

## RESUMO

Os eritrócitos são células sanguíneas produzidas na medula óssea e que possuem um tempo médio de vida em circulação de aproximadamente 120 dias.

Os reticulócitos são eritrócitos jovens cuja presença no sangue periférico reflecte a actividade eritropoiética da medula óssea. Em situações de “stress”, são libertados para a circulação, reticulócitos mais imaturos. Os reticulócitos contêm fragmentos de RNA residual, que vão desaparecer à medida que os glóbulos vermelhos amadurecem. Como tal, a fracção mais imatura dos reticulócitos é a que possui um conteúdo mais elevado de RNA. Este está directamente correlacionado com a intensidade de coloração obtida com o corante Laranja de Tiazol e que pode ser medida por Citometria de fluxo.

Durante a apoptose, as células modificam a estrutura das suas membranas plasmáticas para sinalizar o seu suicídio ao ambiente. O aparecimento de fosfatidilserina (fosfolípido) na superfície celular, é uma das mudanças estruturais decorrente do processo de envelhecimento, e conseqüentemente os eritrócitos ficam mais susceptíveis à fagocitose. A Anexina V é uma proteína de ligação para fosfolípidos que exhibe alta afinidade para a ligação selectiva à fosfatidilserina e que pode ser medida por Citometria de fluxo.

Na corrente sanguínea estão presentes reticulócitos em diferentes fases de maturação e eritrócitos senescentes de diferentes idades.

Os objectivos deste estudo foram a caracterização fenotípica de vários estadios de maturação dos reticulócitos, bem como a identificação e caracterização de eritrócitos senescentes, em amostras de sangue total com anticoagulante EDTA (ácido etilenodiaminotetracético), obtidas por punção venosa. Para tal, recorreu-se à utilização do corante Laranja de Tiazol para a selecção dos reticulócitos, à anexina V para a identificação dos eritrócitos senescentes e ainda à avaliação da expressão dos anticorpos CD235a, CD71, CD36, CD47 e CD55 por Citometria de fluxo.

O perfil fenotípico de marcação destas células pode vir a ter utilidade para o diagnóstico precoce, classificação, evolução e monitorização da terapêutica em diversas doenças hematológicas e não hematológicas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Eritrócitos; Reticulócitos; Citometria de fluxo.

## **ABSTRACT**

Red cells are blood cells produced in bone marrow and have an average life in circulation of approximately 120 days.

Reticulocytes are young red blood cells whose presence in peripheral blood reflects the erythropoietic activity of the bone marrow. In stressful situations, most immature reticulocytes are released into circulation. The reticulocyte contains residual RNA fragments, which will disappear as the mature red blood cells. As such, most immature fraction of reticulocytes is the one with a higher content of RNA. This is directly correlated with the intensity of staining obtained with the dye Thiazole orange and can be measured by flow cytometry.

During apoptosis, cells modify the structure of its plasma membrane to signal its suicide to the environment. The appearance of phosphatidylserine (phospholipid) on the cell surface, is one of the structural changes due to aging process and thus the red cells become more susceptible to phagocytosis. The Annexin V is a protein binding to phospholipid that exhibits high affinity for the selective binding to phosphatidylserine and can be measured by flow cytometry.

The blood reticulocytes are present in different stages of maturation and senescent erythrocytes of different ages.

The objectives of this study was the phenotypic characterization of various stages of maturation of reticulocytes as well as the identification and characterization of senescent erythrocytes in whole blood samples with anticoagulant EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid), obtained by venipuncture. To this end we resorted to the use of Thiazole orange dye in the selection of reticulocytes, the annexin V for the identification of senescent red cells and also to evaluate the expression of antibodies CD235a, CD71, CD36, CD47 and CD55 by flow cytometry.

The phenotypic profile of marking these cells might be useful for early diagnosis, classification, evolution and monitoring of therapy in various hematologic and non hematologic diseases.

**KEY WORDS:** Erythrocytes; Reticulocytes; Flow Cytometry.