscera abdominal e coração, podendo também ser encontradas no restante do organismo, porém o comprometimento do pulmão é raro. No cérebro, as áreas mais afetadas são os vasos da massa cinzenta cortical e da base cerebral.

Quanto ao tratamento, antes da plasmaférese de troca e das transfusões plasmáticas, a ocorrência da PTT era fatal em mais de 80% dos casos no período de três meses e menos de 10% sobreviviam por um ano (Lesesve et al., 2001). Após a introdução da plasmaférese de troca e das transfusões plasmáticas cerca de 80% das pacientes sobrevivem ao episódio inicial da PTT e, uma porcentagem quase igual (64%) responde a troca sangüínea com total remissão do quadro clínico. As manifestações neurológicas graves podem diminuir em poucas horas. No entanto, o mecanismo exato desses efeitos terapêuticos permanece desconhecido (Bithell, 1998).



## **Síndrome Urêmica Hemolítica**

A síndrome urêmica hemolítica (SUH) se manifesta sob várias formas, classificadas em epidêmica, familiar e esporádica. Na gravidez a SUH é uma forma esporádica e decorrente de várias causas, podendo estar associada com infecção respiratória ou gastrointestinal. A recorrência na gravidez é rara, porém quando ocorre determina altas taxas de morbidade e mortalidade materna (Foerster, 1999; Halevy et al., 2002). A clássica tríade da SUH é composta por anemia hemolítica microangiopática, trombocitopênica e falência renal (Kemp et al., 1999).

O início da hemólise e da insuficiência renal pode ser dramático, com manifestação de palidez súbita, dor abdominal, vômito e urina vermelho-escuro. Estas manifestações rapidamente evoluem para oligúria e, em muitos casos, anúria total. Ao exame físico a paciente se apresenta pálida, levemente ictérica, podendo ter lesões purpúricas, equimoses e evidência de sangramento nas mucosas. A hipertensão arterial está presente em metade das pacientes (Foerster, 1999).

A falência renal é freqüentemente grave requerendo restrição líquida, diálise e administração de antibiótico, específico para o agente causal. Esta terapêutica diminui a mortalidade para 6%, ocorrendo recuperação completa em duas ou três semanas (Halevy et al., 2002).

A patogênese característica da SUH parece ser a lesão endotelial vascular, com predomínio nos capilares glomerulares, arteríolas

renais e em menor grau, outros vasos. Essa lesão é responsável pela falência renal. Até recentemente, a anemia era atribuída apenas à lesão de hemácias pela fibrina depositada no endotélio e ao subsequente seqüestro, pelo baço e fígado, das células lesadas. Contudo, pelos mesmos mecanismos as toxinas bacterianas são capazes de lesar células endoteliais, hemácias e plaquetas. Mais ainda, as alterações microangiopáticas não estão presentes em todos os pacientes com eritrócitos fragmentados e nem sempre existe correlação entre a gravidade da lesão vascular e o grau de hemólise (Foerster, 1999; Kahra et al., 1998).

Diferenciar SUH de PTT pode ser difícil, entretanto na PTT, a maioria dos casos ocorre antes de 24 semanas de gestação, enquanto a SUH prevalece no período pós-parto. Na PTT os sintomas neurológicos são evidentes, ao passo que na SUH o rim é órgão-alvo.

## **Fígado gorduroso agudo da gravidez**

O fígado gorduroso agudo da gravidez (FGAG) ou esteatose hepática aguda da gravidez é doença rara, específica da gestação, que está associada a taxas elevadas de morbidade e mortalidade materna e fetal (Perosa et al., 2001; Jesús et al., 2003). Ocorre principalmente no terceiro trimestre de gestação, entre 30 e 40 semanas, numa incidência de 1/13.000 gestações (Perosa et al., 2001). Sua recorrência é raríssima, porém existem relatos em gestações subseqüentes (MacLean et al., 1994; Reyes et al., 1994).

A etiologia do FGAG é desconhecida, porém, recentemente várias investigações têm demonstrado a associação de diversos casos desta doença com um erro inato do metabolismo fetal - a deficiência da cadeia longa de 3-hidroxiacil-coenzima (Kemp et al., 1999; Jesús et al., 2003).

O quadro clínico se inicia com anorexia, mal estar e cefaléia seguido de náuseas e vômitos, febre, dor abdominal (principalmente na região epigástrica), icterícia, hipoglicemia, poliúria-polidipsia, elevação das aminotransferases séricas e coagulopatia, podendo evoluir para insuficiência hepática aguda, encefalopatia e coma (Perosa et al., 2001; Jesús et al., 2003).

O diagnóstico definitivo é feito através de biópsia hepática, nem sempre possível de ser realizada devido ao distúrbio da

coagulação. As amostras de tecido hepático revelam alterações difusas com microvesículas de gordura (esteatose), principalmente na região centrolobular, diferente das alterações clássicas da síndrome HELLP (Barton & Sibai, 1999; Perosa et al., 2001).

Os quadros de pré-eclâmpsia/eclâmpsia, sobretudo os que evoluem com síndrome HELLP são os de maior dificuldade no diagnóstico diferencial (Barton & Sibai, 1999; Jesús et al., 2003). No entanto, hipertensão e proteinúria, sempre presentes na pré-eclâmpsia, ocorrem em 50% dos casos de FGAG (Cunha, 2000). É possível haver superposição da síndrome HELLP com FGAG (Cunningham et al., 2001). Um diagnóstico diferencial raro é a tumoração maligna do fígado, que pode confundir o diagnóstico com a síndrome HELLP (Balderston et al., 1998).

Em relação ao tratamento, a opção que interfere sobremaneira no resultado materno e gestacional é a interrupção imediata da gestação uma vez que não há melhora das manifestações clínicas e laboratoriais antes do parto e, caso este seja postergado, haverá alto risco de complicações como hemorragias e/ou morte intra-uterina (Perosa et al., 2001; Jesús et al., 2003).

Em termos de prognóstico, antes de 1970 os índices de mortalidade materna eram elevados, oscilando entre 70% e 90%, chegando atualmente a cifras inferiores a 10%. Esta redução tem sido

atribuída ao diagnóstico mais precoce, a pronta interrupção da gravidez e ao suporte de terapia intensiva (Perosa et al., 2001; Jesús et al., 2003).

### **Síndrome HELLP**

A terminologia síndrome HELLP foi proposta por Weinstein em 1982, embora já houvesse sido descrita por outros investigadores (Pritchard et al., 1954; Killam et al., 1975; Goodlin, 1976), representando o acrônimo HELLP a associação de H-Hemolysis, EL-Elevated Liver e LP-Low Platelet.

A maioria das mulheres manifesta um quadro de pré-eclampsia grave, mas o espectro da síndrome HELLP foi alargado para incluir mulheres com características da mesma, porém com pressão normal ou levemente alterada e/ou proteinúria não significativa (Sibai, 1990). Assim, sua conceituação se baseia fundamentalmente em dados laboratoriais (Sibai, 1990; Audibert et al., 1996).

Há necessidade da presença dos três parâmetros laboratoriais (hemólise, aumento de enzimas hepáticas e trombocitopenia) para o diagnóstico da síndrome HELLP. A hemólise é caracterizada pela presença no esfregaço sangüíneo periférico de hemácias fragmentadas (esquizócitos), valor de bilirrubina indireta  $>1,2\text{mg/dL}$  e desidrogenase láctica  $>600\text{U/L}$ . O aumento das enzimas hepáticas é caracterizado por

valores de aspartato aminotransferase ou transaminase glutâmico-oxalacética  $>70\text{U/L}$  e a trombocitopenia definida por contagem de plaquetas inferior a  $100.000/\text{mm}^3$ . Estes critérios foram adotados pelo Ministério da Saúde brasileiro (2000). A falta de um ou dois desses parâmetros é denominada de síndrome HELLP parcial (Audibert et al., 1996).

Martin et al. (1990) propuseram uma definição mais ampliada da plaquetopenia, com subdivisão que correlaciona contagem baixa de plaquetas com prognósticos mais desfavoráveis. Assim a plaquetopenia é classificada, quando ao número de plaquetas em:  $<50.000/\text{mm}^3$  (classe 1),  $\geq 50.000$  e  $<100.000/\text{mm}^3$  (classe 2) e  $\geq 100.000/\text{mm}^3$  e  $<150.000/\text{mm}^3$  (classe 3).

Em decorrência da adoção de diferentes critérios diagnósticos, a incidência da síndrome HELLP é extremamente variável. Está presente entre 0,2% e 0,6% de todas as gestações (Martin Jr et al., 1993), entre 4% e 12% das gestantes com pré-eclâmpsia grave e, entre 30% e 40% dos casos de eclâmpsia (MacKenna et al., 1983; Sibai et al., 1986; Neiger et al., 1991; Roberts et al., 1994; Barton & Sibai, 1999). Em nosso meio, Parpinelli et al. (1994) encontraram incidência de 2,1% e Marchioli (1999) encontrou 2,5%. O risco de recorrência da doença em gestação futura varia entre 4% (Sibai et al., 1995) e 19% (Sullivan et al., 1994). Peraçoli et al. (1998) encontraram recorrência da doença em 16,6% dos casos.

Histologicamente, o fígado mostra necrose dos hepatócitos e depósitos de fibrina nos sinusóides periportais (Kemp et al., 1999; Eggerman & Sibai, 1999; Barton & Sibai, 1999).

Segundo a literatura, 90% das gestantes com síndrome HELLP referem mal estar geral, dor epigástrica e/ou dor no quadrante superior direito, manifestações estas associadas a náuseas e/ou vômitos em 50% dos casos (Sibai et al., 1986; Tomsen, 1995).

A morbidade e mortalidade maternas associadas à síndrome HELLP são proporcionais à gravidade da doença sistêmica, enquanto a mortalidade fetal é dependente da idade gestacional (Sibai et al., 1986; Martin Jr & Stedman, 1991).

A evolução clínica da síndrome HELLP é rápida, progressiva e de prognóstico sombrio. Assim, para a maioria dos autores, o término da gestação, independente da idade gestacional, é o melhor tratamento para cura da doença (Sibai et al., 1986; Vam Dam et al., 1989; Riely, 1994). O uso de corticosteróide tem se mostrado de grande valia na estabilização e melhora laboratorial do quadro de síndrome HELLP (Martin Jr et al., 2003). Alguns autores adotam conduta conservadora, em idade gestacional menor que 34 semanas, para melhorar o prognóstico fetal (Visser & Wallemburg, 1995).

Pelo risco da sua recorrência é obrigatório o aconselhamento das pacientes que tiveram síndrome HELLP, para que na próxima gestação iniciem o pré-natal precocemente, em serviço de

referência, durante o qual deve ser administrada aspirina como prevenção (Sullivan et al., 1994).

Esse grupo de intercorrências clínicas da gestação, que tem a anemia hemolítica microangiopática como manifestação comum, apesar de ser pouco freqüente se caracteriza pela dificuldade diagnóstica e prognóstico ruim. A identificação de alguns aspectos pode auxiliar no diagnóstico diferencial:



Diferencial das anemias hemolíticas na gravidez				
	Síndrome HELLP	PTT	SUH	FGAG
Idade gestacional	Gestação (2ª metade) + puerpério		Pós-parto	30 - 40 semanas
Hipertensão arterial	Presente	Ausente	Início abrupto (50%)	50%
Recorrência	25%	Sim	Rara	Rara
Histopatologia	<div>Depósito de fibrina + hemorragia periportal</div> <div>Trombos de plaquetas e fibrina + lesão subendotelial</div> <div>Lesão vascular dos capilares glomerulares e arteríolas renais com falência renal</div> <div>Esteatose difusa na região centro lobular</div>			
Conduta	Interrupção gestação	Plasmaférese de troca + transfusões plasmáticas	Antibiótico + diálise + restrição líquida + transfusões plasmáticas	Interrupção da gestação

*Leituras Suplementares*

## LEITURAS SUPLEMENTARES

1. Audibert F, Friedman SA, Frangieh AY et al. Clinical utility of strict diagnostic criteria for the HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets) syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175:460-4.
2. Balderston KD, Tewari K, Azizi F et al. Intrahepatic cholangiocarcinoma masquerading as the HELLP syndrome (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count) in pregnancy: case report. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179:823-24.
3. Barton JR & Sibai BM. Pregnancy and liver disease. *Clin Liver Dis* 1999; 3:31-8.
4. Bithell TC. Púrpura trombocitopênica trombótica e outras formas de destruição plaquetária não imunológica. In: Wintrobe Tratado de Hematologia. 1ª ed. Brasileira, São Paulo: Roca, 1998. p. 1488-95.
5. Cunha A. Hepatopatias e gravidez. *Femina* 2000; 28:499-505.
6. Cunningham FG, Gant NF, Leveno KJ et al. Gastrointestinal disorders. In: Cunningham FG, Gant NF, Leveno KJ et al. *Williams Obstetrics*. 21<sup>st</sup> ed.; New York: McGraw-Hill; 2001.p.1273-306.
7. Egerman RS & Sibai BM. HELLP syndrome. *Clin Obstet Gynecol* 1999; 42:381-89.
8. Foerster J. Red cell fragmentation syndromes. In: Lee GM, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM. *Wintrobe's clinical*

- hematology. 10<sup>a</sup> ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1999. vol.2, p. 1305-28.
9. Goodlin RC. Severe pre-eclampsia: another great imitator. *Am J Obstet Gynecol* 1976; 125:747-53.
  10. Halevy D, Radhakrishnan J, Markowitz G et al. Thrombotic microangiopathies. *Crit Care Clin* 2002; 18:309-20.
  11. Jesús NR, Menezes MTA, Marinho OS et al. Fígado gorduroso agudo da gravidez - falência mitocondrial materna induzida pelo feto? *Femina* 2003; 31:79-84.
  12. Kahra K, Draganov B, Sund S et al. Postpartum renal failure: a complex case with probable coexistence of hemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count, and hemolytic uremic syndrome. *Obstet Gynecol* 1998; 92:698-700.
  13. Kemp WL, Barnard JJ, Prahlow JA. Death due to thrombotic thrombocytopenic purpura in pregnancy: case report with review of thrombotic microangiopathies of pregnancy. *Am J Forensic Med Pathol* 1999; 20:189-98.
  14. Killam AP, Dillard SH, Patton RC et al. Pregnancy induced hypertension complicated by acute liver disease and disseminated intravascular coagulation. *Am J Obstet Gynecol* 1975; 123:823-8.
  15. Lesesve JF, Salignac S, Lecompte T. Diagnostic des anémies hémolytiques mécaniques: contribution de l'hémogramme. *Ann Biol Clin* 2001; 59:551-7.

16. MacKenna J, Dover NL, Brame RG. Preeclampsia associated with hemolysis, elevated liver enzymes and low platelets - an obstetric emergency? *Obstet Gynecol* 1983; 62:751-4.
17. MacLean MA, Cameron AD, Cumming GP et al. Recurrence of acute fatty liver of pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1994; 101:453-4.
18. Manual do Ministério da Saúde & FEBRASGO. Urgências e emergências maternas: Hipertensão arterial. 2000:35-47.
19. Marchioli M. Repercussões maternas e perinatais relacionadas à classificação da hipertensão arterial na gravidez. [Dissertação de Mestrado]. Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, 1999. p.126.
20. Martin Jr JN & Stedman CM. Imitators of pre-eclampsia and HELLP syndrome. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1991; 18:181-97.
21. Martin Jr JN, Blake PG, Lowry SL et al. Pregnancy complicated by preeclampsia-eclampsia with the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count: how rapid is postpartum recovery? *Obstet Gynecol* 1990; 76:737-41.
22. Martin Jr JN, Perry KG, Miles JF et al. The interrelationship of eclampsia, HELLP syndrome, and prematurity: cofactors for significant maternal and perinatal risk. *Br J Obstet Gynaecol* 1993; 100:1095-100.

23. Martin Jr JN, Thigpen BD, Rose CH, Cushman J, Moore A, May WL. Maternal benefit of high-dose intravenous corticosteroid therapy for HELLP syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189:830-4.
24. Neiger R, Contag SA, Coustan DR. The resolution of pre-eclampsia related thrombocytopenia. *Obstet Gynecol* 1991; 77:692-5.
25. Parpinelli MA, Silva JLP, Pereira BG et al. Distúrbio hipertensivo na gravidez acompanhado por síndrome HELLP. *Rev Bras Ginecol Obstet* 1994; 16:129-34.
26. Peraçoli JC, Rudge MVC, Calderon IMP et al. Síndrome HELLP recorrente: relato de dois casos. *Rev Bras Ginecol Obstet* 1998; 165-67.
27. Perosa M, Genzini T, Pandullo FL et al. Insuficiência hepática aguda da gravidez: experiência clínica com sete casos. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2001; 23:59-65.
28. Pritchard JA, Weisman R, Ratnoff OD et al. Intravascular hemolysis, thrombocytopenia and other hematologic abnormalities associated with severe toxemia of pregnancy. *N Engl J Med* 1954; 250:89-98.
29. Reyes H, Sandoval L, Wainstein A et al. Acute fatty liver of pregnancy: a clinical study of 12 episodes in 11 patients. *Gut* 1994; 35:101-6.
30. Riely CA. Hepatic disease in pregnancy. *Am J Med* 1994; 96:18s-22s.
31. Roberts WE, Perry KG, Woods JB et al. The intrapartum platelet count in patients with HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes, and low

- platelets) syndrome: is it predictive of later hemorrhagic complications? *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171:799-804.
32. Sibai BM. The HELLP syndrome (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets): much ado about nothing? *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162:311-6.
33. Sibai BM, Taslimi MM, El-Nazer A et al. Maternal perinatal outcome associated with the syndrome hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets in severe preeclampsia-eclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1986; 155:501-7.
34. Sibai BM, Ramadan MK, Chari RS et al. Pregnancies complicated by HELLP syndrome (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets): subsequent pregnancy outcome and long-term prognosis. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172:125-9.
35. Sullivan CA, Magann CF, Perry Jr KG et al. The recurrence risk of the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes and low platelets (HELLP) in subsequent gestations. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171:940-3.
36. Tomsen TR. HELLP síndrome (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets) presenting as generalized malaise. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172:1876-8.
37. Van Dam PA, Renier M, Baeckelandt M et al. Disseminated intravascular coagulation and the syndrome of hemolysis, elevated

liver enzymes, and low platelets in severe preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1989; 73:97-102.

38. Visser W, Wallenburg HCS. Temporising management of severe pre-eclampsia with and without the HELLP syndrome. *Br J Obstet Gynaecol* 1995; 102:111-7.
39. Weinstein L. Syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count: a severe consequence of hypertension in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1982; 142:159-67.



# *Capítulo II\**

## *Significado da presença de esquizócitos no sangue periférico de gestantes com pré-eclâmpsia*



# *Introdução*

## INTRODUÇÃO

Os distúrbios hipertensivos da gravidez continuam sendo causas importantes de morbidade e mortalidade, tanto materna como perinatal, destacando-se sobremaneira nos países subdesenvolvidos<sup>1</sup>.

Entre as formas de manifestação da hipertensão arterial na gestação destaca-se a pré-eclâmpsia (PE), que aparece como manifestação isolada ou superposta à hipertensão arterial crônica. Além de ser a forma mais freqüente, é a de maior risco de morte materna<sup>2</sup>.

HELLP são as iniciais usadas para descrever a condição de paciente com pré-eclâmpsia grave que apresenta hemólise (H - *hemolysis*), níveis elevados de enzimas hepáticas (EL - *elevated liver enzymes*) e contagem baixa de plaquetas (LP - *low platelets count*).

Embora descrita por alguns investigadores há muitos anos<sup>3-6</sup> essa variação da pré-eclâmpsia grave foi designada pela sigla HELLP por Louis Weinstein<sup>7</sup>, em 1982. Em sua fisiopatologia, a doença é identificada como um processo de anemia hemolítica intravascular microangiopática, que pode tornar-se bastante severa, e desenvolver graus variados de coagulação intravascular disseminada<sup>8,9</sup>.

Não existe unanimidade, na literatura, em relação aos valores dos parâmetros laboratoriais que definem a síndrome HELLP. Existe uma tendência atual, entretanto, em se adotar os conceitos propostos por Sibai<sup>10</sup> e Audibert et al.<sup>11</sup>, aceitos pelo Ministério da

Saúde<sup>12</sup> brasileiro, onde se define a hemólise como queda do hematócrito, com ocorrência de esquizócitos no esfregaço de sangue periférico, elevação da bilirrubina sérica total para níveis  $>1,2\text{mg}\%$ , e aumento da desidrogenase láctica sérica para valores  $\geq 600\text{UI/L}$ . Elevação das transaminases hepáticas é definida por valor mínimo da transaminase glutâmico-oxalacética de  $70\text{UI/L}$ . Designa-se plaquetopenia a contagem plaquetária menor que  $100.000/\text{mm}^3$ .

Os tratados de Hematologia, entretanto, definem laboratorialmente hemólise como sendo diminuição da sobrevivência dos eritrócitos, que pode resultar na queda do número dos eritrócitos sangüíneos e da hemoglobina, com ocorrência de reticulocitose no sangue periférico, elevação da bilirrubinemia indireta, elevação da desidrogenase láctica sérica e queda nos níveis da haptoglobina sérica. Quando a hemólise ocorre no compartimento intravascular, a hemoglobina liberada dos eritrócitos é excretada na urina, provocando hemoglobinúria, que pode resultar em hemossiderinúria. Quando a hemólise intravascular é do tipo mecânica, como na microangiopática verificada na síndrome HELLP, aparecem esquizócitos no sangue periférico<sup>13,14</sup>. Os mesmos tratados de Hematologia definem a contagem de plaquetas sangüíneas  $\leq 150.000/\text{mm}^3$  como plaquetopenia<sup>1</sup>.

A síndrome HELLP é a evolução extrema do espectro de alterações clínico-laboratoriais que ocorrem na pré-eclâmpsia<sup>16</sup>. Como seus sinais e sintomas são passíveis de confusão com os da pré-

eclâmpsia grave (dor epigástrica ou no quadrante superior direito, náusea e mal estar), as formas leves da síndrome HELLP podem passar despercebidas, desde que não seja feita uma adequada avaliação laboratorial. Em geral, quando se estabelece o diagnóstico de síndrome HELLP, o seu quadro costuma estar bastante avançado<sup>17</sup>.

Esta síndrome acomete de 4% a 12% das pacientes com pré-eclâmpsia grave<sup>18-27</sup>. A variação na incidência decorre da utilização de diferentes critérios diagnósticos<sup>6,10,28</sup>.

Na fisiopatologia da síndrome HELLP estão envolvidos vasoespasmo, lesão vascular, deficiência na reparação dos vasos lesados, além de mecanismos inflamatório e imunológico, em topografia de microcirculação. A lesão vascular, principal responsável pelos sinais e sintomas da síndrome, é causada principalmente por vasoespasmo<sup>29</sup>. A anemia hemolítica mecânica do tipo microangiopática, que resulta em eritrócitos fragmentados designados esquizócitos, é conseqüente à passagem dessas células pelos pequenos vasos sangüíneos constrictos, ou que sofreram lesão endotelial e da camada íntima. Em tais lesões costuma ocorrer, também, deposição de fibrina em grau variável, decorrente de ativação da cascata de coagulação, resultando no consumo dos fatores de coagulação e de fibrinogênio. Quando presentes, os depósitos de fibrina intravasculares seccionam os eritrócitos, contribuindo para a hemólise mecânica na microcirculação. Nesse contexto, perpetua-se agregação plaquetária sobre o endotélio lesado, desencadeando

plaquetopenia. Os microvasos hepáticos são particularmente vulneráveis a esse processo, na síndrome HELLP, resultando em alterações histopatológicas no fígado, caracterizadas por hemorragias periportais, com depósitos de fibrina, que se refletem na alteração das dosagens séricas da transaminase glutâmico-oxalacética<sup>29-32</sup>.

O diagnóstico e o controle de gestações complicadas por síndrome HELLP é um dos desafios atuais da prática obstétrica. Como as alterações laboratoriais progridem de modo insidioso até que as plaquetas maternas caiam abaixo de  $100.000/\text{mm}^3$ , quando ocorre rápida deterioração clínica e laboratorial, o diagnóstico precoce da síndrome torna-se bastante difícil. A literatura pertinente não oferece respaldo que permita identificar, com precisão, quais pacientes possam apresentar piora clínica, nem a melhor conduta a ser adotada, em tais casos, para se evitar maior gravidade na evolução do quadro<sup>32</sup>.

A dificuldade em se prever a evolução da síndrome HELLP, e os relatos da literatura mostrando que as alterações laboratoriais não refletem, proporcionalmente, as lesões histopatológicas do fígado, reforçam a necessidade de se investigar os casos de pré-eclâmpsia, tentando diagnosticar o início das manifestações da síndrome HELLP, para que se possa tentar impedir a sua completa instalação<sup>31</sup>.

Os parâmetros laboratoriais habitualmente analisados na síndrome HELLP (aqueles que indicam hemólise, alteração de enzimas hepáticas e plaquetopenia) alteram-se, progressivamente, na doença

instalada e em evolução. Embora os esquizócitos se formem no contexto de hemólise mecânica do tipo microangiopática, nem todos os estudos sobre síndrome HELLP efetuam análise desse parâmetro. Quando considerado, entretanto, sua avaliação se mantém apenas no aspecto qualitativo, caracterizado como presença ou ausência de tais fragmentos de eritrócitos.

Como os esquizócitos podem se originar até mesmo do vasoespasma, inclusive na ausência de depósitos de fibrina na superfície endotelial na microcirculação, o estudo desse parâmetro poderia evidenciar, antecipadamente, o comprometimento vascular na pré-eclâmpsia, podendo, supostamente, auxiliar no diagnóstico precoce da síndrome HELLP.



*Objetivos*



## OBJETIVOS

**Objetivo geral:** pesquisar a presença de esquizócitos em esfregaços de sangue periférico de gestantes com pré-eclâmpsia, avaliando o significado clínico do achado.

**Objetivos específicos:**

1. Identificar e quantificar a presença de esquizócitos em esfregaços de sangue periférico de gestantes com pré-eclâmpsia.
2. Correlacionar a presença de esquizócitos com a gravidade da pré-eclâmpsia, com a proteinúria e com a dosagem sérica da transaminase glutâmico-oxalacética.
3. Avaliar o significado clínico da presença de esquizócitos em tais pacientes, confrontando seu achado com alguns outros marcadores de hemólise microangiopática (dosagem de hemoglobina, contagem de reticulócitos, dosagem de bilirrubina sérica total, dosagem de desidrogenase láctica sérica e contagem de plaquetas).



# *Sujeitos e Métodos*

## SUJEITOS E MÉTODOS

### 1. Desenho do estudo

Foi realizado um estudo transversal, prospectivo, analítico e comparativo.

### 2. Tamanho amostral

O tamanho amostral foi calculado considerando-se a incidência de 12% de síndrome HELLP em pré-eclâmpsia grave, havendo necessidade de 76 casos.

### 3. Seleção dos sujeitos

Fizeram parte do estudo gestantes ou parturientes com diagnóstico de pré-eclâmpsia leve ou grave, internadas na Maternidade do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

### 4. Critérios de inclusão

Ser gestante ou parturiente, com feto único e diagnóstico de pré-eclâmpsia, sem doença cardíaca, ou de grandes ou pequenos vasos, nem qualquer outra condição clínica adicional que pudesse ocasionar hemólise intravascular do tipo mecânica.

## 5. Conceitos

- Hipertensão arterial - valor de pressão arterial sistólica  $\geq 140\text{mmHg}$  e/ou pressão arterial diastólica  $\geq 90\text{mmHg}$ <sup>33</sup>.
- Pré-eclâmpsia – condição clínica de toda gestante sem antecedente de hipertensão arterial, que se manteve normotensa até a 20<sup>a</sup> semana de gestação e que, após tal idade gestacional, manifestou hipertensão arterial associada a proteinúria<sup>33</sup>.
- Pré-eclâmpsia grave – designada quando uma ou mais das seguintes condições estiverem presentes: pressão arterial  $\geq 160 \times 110\text{mmHg}$ , confirmada em pelo menos duas medidas, em intervalo de quatro horas; proteinúria de pelo menos 2g, em urina de 24 horas; sintomas de eclâmpsia iminente (alterações do sistema nervoso central: cefaléia, obnubilação, torpor, alteração de comportamento; alterações visuais: escotomas, fosfenas, turvação visual, perda da visão; alterações gástricas: náuseas, vômitos, dor no hipocôndrio direito ou epigástrica); eclâmpsia: crise convulsiva; síndrome HELLP; oligúria: diurese  $< 600\text{mL}$  em 24 horas; cianose; edema agudo de pulmão; restrição de crescimento intra-uterino<sup>33</sup>.
- Síndrome HELLP: *Hemolysis, Elevated Liver enzymes, and Low Platelets count*: Adotamos a definição laboratorial de hemólise intravascular microangiopática utilizada nos tratados de Hematologia (diminuição da sobrevivência dos eritrócitos, que pode resultar na queda da hemoglobina e do número dos eritrócitos sangüíneos, com reticulocitose

no sangue periférico, elevação da bilirrubinemia indireta, elevação da desidrogenase láctica sérica e queda nos níveis da haptoglobina sérica<sup>13,14</sup>. Com ocorrência de hemólise no compartimento intravascular, a hemoglobina liberada dos eritrócitos pode ser excretada na urina, determinando hemoglobinúria que, por sua vez, pode resultar em hemossiderinúria<sup>13,14</sup>. Hemólise intravascular do tipo mecânica, como na microangiopática verificada na síndrome HELLP, leva à formação de esquizócitos no sangue periférico<sup>13-15</sup>. Considerou-se hemoglobina menor que 11g/dL, como anemia na gestação<sup>12</sup>. Reticulocitose relativa foi considerada para valores de reticulócitos maiores que 1,5% e contagem de reticulócitos maior que 120.000/mm<sup>3</sup> foi considerada reticulocitose absoluta<sup>15</sup>. Devido a impossibilidade técnica para se dosar a bilirrubina indireta, dosou-se a bilirrubina total das pacientes, considerada aumentada quando apresentou valor maior que 1,2mg%. Também por dificuldades técnicas, não foram determinadas as dosagens de haptoglobina sérica, nem pesquisadas as presenças de hemoglobinúria ou hemossiderinúria, no presente estudo. Considerou-se aumento da desidrogenase láctica sérica os valores  $\geq 600$ UI/L. Esquizócitos foram definidos como eritrócitos fragmentados, observados no esfregaço de sangue periférico, com morfologia irregular, ou na forma capacete, de mordida ou de triângulo<sup>14,34</sup>. Foram considerados aumentados quando presentes em número  $\geq 0,2\%$  dos eritrócitos analisados<sup>35</sup>. Contagem de plaquetas sangüíneas  $\leq 150.000/\text{mm}^3$  foi definida como plaquetopenia<sup>15</sup>. A

elevação das enzimas hepáticas foi definida como transaminase glutâmico-oxalacética  $\geq 70 \text{ UI/L}$ <sup>33</sup>.

- Proteinúria – dosagem de proteínas urinárias  $\geq 300 \text{ mg}$ , em urina de 24 horas<sup>33</sup>.

## 6. Variáveis

Para todas as gestantes foram obtidos os seguintes dados: idade, idade gestacional no momento da coleta dos exames laboratoriais, valor da hemoglobina, contagem de reticulócitos, contagem de plaquetas, contagem de esquizócitos em esfregaço de sangue periférico, valor da bilirrubina sérica total, valor da desidrogenase láctica, valor da proteinúria de 24 horas e da transaminase glutâmico-oxalacética.

## 7. Dosagens laboratoriais

**7.1. Hemoglobina, reticulócitos e plaquetas:** a dosagem de hemoglobina (g/dL), a contagem de reticulócitos (número relativo em % e número absoluto por  $\text{mm}^3$ ) e de plaquetas ( $\text{mm}^3$ ) foram estabelecidas no Laboratório de Rotina Hematológica do Hemocentro, do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, utilizando-se o contador automático Pentra 120 Retic, da ABX-Horiba.

**7.2. Bilirrubina sérica total:** a dosagem (mg/dL) foi feita pelo método de química seca, no equipamento Vitros® da Johnson & Johnson, no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

**7.3. Desidrogenase láctica:** a dosagem (UI/L) foi feita pelo método de química seca, no equipamento Vitros® da Johnson & Johnson, no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

**7.4. Proteinúria:** a dosagem (mg) foi determinada em urina de 24 horas, pelo método de reação colorimétrica vermelho de Pirogalol, no equipamento Vitros® da Johnson & Johnson no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

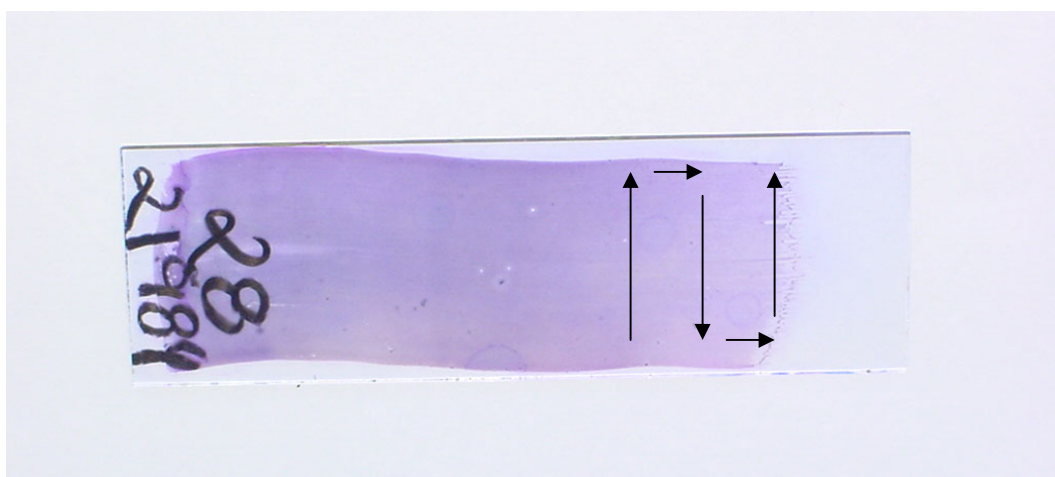
**7.5. Transaminase glutâmico-oxalacética:** a dosagem (UI/L) foi feita pelo método de química seca, no equipamento Vitros® da Johnson & Johnson, no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

## **8. Contagem dos esquizócitos**

A contagem de esquizócitos foi feita em esfregaços de sangue periférico, confeccionados em lâmina de vidro para microscopia, no ato da coleta do hemograma. Lâminas previamente imersas em álcool absoluto foram limpas e secas, sendo realizados esfregaços sobre as mesmas, utilizando-se uma gota de sangue periférico isento de anticoagulante, em cada lâmina. Após secagem ao ar livre, os esfregaços foram submetidos à coloração com corante Leishman a 1,5%. A seguir, as

lâminas foram arquivadas até a análise citológica (uma lâmina para cada paciente).

As lâminas contendo o esfregaço de sangue periférico, coradas, foram submetidas à escolha dos campos citológicos, selecionados por um único pesquisador, no terço distal do esfregaço corado, onde os eritrócitos não se encontravam sobrepostos (Figura 1).



**Figura 1.** Lâmina corada contendo esfregaço de sangue periférico, com barra grega na porção terminal (sentido da leitura)

Em cada lâmina foram selecionados 10 campos, com aproximadamente 100 eritrócitos cada, em microscópio marca Leica, modelo DLMB, em objetiva para aumento de 40x, totalizando cerca de 1.000 eritrócitos para análise, para cada paciente. O microscópio era dotado de software Qwin Lite 2.5, que permitia gravar as imagens dos



campos escolhidos em CD-Rom, para análise citológica posterior, realizada por citologista experiente, em microcomputador Pentium 4, utilizando o programa Photo Editor do Windows XP.

Em cada lâmina, o número de esquizócitos foi calculado como percentual dos eritrócitos analisados, utilizando-se 0,2% como ponto de corte entre artefato ( $<0,2\%$  de esquizócitos) e não artefato ( $\geq 0,2\%$  de esquizócitos).

## **9. Análise estatística**

Para análise estatística foi utilizado o programa Statistical Package in Social Science para Windows (SPSS Inc, Chicago) versão 10.0.

## **10. Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa**

O projeto foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, tendo recebido parecer favorável em 08 de abril de 2002.



*Resultados*

## RESULTADOS

Foram incluídas, no estudo, 76 lâminas de esfregaços de sangue periférico de gestantes portadoras de pré-eclâmpsia.

As características demográficas da população estudada se encontram na Tabela 1, onde verificamos predomínio de gestantes com faixa etária entre 19 e 34 anos, de cor branca e nulíparas.

**Tabela 1.** Características demográficas da população de gestantes portadoras de pré-eclâmpsia

Características		N	%
Faixa etária (anos)	< 19	18	23,7
	19 – 34	47	61,8
	> 34	11	14,5
Cor	Branca	72	94,7
	Não-branca	4	5,3
Paridade	Nulípara	55	72,4
	Múltipara	21	27,6

Trinta e uma (40,8%) gestantes apresentavam pré-eclâmpsia grave e 45 (59,2%), pré-eclâmpsia leve.

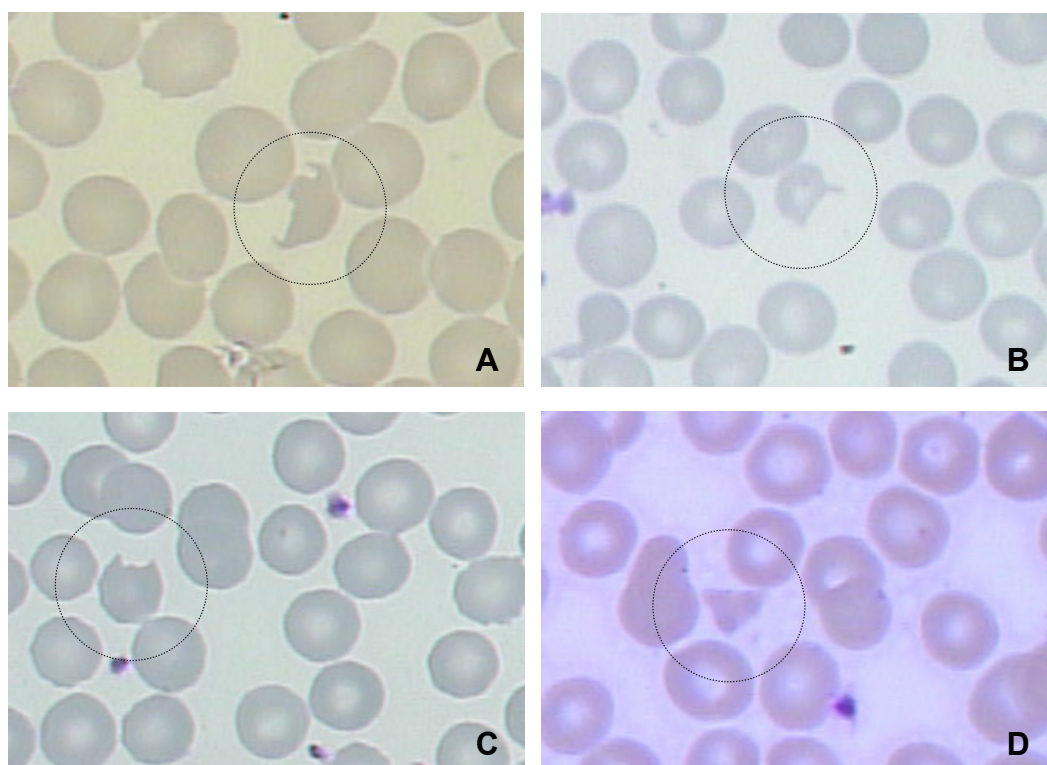
Na Tabela 2, encontram-se expressos o valor médio e o desvio padrão dos parâmetros laboratoriais avaliados na população estudada, estratificada segundo presença de esquizócitos em número  $\geq 0,2\%$  e  $< 0,2\%$ . Nenhum dos parâmetros laboratoriais analisados mostrou diferença significativa, quando comparadas as gestantes estratificadas segundo o percentual de esquizócitos.

**Tabela 2.** Média e desvio padrão dos parâmetros laboratoriais avaliados nas 76 gestantes portadoras de pré-eclâmpsia, estratificadas segundo presença de esquizócitos em número  $\geq 0,2\%$  e  $< 0,2\%$

Parâmetro laboratorial	Total	Esquizócitos $\geq 0,2\%$	Esquizócitos $< 0,2\%$
Hemoglobina (g/dL)	$11,7 \pm 1,4$	$11,1 \pm 1,1$	$12,0 \pm 1,5$
Reticulócitos (%)	$1,95 \pm 0,69$	$2,10 \pm 0,78$	$1,89 \pm 0,65$
Reticulócitos (valor absoluto/mm <sup>3</sup> )	$68.750 \pm 38.737$	$65.988 \pm 48.428$	$70.025 \pm 33.820$
Bilirrubina total (mg/dL)	$0,28 \pm 0,16$	$0,28 \pm 0,17$	$0,28 \pm 0,16$
Desidrogenase láctica (UI/L)	$240 \pm 128$	$235 \pm 118$	$242 \pm 134$
Plaquetas ( $\times 10^3 / \text{mm}^3$ )	$209 \pm 54$	$222 \pm 55$	$203 \pm 52$
Transaminase glutâmico-oxalacética *	18	16	19
(UI/L)	( 4 – 164 )	( 6 – 164 )	( 4 – 85 )
Proteinúria *	810	1.100	780
(mg / 24 horas)	( 300-18.600 )	( 300-18.600 )	( 300-10.800 )

\* Valor expresso em mediana, com valores mínimo e máximo entre parênteses.

Na estratificação da população de gestantes portadoras de pré-eclâmpsia, segundo o percentual de esquizócitos no esfregaço de sangue periférico, encontrou-se valor  $\geq 0,2\%$  em 24 (31,6%). Em 52 (68,4%) casos o percentual foi  $< 0,2\%$ . Nas 52 gestantes com esquizócitos  $< 0,2\%$ , o percentual variou de 0 a 0,19%, com média de 0,07%. Nas 24 gestantes com esquizócitos  $\geq 0,2\%$ , a variação do percentual encontrado foi de 0,22 a 1,07%, com média de 0,38%. Os tipos de esquizócitos observados, nos dois grupos, caracterizados como fragmentos irregulares, em forma de capacete, de mordida ou triangulares, encontram-se exemplificados na Figura 2 (A, B, C, D).



**Figura 2.** Esquizócitos observados em esfregaços de sangue periférico nas gestantes portadoras de pré-eclâmpsia, no presente estudo (A =

fragmento irregular; B = capacete; C = mordida; D = triângulo)

Os dois grupos de gestantes foram analisados em relação à gravidade da pré-eclâmpsia e ao valor da proteinúria de 24 horas, e em relação a parâmetros laboratoriais indicadores de hemólise intravascular microangiopática (concentração da hemoglobina, número relativo e absoluto de reticulócitos, concentração da bilirrubina sérica total, concentração sérica da desidrogenase láctica, concentração sérica da transaminase glutâmico-oxalacética e contagem de plaquetas). Os resultados observados encontram-se na Tabela 3. Nenhum dos parâmetros laboratoriais analisados mostrou diferença significativa, quando comparadas as gestantes estratificadas segundo o percentual de esquizócitos.

**Tabela 3.** Análise da gravidade da pré-eclâmpsia e quantificação de parâmetros laboratoriais das 76 pacientes gestantes, segundo estratificação quanto à quantidade de esquizócitos presentes no sangue periférico das mesmas

Parâmetros	Valores	Esquizócitos			
		≥ 0,2%		< 0,2%	
		n	%	n	%
Classificação da pré-eclâmpsia	Grave	12	50,0	19	36,5
	Leve	12	50,0	33	63,5
Proteinúria 24hs	≥ 2g	08	33,3	17	32,7
	< 2g	16	66,7	35	67,3
Transaminase glutâmico-oxalacética	≥ 70UI/L	01	4,2	02	3,9
	< 70UI/L	23	95,8	50	96,1
Hemoglobina	< 11g/dL	10	41,7	14	26,9
	≥ 11g/dL	14	58,3	38	73,1
Reticulócitos (número relativo)	≥ 1,5%	13	72,2	34	73,9
	< 1,5%	05	27,8	12	26,1
Reticulócitos (número absoluto)	≥ 120.000/mm <sup>3</sup>	02	11,1	2	4,3
	< 120.000/mm <sup>3</sup>	16	88,9	45	95,7
Bilirrubina total	≥ 1,2mg%	0	---	0	---
	< 1,2mg%	24	100,0	52	100,0
Desidrogenase Láctica	≥ 600 UI/L	01	4,2	01	1,9
	< 600 UI/L	23	95,8	51	98,1
Contagem de plaquetas	< 150.000/mm <sup>3</sup>	01	4,2	08	15,4
	≥ 150.000/mm <sup>3</sup>	23	95,8	44	84,6





*Discussão*

## DISCUSSÃO

Quando Weinstein<sup>7</sup>, em 1982, definiu a síndrome HELLP, o H do acrônimo representava hemólise, ou seja, caracterizava a anemia hemolítica intravascular microangiopática da entidade clínica. Nesse estudo, o diagnóstico foi confirmado pelo exame de esfregaços de sangue periférico das gestantes, nos quais se observavam eritrócitos crenados, contraídos ou distorcidos, *burr cells* (eritrócitos contraídos, com espículas regularmente distribuídas em sua superfície) e/ou fragmentos de eritrócitos, pequenos e com forma irregular (esquizócitos), além da verificação de policromasia (basofilia verificada nos eritrócitos circulantes que, geralmente, correspondem a reticulócitos). Dos 29 casos de pré-eclâmpsia analisados pelo autor, 28 apresentavam tais anormalidades no esfregaço de sangue periférico.

Estudos subseqüentes sobre síndrome HELLP, entretanto, nem sempre valorizaram as alterações morfológicas dos eritrócitos no esfregaço de sangue periférico das pacientes. Numa amostragem de 52 trabalhos sobre essa entidade clínica, apenas 18 incluíram análise de esquizócitos na avaliação da hemólise, assim designando os achados citológicos: presença de esquizócitos (fragmentos de eritrócitos), de *burr cells* (também chamados de equinócitos), de poiquilocitose (variação na forma dos eritrócitos que, por definição, inclui as formas anteriormente citadas), de anisocitose (variação no tamanho dos eritrócitos), e de policromasia<sup>36</sup>; presença de eritrócitos triangulares,

de equinócitos ou *burr cells*, e de esferócitos<sup>10</sup>; presença de células em forma de capacete<sup>37</sup>; e, simplesmente, presença de esquizócitos<sup>38-40</sup>.

Segundo Foerster<sup>41</sup>, os esquizócitos presentes nas síndromes de fragmentação de eritrócitos, e que as diferenciam de outras anemias hemolíticas adquiridas, podem ter a forma de crescente, de capacete, de triângulo ou de microesferócito.

Lesesve et al.<sup>34</sup>, salientam que a quantificação precisa de esquizócitos é, realmente, difícil de ser estabelecida, devido a ausência de definição adequada para caracterizá-los, que permita padronização na sua identificação. Reforçam, também, que não existe consenso quanto à metodologia a ser utilizada para se efetuar sua enumeração, que vai desde a padronização da região do esfregaço onde a contagem deva ser estabelecida, até o número total de eritrócitos que devem ser analisados. Acrescente-se a isso a dificuldade em se selecionar campos com quantidade homogênea de eritrócitos, bem como o grau de experiência do observador em identificar e contar esquizócitos. Fundamentados nessas incertezas, os autores acima submeteram um questionário e lâminas de esfregaços de sangue periférico de pacientes hospitalizados, à análise por parte de grupo de especialistas e de não-especialistas em citologia hematológica, para que definissem os esquizócitos e os contassem. Não houve unanimidade na definição de esquizócitos. Para 100% dos especialistas, entretanto, os eritrócitos em capacete foram considerados como esquizócitos, sendo os eritrócitos crenados rejeitados por 100%

deles. Os eritrócitos triangulares também foram considerados esquizócitos por 90% dos especialistas. Outras formas, entretanto, foram alvo de controvérsias. No geral, houve concordância de respostas, em mais de 3/4 dos participantes, em se identificar como esquizócitos, os eritrócitos em forma de capacete, de mordida ou de triângulo e, em não se identificar como esquizócitos, os eritrócitos crenados ou espiculados.

Num estudo conduzido por Salignac et al.<sup>42</sup>, lâminas de esfregaços de sangue periférico foram analisadas em diferentes áreas, para contagem de esquizócitos, a saber: a área rotineiramente utilizada para contagem diferencial de leucócitos, onde os eritrócitos, geralmente, não se sobrepõem; a área próxima da cauda da distensão, na qual os eritrócitos tendem a apresentar orientação linear; a porção mais fina do esfregaço, com separação de traços sangüíneos. Observou-se que os esquizócitos típicos não se distribuíam igualmente em todo o esfregaço, tendendo a mudar de tamanho e de forma ao longo da distensão. Próximo ao final do esfregaço, muitos esquizócitos se transformavam em células irregularmente contraídas ou em microesferócitos, enquanto a porção mais caudal do mesmo continha, unicamente, microesferócitos. Os autores enfatizam a dificuldade em se identificar os esquizócitos e os microesferócitos, dessa vez, devido à distribuição heterogênea dos mesmos ao longo do esfregaço.

Além de toda a dificuldade metodológica para se contar esquizócitos, acima exposta, Pincus<sup>43</sup> também sugere que, em pacientes

com função esplênica normal, o baço poderia desenvolver sua função de remodelação celular rapidamente, removendo os eritrócitos anormais da circulação, antes que os mesmos pudessem ser observados no sangue periférico.

Assim, com tantas morfologias de eritrócitos incluídas sob a denominação de esquizócitos, e com tantas outras variáveis interferindo na sua identificação e enumeração, a literatura menciona percentuais bastante variados (16,1% a 96,6%) desse achado, em distensões sangüíneas de pacientes com pré-eclâmpsia<sup>7,37,40,44</sup>.

No presente estudo, onde todas as gestantes eram portadoras de pré-eclâmpsia e os esquizócitos foram identificados como fragmentos irregulares de eritrócitos, ou como eritrócitos em forma de capacete, de mordida, ou de triângulo, em apenas 31,6% dos esfregaços de sangue periférico, o percentual desse achado foi  $\geq 0,2$ . Isto significou a presença de, pelo menos, três esquizócitos em 1.000 eritrócitos analisados, sendo que o maior número encontrado foi 11 esquizócitos em 1.000 eritrócitos, num um único caso. Nenhum trabalho da literatura obstétrica, que inclui a presença de esquizócitos no diagnóstico de hemólise microangiopática, menciona a quantificação de tais células, fazendo apenas referência a sua presença ou ausência. Assim, a todas as dificuldades anteriormente expostas, quanto a metodologia de se analisar a presença de esquizócitos, soma-se a de não dispormos de referencial quantitativo de tais células, naqueles estudos nos quais foram

observadas. O assunto causa polêmica e permite, inclusive, questionamento a cerca do real significado da presença de tais células em distensões sangüíneas de gestantes com pré-eclâmpsia.

É sabido que, num contexto patológico, os esquizócitos se formam nas hemólises mecânicas intravasculares associadas a anormalidades do coração, ou a patologias de grandes ou de pequenos vasos. As patologias de pequenos vasos, designadas microangiopatias, nas quais se observa a anemia hemolítica intravascular microangiopática, incluem várias condições clínicas como a síndrome hemolítico-urêmica, a púrpura trombocitopênica trombótica, os carcinomas disseminados, tratamento quimioterápico, hipertensão arterial maligna, coagulação intravascular disseminada, infecções, hemangiomas, e complicações da gestação, como a púrpura trombocitopênica trombótica da gravidez, a síndrome hemolítico-urêmica pós-parto, a pré-eclâmpsia e a síndrome HELLP<sup>41</sup>. De todas as condições acima, as pacientes do presente estudo apresentavam apenas a pré-eclâmpsia, como possível causadora de esquizócitos na circulação. Na pré-eclâmpsia, a fragmentação de hemácias decorre de vasoconstrição e/ou de lesão vascular em órgãos como rins e fígado, provocadas pela própria hipertensão, que podem culminar na deposição local de fibrina que, por sua vez agrava a hemólise mecânica<sup>41,45-47</sup>. Desde que haja fragmentação dos eritrócitos, e que estes sejam observados em número maior do que aquele definido como limite superior do que é considerado artefato, parece revelar-se um

contexto hemolítico, e espera-se que outros parâmetros indicadores de hemólise estejam concomitantemente alterados. Espera-se, ainda, que as gestantes supostamente em hemólise, pertençam principalmente ao grupo de pré-eclâmpsia grave. No presente estudo, entretanto, apresentar esquizócitos  $\geq 0,2\%$  não significou ter hemolisado, nem preencher critérios para maior gravidade da pré-eclâmpsia, nem ter o fígado como alvo de microangiopatia. Não houve correlação entre quantidade aumentada de esquizócitos e quaisquer dos parâmetros analisados, incluindo aqueles que definem laboratorialmente a hemólise. Sibai<sup>10</sup> recomenda que, na presença de esquizócitos em esfregaços de sangue periférico, haja a concomitante necessidade de alteração de bilirrubinas e da desidrogenase láctica séricas, para o diagnóstico de hemólise. Na população estudada nenhum caso apresentou aumento de bilirrubina total, o que leva a inferir que, embora não tenhamos dosado a bilirrubina indireta, seu valor também estivesse normal em todas as gestantes. Em apenas dois casos o valor da desidrogenase láctica foi maior que 600UI/L, sendo que um deles não apresentava esquizócitos e outro apresentava quatro esquizócitos em 1.000 eritrócitos, sem outras alterações.

Segundo Curtin & Weinstein<sup>48</sup>, embora os parâmetros laboratoriais relacionados à hemólise, analisados neste estudo, possam ser úteis no diagnóstico de lise de eritrócitos, nenhum deles mostra-se específico para essa condição clínica. Os autores citam que o marcador mais sensível da hemólise parece ser a dosagem da haptoglobina sérica,

já que redução dos seus níveis têm sido observada em todos os casos de síndrome HELLP<sup>44,49</sup>. Tal parâmetro, entretanto, não foi estudado no presente trabalho. Para Lesesve et al.<sup>35</sup>, a dosagem de haptoglobina e a contagem de reticulócitos são os parâmetros mais sensíveis na vigência de quadros hemolíticos. Determinamos a contagem de reticulócitos, tanto a relativa quanto a absoluta, no presente estudo, e também não verificamos correlação com a quantidade de esquizócitos circulantes.

Considerando-se a fisiopatologia da hemólise microangiopática, talvez pudéssemos pensar que os esquizócitos se constituíssem em manifestação precoce do quadro, podendo anteceder a alteração dos demais parâmetros laboratoriais analisados, particularmente, por se tratar de lise parcial dos eritrócitos, com menor extravasamento do conteúdo celular do que aquele que ocorre nas hemólises que lisam totalmente os eritrócitos.

Todas as dificuldades técnicas para a contagem de esquizócitos, tão propagadas na literatura, nos faz crer, entretanto, que mais trabalhos sejam conduzidos, com grande rigor metodológico, para que conclusões definitivas possam ser alcançadas.





*Conclusões*

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos, através da avaliação do esfregaço de sangue periférico de gestantes portadoras de pré-eclâmpsia, permitem as seguintes conclusões:

- Esquizócitos foram encontrados, em percentual maior do que o estabelecido como artefato, em 31,6% das gestantes.
- A presença de esquizócitos, em percentual maior do que o estabelecido como artefato, não apresentou correlação com a gravidade da pré-eclâmpsia.
- A presença de esquizócitos, em percentual maior do que o estabelecido como artefato, não apresentou correlação com outros marcadores de hemólise.
- A presença de esquizócitos, em percentual maior do que o estabelecido como artefato, não apresentou correlação com os níveis séricos de transaminase glutâmico-oxalacética.



*Resumo*

## RESUMO

A presença de esquizócitos em esfregaço de sangue periférico é um dos parâmetros da definição de hemólise. Entretanto, essas células não são incluídas em todos os trabalhos da literatura e, entre os pesquisadores que as valorizam não há padronização quanto suas características, ao método de contagem, a região do esfregaço para a leitura e o número total de eritrócitos analisados.

Objetivos: avaliar o significado da presença de esquizócitos em esfregaço de sangue periférico de gestantes com pré-clâmpsia, identificando-os e correlacionando-os com outros marcadores de hemólise, com a gravidade da doença e com outros marcadores da mesma.

Sujeitos e métodos: foram avaliadas 76 lâminas de esfregaço de sangue periférico de gestantes portadoras de pré-eclâmpsia. Após a realização do esfregaço as lâminas foram submetidas ao corante de Leishman e armazenadas até a leitura, feita em microscópio modelo DLMB da marca Leica, com aumento de 40x e imersão em óleo. O microscópio era dotado de software Qwin Lite 2,5, que permitia gravar as imagens dos campos escolhidos em CD Rom. Em cada lâmina foram contados 10 campos com aproximadamente 100 eritrócitos. Foi considerada presença de esquizócitos quando a porcentagem dos mesmos era igual ou maior que 0,2%. A presença de esquizócitos foi correlacionada com outros marcadores de hemólise (hemoglobina, bilirrubina total, desidrogenase

lática e reticulócitos), marcadores da pré-eclâmpsia (proteinúria e número de plaquetas) e a gravidade da pré-eclâmpsia.

Resultados e conclusões: os esquizócitos estiveram presentes em 31,6% das gestantes com pré-eclâmpsia, sendo que na maioria (75%) dos esfregaços de sangue havia três ou quatro esquizócitos. Não houve correlação entre a presença de esquizócitos e outros marcadores de hemólise, marcadores da pré-eclâmpsia e a gravidade da doença.



# *Abstract*

## ABSTRACT

Schistocytes found on peripheral blood smear are one of the parameters of hemolysis diagnosis. However, these cells aren't considered in all researches and, among the researchers that value the schistocytes there isn't agreement on the characteristics, counting method, the place on the slide where the cells are counted, and the total number of blood cells that are analyzed.

Objective: to analyze the presence of schistocytes on peripheral blood smear of pre-eclamptic women, identifying and correlating the schistocytes with other hemolysis and pre-eclampsia markers, and disease severity.

Patients and methods: 76 peripheral blood smears of pre-eclamptic women were analyzed. The peripheral blood smears were submitted to the Leishman dye and analyzed in microscope Leica DLMB model connected to a Qwin Lite 2.5 software. So, it was possible to record the images on a CD rom. One thousand blood cells were counted and schistocytes were considered when there was at least 0.2% of this kind of cells. Schistocytes were correlated with other hemolysis markers (hemoglobin, total bilirubin, lactate dehydrogenase and reticulocytos), correlating with pre-eclampsia markers (proteinuria and platelets number) and, with pre-eclampsia severity.

Results and conclusions: schistocytes were present in 31.6% of the pre-eclamptic women and, in the majority (75%) of peripheral blood smears

there were 3 or 4 schistocytes. It was not observed association between the schistocytes and other hemolysis or pre-eclampsia markers, and not even the disease severity.





## *Referências Bibliográficas*

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wallenburg HCS, Visser W. Pregnancy-induced hypertension disorders. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1994; 6:19-29.
2. Duley L. Maternal mortality associated with hypertensive disorders of pregnancy in Africa, Asia, Latin America and the Caribbean. *Br J Obstet Gynaecol* 1992; 99:547-53.
3. Pritchard JA, Weisman Jr R, Tarnoff OD, Vosburg GJ. Intravascular hemolysis, thrombocytopenia and hematologic abnormalities associated with severe toxemia of pregnancy. *N Engl J Med* 1954; 250:89-98.
4. McKay DG. Hematologic evidence of disseminated intravascular coagulation in eclampsia. *Obstet Gynecol Surv* 1972; 27:399-417.
5. Killam AP, Dillard SH, Patton RC, Pederson PR. Pregnancy-induced hypertension complicated by acute liver disease and disseminated intravascular coagulation. *Am J Obstet Gynecol* 1975; 123:823-8.
6. Goodlin RC. Severe preeclampsia: another great imitator. *Am J Obstet Gynecol* 1976; 125:747-53.
7. Weisntein L. Syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count: a severe consequence of hypertension in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1982; 142:159-67.

8. Oian P, Maltau JM, Abyholm T. HELLP syndrome – a serious complications of hypertension in pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1984; 63:727-9.
9. Van Dam PA, Renier M, Baekelandt M, Buytaert P, Uytenbroeck F. Disseminated intravascular coagulation and the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets in severe preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1989; 73:97-102.
10. Sibai BM. The HELLP syndrome (hemolysis, elevated liver enzymes and low platelets): much ado about nothing? *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162:311-6.
11. Audibert F, Friedman AS, Frangieh AY, Sibai BM. Clinical utility strict diagnostic criteria for the HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets) syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175:460-4.
12. Brasil. Ministério da Saúde. Síndrome HELLP. In: *Gestação de Alto Risco: manual técnico*. 3<sup>a</sup>. edição. Brasília: Ministério da Saúde, 2000; 30-2.
13. Costa FF. Síndrome hemolítica. Fisiopatologia e Clínica. Classificação. In: Zago MA, Falcão RP, Paquini R. *Hematologia. Fundamentos e prática*. 1<sup>a</sup>. ed. São Paulo: Atheneu, 2001. p.241-8.
14. Lee GR. Hemolytic disorders: general considerations. In: Lee GM, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM. *Wintrobe's clinical hematology*. 10a. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1999. vol.2, p.2738-48.

15. Perkins SL. Normal blood and bone marrow. Values in human. In: Lee GM, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM. Wintrobe's clinical hematology. 10a. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1999. vol.1, p.1109-31.
16. MacMahon LP, O'Coigh S, Redman CW. Hepatic enzymes and the HELLP syndrome: a long-standing error? Br J Obstet Gynaecol 1993; 100:693-5.
17. Martín Jr JN, Blake PG, Perry Jr KG, McCaul JF, Hess LW, Martín RW. The natural history of HELLP syndrome: patterns of disease progression and regression. Am J Obstet Gynecol 1991; 164:1500-13.
18. MacKenna J, Dover NL, Brame RG. Preeclampsia associated with hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets – an obstetric emergency? Obstet Gynecol 1983; 62:751-4.
19. Thiagarajah S, Bourgeois FJ, Harbert GM, Caudle MR. Thrombocytopenia in preeclampsia: associated abnormalities on management principles. Am J Obstet Gynecol 1984; 150:1-7.
20. Pillay M, Moodley J. The HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes, low platelets count) syndrome in severe hypertensive crises of pregnancy – does it exist? S Afr Med J 1985; 67:246-8.
21. Sibai BM, Talism MM, El-Nazer A, Amon E, Mabie BC, Ryan GM. Maternal-perinatal outcome associated with the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets in severe preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 1986; 155:501-9

22. Romero R, Mazor M, Lockwood CJ, Emamian M, Belanger KP, Hobbins JC, Duffy T. Clinical significance, prevalence, and natural history of thrombocytopenia in pregnancy induced hypertension. *Am J Perinatol* 1989; 6:32-6.
23. Roberts WE, Perry KG, Woods JB, Files JC, Blake PG, Martin Jr JN. The intrapartum platelets count in patients with HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets) syndrome: is it predictive of later hemorrhagic complications? *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171:799-804
24. Takiuti NH, Kahhale S, Carrara W, Alves EA, Zugaib M. Síndrome HELLP – resultados materno-fetais. *Rev Latin Perinat* 1994; 14:13-9.
25. Williams KP, Wilson S. Ethnic variation in the incidence of HELLP syndrome in a hypertensive pregnant population. *J Perinat Med* 1997; 25:498-501.
26. Santos LC, Cardoso MP, Carvalho MA, Porto AMF, Azevedo EB, Mesquita C. HELLP síndrome. *GO Atual* 1997; 10:20-9.
27. Marchioli M. Repercussões maternas e perinatais relacionadas à classificação da hipertensão arterial na gravidez [Dissertação de Mestrado]. Botucatu (SP); Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP; 1999.
28. Chandran R, Serra-Serra V, Redman CW. Spontaneous resolution of pre-eclampsia related thrombocytopenia. *Br J Obstet Gynaecol* 1992; 99:887-90.

29. Magann EF, Martin Jr JN. Twelve steps to optimal management of HELLP syndrome. *Clin Obstet Gynecol* 1999; 42:532-50.
30. Bull BS, Rubenberg ML, Cacie JV, Brain MC. Microangiopathic haemolytic anaemia: mechanisms of red-cell fragmentation in vitro studies. *Br J Haematol* 1968; 14:643-52.
31. Barton JR, Tiely CA, Adamec TA, Shanklin DR, Khoury AD, Sibai BM. Hepatic histopathologic condition does not correlate with laboratory abnormalities in HELLP syndrome (hemolysis elevated liver enzymes, and low platelet count). *Am J Obstet Gynecol* 1992; 167:1538-43.
32. Maggan EF, Roberts WE, Perry Jr KG, Chauhan SP, Blake PG, Martin Jr JN. Factors relevant to mode of preterm delivery with syndrome of HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets). *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170:1828-34.
33. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183:S1-S22.
34. Lesesve JF, Salignac S, Lecompte T. Schizocytes: quelle définition retenir et quelle méthodologie utiliser pour les identifier et les compter? Résultats d'une enquête auprès de 24 biologistes. *Ann Biol Clin* 2001; 59:49-52.
35. Lesesve JF, Salignac S, Lecompte T. Diagnostic des anémies hémolytiques mécaniques: contribution de l'hémogramme. *Ann Biol Clin* 2001; 59:551-7.

36. Morris MW, Davey FR. Basic examination of blood. In: Henry JB editor. Clinical diagnosis and management by laboratory methods. 19<sup>th</sup> ed., Philadelphia: WB Saunders & Co; 1996. p.579.
37. Kitzmiller JL, Captain JEL, Yelenosky PF, Lucas WE. Hematologic assays in pre-eclampsia. Am J Obstet Gynecol 1974; 118:362-7.
38. Cunningham GF, Lowe T, Guss S, Mason R. Erythrocyte morphology in women with severe preeclampsia and eclampsia. Preliminary observations with scanning electron microscopy. Am J Obstet Gynecol 1985; 153:358-63.
39. Nicoloso E, D'ercole C, Cassel N, Azoulay P, Cravello L, Boubli L, Blanc B. Formes graves de l'hypertension artérielle gravidique. Rev Fr Gynécol Obstét 1994; 89:476-88.
40. Vasconcellos M, Vianna MAL, Rocco R. Avaliação morfológica das hemácias na pré-eclâmpsia. Rev Bras Ginecol Obstet 1996; 18:139-43.
41. Foerster J. Red cell fragmentation syndromes. In: Lee GM, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM. Wintrobe's clinical hematology. 10<sup>a</sup> ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1999. vol.2, p. 1305-28.
42. Salignac S, Campedel C, Bordigoni P, Lecompte T, Lesesve JF. Est-il possible de compter les schizocytes au moyen d'un logiscel d'analyse d'image? Ann Biol Clin 2001; 59:165-8.

43. Pincus MR. Interpreting laboratory results: reference values and decision making. In: Henry JB editor. Clinical diagnosis and management by laboratory methods. 19<sup>th</sup> ed., Philadelphia: WB Saunders & Co; 1996. p.79.
44. Wilke G, Schutz E, Armstrong VW, Kuhn W. Haptoglobin as a sensitive marker of hemolysis in HELLP syndrome. Int J Gynecol Obstet 1992; 39:29-34.
45. Morris Rh, Vassalli P, Beller FK, McCluskey RT. Immunofluorescent studies of renal biopsies in the diagnosis of toxemia of pregnancy. Obstet Gynecol 1964; 24:32-46.
46. Vassalli P, Morris RH, McCluskey RT. The pathogenic role of fibrin deposition in the glomerular lesions of toxemia of pregnancy. J Exp Med 1963; 118:467-78.
47. Arias F, Mancilla-Jimenez R. Hepatic fibrinogen deposits in pre-eclampsia: immunofluorescent evidence. N Engl J Med 1976; 295:578-82.
48. Curtin WM, Weinstein L. A review of HELLP syndrome. J Perinatol 1999; 19:138-43.
49. Paternoster DM, Stella A, Simioni P, Mussap M, Plebani M. Coagulation and plasma fibronectin parameters in HELLP syndrome. Int J Gynecol Obstet 1995; 50:263-8.





*Anexo*

**Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa****UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

CAMPUS DE BOTUCATU

**FACULDADE DE MEDICINA****COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

BOTUCATU, SP - Rubião Júnior - Cep 18.618-970 - PABX ☎ (014) 821-2121 - RAMAL 2258 - FAX (014) 821-4691 - TELEX 0142107

Botucatu, 04 de dezembro de 2.000

Of. nº 450/2000-CEP  
MVCR/asc

Prezado Senhor,

De ordem da Senhora Presidente deste CEP, informo que o Projeto de Pesquisa intitulado “**Significado da presença de esquizócitos no sangue periférico de gestantes com pré eclampsia**”, de autoria de **Rosangela de Fátima do Nascimento e Silva**, orientada por Vossa Senhoria, recebeu do relator parecer **Favorável**, aprovado em reunião deste CEP aos 04/12/2000.

Sendo só para o momento, aproveito o ensejo para renovar os protestos de elevada estima e distinta consideração.

**Alberto Santos Capelluppi**  
Secretário do CEP

**Ilustríssimo Senhor**  
**Prof. Dr. José Carlos Peraçoli**  
**Departamento de Ginecologia e Obstetrícia**  
**Faculdade de Medicina de Botucatu**