



FMUC FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO
DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

SARA ISABEL XAVIER PIPA

***CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DAS ANEMIAS
MICROCÍTICAS E HIPOCRÓMICAS***

ARTIGO REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE HEMATOLOGIA

TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:

PROFESSORA DOUTORA ANA BELA SARMENTO RIBEIRO

FEVEREIRO 2012

ÍNDICE

RESUMO	v
ABSTRACT	vii
LISTA DE ABREVIATURAS	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. ERITROPOIESE	4
3. DEFINIÇÃO E EPIDEMIOLOGIA DAS ANEMIAS MICROCÍTICAS E HIPOCRÓMICAS.....	9
4. ETIOPATOGENIA/FISIOPATOLOGIA DAS ANEMIAS MICROCÍTICAS E HIPOCRÓMICAS.....	11
4.1. A IMPORTÂNCIA DO FERRO	12
4.1.1. Homeostasia do ferro	12
4.1.2. Metabolismo do ferro.....	13
4.1.3. Regulação da Homeostasia do Ferro: o papel da Hepsidina	19
4.2. ALTERAÇÃO DA DISPONIBILIDADE/AQUISIÇÃO DE FERRO PELOS PRECURSORES ERITRÓIDES	21
4.2.1. Anemia Ferropénica.....	21
4.2.2. Anemia da Doença Crónica	23
4.2.3. Intoxicação por Chumbo.....	27
4.2.4. Atransferrinémia	27
4.3. DEFEITOS NOS GENES DA GLOBINA - HEMOGLOBINOPATIAS.....	28
4.3.1. Talassémias	28
4.3.2. Outras hemoglobinopatias	36

4.4. DEFEITOS NA SÍNTESE DO HEME: ANEMIAS SIDEROBLÁSTICAS	37
5. DIAGNÓSTICO E DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL.....	39
5.1. APRESENTAÇÃO CLÍNICA.....	39
5.2. AVALIAÇÃO LABORATORIAL	42
6. TRATAMENTO.....	47
6.1. SUPLEMENTOS DE FERRO.....	48
6.2. TRANSFUSÃO DE ERITRÓCITOS.....	52
6.3. AGENTES ESTIMULANTES DA ERITROPOIESE	53
7. CONCLUSÃO.....	55
ALGORITMO	58
BIBLIOGRAFIA.....	59

RESUMO

A anemia é uma alteração hematológica que surge com muita frequência na prática clínica. Segundo a Organização Mundial de Saúde é definida pela redução da concentração de hemoglobina no sangue periférico, abaixo dos valores normais para a idade e sexo.

A Anemia Microcítica e Hipocrômica (AMH) é a mais prevalente e caracteriza-se por eritrócitos microcíticos e hipocrômicos, ou seja por diminuição do VGM (Volume Globular Médio inferior a 80fl), da HCM (Hemoglobina Corpuscular Média inferior a 27pg) e da CHMC (Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média inferior a 30g/dL).

A deficiência de ferro (Anemia ferropénica) constitui a causa mais comum de anemia em todo o mundo. Resulta, na maior parte dos casos, de perdas crónicas de sangue pelo tracto gastrointestinal e uterino. Outras causas de AMH são, necessidades aumentadas (prematuridade, crescimento e gravidez) e/ou a má absorção. A ingestão inadequada raramente se apresenta como causa isolada. Outro aspecto importante é a alteração no metabolismo do ferro, sendo de salientar a desregulação da hepcidina, a principal proteína reguladora da homeostasia deste ião, e as anomalias na síntese da globina ou do heme. O diagnóstico diferencial deve ser feito com as Talassémias, alguns casos de Anemia de Doença Crónica e de Anemia Sideroblástica e com a intoxicação por chumbo.

A maior parte dos doentes com anemia são assintomáticos, sendo o diagnóstico feito em exames de rotina. Quando a anemia é mais grave, os sinais e sintomas traduzem a diminuição das funções dos tecidos e órgãos mais sensíveis à hipóxia.

Assim, a abordagem dos doentes com anemia deve incluir a anamnese e exame físico minucioso, sendo importante a história nutricional, história familiar, etc. Para o diagnóstico e diagnóstico diferencial é fundamental, além do hemograma completo e contagem de

reticulócitos, o estudo do metabolismo do ferro (concentração de ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro (TIBC), ferritina sérica e o receptor de transferrina sérico).

O tratamento da anemia passa pelo tratamento da doença de base, administração de suplementos de ferro (ferro por via oral ou parentérica), agentes indutores da eritropoiese e transfusão de concentrado de eritrócitos, dependendo do grau de anemia, da doença de base e do estado geral do doente.

Este trabalho tem por objectivo fazer uma revisão teórica actualizada da literatura (recorrendo para isso a artigos científicos, livros e revistas da especialidade), sobre os mecanismos envolvidos na etiopatogenia da Anemia Microcítica Hipocrómica, a sua caracterização clínica e laboratorial, diagnóstico diferencial, e em que condições a terapêutica é necessária, e quais as opções existentes/disponíveis, as suas vantagens e desvantagens.

Palavras-chave: Anemia microcítica hipocrómica, deficiência de ferro, metabolismo do ferro, hepcidina, eritropoiese.

ABSTRACT

Anemia is a hematological change which frequently arises in clinical practice. According to the World Health Organization, it is defined by a reduction in hemoglobin concentration (which is below the normal values depending on age and sex), present in peripheral blood.

The microcytic and hypochromic anemia (AMH) is the most common type of anemia and is characterized by microcytic and hypochromic erythrocytes, i.e. a decrease in MCV (mean corpuscular volume <80fl), MCH (mean corpuscular hemoglobin <27pg) and CHMC (mean corpuscular hemoglobin concentration <30g/dL).

Iron deficiency (iron deficiency anemia) is the most common cause of anemia worldwide. In most cases, it is the result of chronic blood loss from the gastrointestinal tract and uterus. Increased needs for iron (as in prematurity, growth and pregnancy) and/or malabsorption are other causes of AMH. Inadequate intake is rarely presented as an isolated cause. Another important aspect is the change in iron metabolism and in particular the deregulation of hepcidin, which is the main regulatory protein of this ion homeostasis, as well as abnormalities in the synthesis of heme and globin. The differential diagnosis should be done with Thalassemia, some cases of Anemia of Chronic Disease and Sideroblastic Anemia, as well as lead poisoning.

Most patients with anemia are asymptomatic, being diagnosed in routine examinations. When anemia is more severe, the signs and symptoms reflect the decrease of the functions of tissues and organs most sensitive to hypoxia.

Thus, the medical examination of patients with anemia should include history and physical examination, with important nutritional history, family history, etc.. A complete blood count and a reticulocyte count are crucial for the diagnosis and the differential

diagnosis, as well as the study of iron metabolism (serum iron concentration, total binding capacity of iron (TIBC), serum ferritin and serum transferrin receptor).

The treatment of anemia involves the treatment of the underlying disease, as well as the administration of iron supplements (oral or parenteral route), agents that induce erythropoiesis and transfusion of packed red blood cells, depending on the degree of anemia, the underlying disease and the patient's general state.

This paper is an updated review of the theoretical literature (using scientific articles, books and trade magazines) on the mechanisms involved in the pathogenesis of hypochromic microcytic anemia, its clinical and laboratory characteristics and the differential diagnosis. It also aims to evaluate the conditions under which therapy is needed, listing the options available and their advantages and disadvantages.

Keywords: microcytic hypochromic anemia, iron deficiency, iron metabolism, hepcidin, erythropoiesis.

LISTA DE ABREVIATURAS

ACD - Anemia da doença crónica

ADN - Ácido desoxirribonucleico

AMH - Anemia microcítica hipocrómica

ARN - Ácido ribonucleico

AVC - Acidente vascular cerebral

BFU-E - "*Burst-forming unit-erythroid*"

CFU-E - Unidade formadora de colónias eritróides

CFU_{GEMM} - Unidade formadora de colónias granulocítica, eritróide, monocítica e megacariocítica

CHCM - Concentração de hemoglobina corpuscular média

DCV - Doença cardio-vascular

DMT-1 - Transportador de metais divalentes-1

EAM - Enfarte agudo do miocárdio

EPO - Eritropoietina

ESA - Agentes estimulantes da eritropoiese

Fe - Ferro

Hb - Hemoglobina

HCM - Hemoglobina corpuscular média

HPC1 - Proteína transportadora de heme

HPLC - Cromatografia líquida de alta *performance*

IL - Interleucina

INF - Interferão

LEAP-1 - Peptídeo-1 antimicrobiano expresso pelo fígado

OMS - Organização Mundial de Saúde

PCR - Proteína C reactiva

RDW - "*Red Cell Distribution Width*" (Índice de anisocitose)

r-HuEPO - Eritropoietina recombinante humana

SRE - Sistema retículo-endotelial

TIBC - Capacidade total de ligação ao ferro

TfR - Receptor da transferrina sérico

TNF - Factor de necrose tumoral

VCM - Volume corpuscular médio

1. INTRODUÇÃO

A anemia corresponde a uma alteração hematológica que surge com muita frequência na prática clínica. Define-se pela redução da concentração de hemoglobina no sangue periférico, abaixo dos valores normais para a idade e sexo (Jain & Kamat, 2009). A Organização Mundial de Saúde (OMS) revelou recentemente a sua preocupação crescente com esta patologia pois estima-se que afecte 2 biliões de pessoas em todo o mundo (Urrechaga *et al.*, 2011).

No entanto, é importante avaliar se esta surge no contexto de um distúrbio primário, que envolve o sistema hematopoiético, ou se é secundária a uma doença sistémica subjacente ou ao seu tratamento.

As anemias podem ser classificadas quanto ao mecanismo subjacente (sendo a deficiência de ferro o mais frequente) (Figura 1), quanto à morfologia dos eritrócitos, e quanto à sua forma (hereditárias ou adquiridas). Podem ainda ser agrupadas quanto à diminuição da produção de eritrócitos, aumento da sua destruição e anemias resultantes de perdas hemáticas. Com base na contagem de reticulócitos, as anemias podem ser classificadas em regenerativas ou hiporregenerativas (Tabela 1) (Lambert J F *et al.*, 2009).

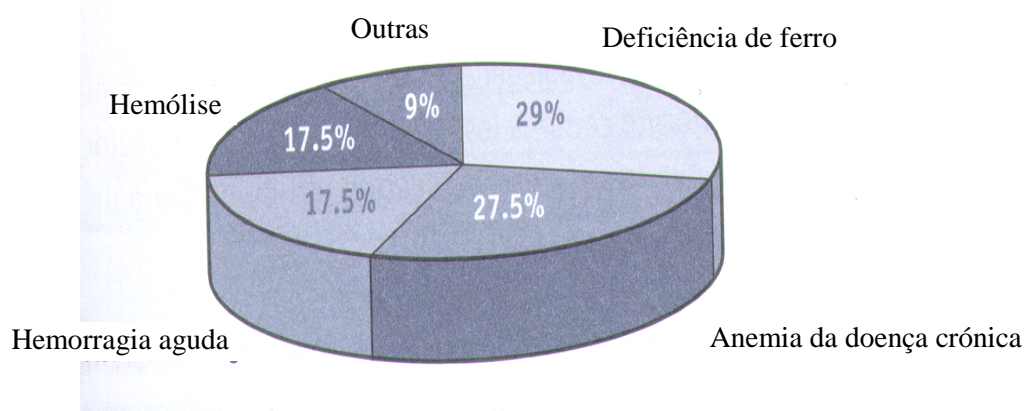


Figura 1 – Principais causas de anemia (Adaptado de Lambert J F *et al.*, 2006 e 2009)

Tabela 1 – Classificação das anemias baseada na contagem de reticulócitos

Hiporregenerativas	Regenerativas
Anemia aplástica	Hemólise
Aplasia pura de eritrócitos	Imune
Síndrome mielodisplásico	Não imune:
Estados de deficiência: <ul style="list-style-type: none"> • Ferro • Vitaminas 	<ul style="list-style-type: none"> • Congénitas: membrana, SS, talassémias, enzimopatias, Hb instável; • Adquiridas: PNH, drogas (intoxicação por Pb, Zn e Cu), microangiopatia, hiperesplenismo
Infiltração da medula/Fibrose	Hemorragia
Anemia inflamatória (Anemia da doença crónica)	
Subprodução de Eritropoietina	
A anemia hiporregenerativa é definida por uma contagem de reticulócitos inferior a $50 \times 10^9/L$; a anemia regenerativa define-se por uma contagem de reticulócitos superior a $100 \times 10^9/L$. PNH: hemoglobinúria paroximal nocturna; SS: doença de células falciformes homozigótica.	

(Adaptado de Lambert J F *et al.*, 2009)

A quantidade de hemoglobina dos eritrócitos é determinada por acções coordenadas entre as sínteses adequadas da globina e do heme, associadas à disponibilidade do ferro. As alterações em uma destas três condições resultam em anemias microcíticas hipocrómicas (Nascimento ML, 2010; Hofbrand, 2011).

As anemias microcíticas e hipocrómicas mais comuns são a anemia ferropénica, anemia da doença crónica e a talassemia *minor*.

A deficiência de ferro é responsável por 29% dos casos de anemia (Lambert J F *et al.*, 2006 e 2009), sendo assim, a anemia ferropénica o tipo de anemia mais prevalente (Figura 1)

(Urrechaga *et al.*, 2011). É importante averiguar as causas dessa deficiência, já que nas crianças pode estar associada à não diversificação alimentar, à ingestão excessiva de leite de vaca e a hemorragia (principalmente em adolescentes do sexo feminino – menorragias). No adulto associa-se com grande frequência a hemorragia gastro-intestinal ou uterina, sendo fundamental excluir uma neoplasia bem como outras patologias que cursam com deficiência de ferro.

A anemia ferropénica pode ainda estar associada a anemia da doença crónica (ACD), representando o diagnóstico deste tipo de anemia um desafio na maioria dos casos (Mayhew, 2006). De facto, a ACD é a anemia mais frequente entre os doentes hospitalizados (Jayarane & Sthaneshwar, 2006; Weiss, 1999). Trata-se na maioria dos casos de uma anemia normocítica e normocrómica, podendo contudo ser microcítica quando as reservas de ferro estão esgotadas.

A hepcidina, a principal proteína reguladora da homeostasia do ferro, desempenha na ACD um papel crucial já que controla os níveis plasmáticos de ferro, reduzindo a sua absorção intestinal e a sua libertação ao nível dos hepatócitos, além de prevenir a sua reciclagem pelos macrófagos. A hepcidina liga-se à ferroportina, induzindo a sua degradação e conduzindo ao sequestro de ferro no interior das células.

Em termos laboratoriais tanto a ACD como a anemia ferropénica cursam com diminuição do ferro sérico mas as reservas na ACD não estão depletadas, apresentando-se a ferritina com valores normais ou até aumentados. Pelo contrário, na anemia ferropénica há diminuição da ferritina.

As talassémias são anemias hereditárias causadas por uma deficiência parcial ou completa da síntese de cadeias globínicas e constituem os distúrbios genéticos mais comuns e simples no mundo inteiro, causando um grande problema de saúde pública. Uma estimativa disponível indica que 250 milhões, correspondentes a 4,5% da população mundial, são

heterozigotos para um defeito no gene da globina. A sua clínica pode ir de frustrante a muito grave, com anemia severa e até hidrósia fetal. Assim, o correcto diagnóstico permite a instituição de um tratamento adequado. De facto, a administração inadequada de suplementos de ferro oral pode levar a sobrecarga do mesmo, com consequências graves para a saúde, principalmente a nível cardíaco e hepático.

Assim, a escolha da intervenção terapêutica adequada depende da etiologia da anemia, devendo sempre que possível tratar-se a doença de base pois muitas vezes esta medida permite a correcção da anemia. Para além disso, podemos recorrer a suplementos de ferro (via oral ou parentérica), a transfusões de concentrados de eritrócitos e a agentes estimulantes da eritropoiese.

Este trabalho tem por objectivo fazer uma revisão teórica actualizada da literatura (recorrendo para isso a artigos científicos, livros e revistas da especialidade), sobre os mecanismos envolvidos na etiopatogenia da Anemia Microcítica Hipocrómica, a sua caracterização clínica e laboratorial, diagnóstico diferencial, e em que condições a terapêutica é necessária, e quais as opções existentes/disponíveis, as suas vantagens e desvantagens.

2. ERITROPOIESE

A eritropoiese é o processo de formação de eritrócitos, e corresponde a uma das etapas do longo processo que é a hematopoiese (formação de células sanguíneas). No adulto, a hematopoiese ocorre ao nível da medula óssea (MO) dos ossos chatos e das extremidades proximais dos ossos longos (Hoffbrand *et al.*, 2006) (Tabela 2).

Tabela 2- Locais de Hematopoiese

Feto	0-2 Meses – Saco Vitelino
	2-7 Meses – Fígado, baço
	5-9 Meses – MO
Lactentes	MO – praticamente todos os ossos
Adultos	Ossos chatos e extremidades proximais de ossos longos

(Adaptado de Hoffbrand *et al.*, 2006)

A medula óssea é um órgão altamente dinâmico, produz 2 a 3 milhões de eritrócitos por segundo (Gasche *et al.*, 2010) sendo estas células substituídas a cada 120 dias. A medula óssea, além das células hematopoiéticas, é formada pelo estroma (fibroblastos, adipócitos, células endoteliais e macrófagos), por uma rede microvascular e por uma matriz extracelular constituída por colagénio, fibronectina e laminina, entre outras.

Os factores de crescimento hematopoiéticos são glicoproteínas secretadas pelas várias células do sistema hematopoiético e do estroma, e controlam a proliferação e diferenciação das células progenitoras bem como a função das células sanguíneas maduras.

A eritropoietina (EPO), a proteína que regula a eritropoiese (Figura 2), é sintetizada maioritariamente a nível do rim (90%) e apenas 10% a nível do fígado (Hoffbrand *et al.*, 2006). O estímulo para a sua produção é a diminuição da tensão de O₂ a nível dos tecidos do rim.

A EPO aumenta o número de células progenitoras comprometidas com a eritropoiese e é crucial durante um período aproximado de 10-13 dias, quando a BFU-E (*Burst-forming unit-erythroid*) se transforma em CFU-E (unidade formadora de colónias eritróides) e se diferencia em pró-eritroblastos. Durante este estágio da eritropoiese muito pouco ferro é incorporado na hemoglobina (Besarab *et al.*, 2009). De facto, a incorporação de ferro ocorre essencialmente durante o segundo estágio que dura entre 3-4 dias, no qual os eritroblastos dão

origem aos reticulócitos (Figura 2). Neste momento a falta de ferro pode prejudicar a hemoglobinizacão completa dos eritrócitos, levando à deficiência de ferro.

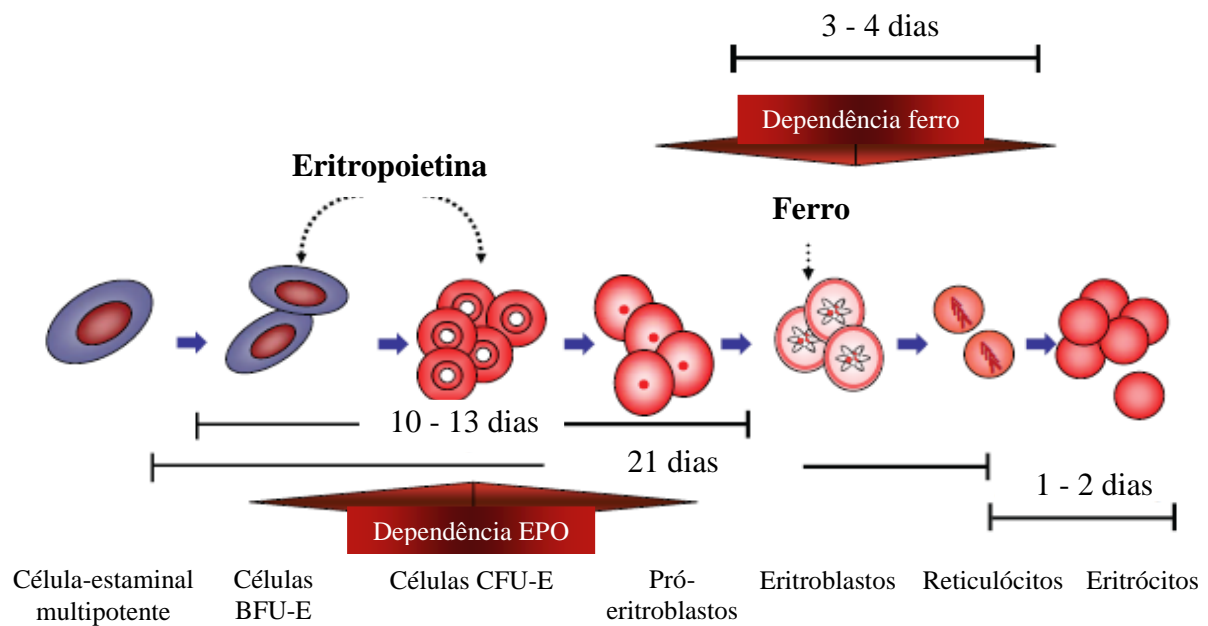


Figura 2- Importância da eritropoietina e do ferro na eritropoiese (Adaptado de Besarab *et al.*, 2009)

Num adulto normal, a produção diária de eritrócitos excede as 10^{11} células, podendo este valor aumentar em períodos de maiores perdas (hemólise/hemorragia) (Muñoz *et al.*, 2009).

A hematopoiese inicia-se com uma célula-estaminal hematopoiética multipotente (Figura 3). Esta célula divide-se e origina duas células-filhas: uma vai substituí-la (auto-renovação) e a outra vai-se comprometer com uma linha de diferenciação (Figura 4) (Hoffbrand *et al.*, 2006). As células precursoras respondem a factores de crescimento hematopoiéticos com aumento selectivo de uma ou outra linhagem. O comprometimento com a linha eritróide é influenciado pela eritropoietina (Muñoz *et al.*, 2009).

A célula-estaminal multipotente dá assim origem às células progenitoras CFU_{GEMM} (unidade formadora de colónias granulocítica, eritróide, monocítica e megacariocítica) que

correspondem aos primeiros precursores mielóides detectáveis. Estes vão originar a BFU-E que em aproximadamente 7 dias se diferencia em CFU-E, que por sua vez dá origem ao primeiro precursor eritróide morfologicamente identificado, o pró-eritroblasto (Hoffbrand *et al.*, 2006).

Segue-se uma série de 4 a 5 divisões mitóticas, em que o pró-eritroblasto origina o eritroblasto basófilo, seguido do eritroblasto policromático e do ortocromático (Figura 4), em que as características morfológicas das células reflectem a acumulação de hemoglobina bem como o declínio da actividade do núcleo. Após a última divisão mitótica, o núcleo do eritroblasto ortocromático é libertado e ingerido pelos macrófagos presentes na medula, originando o reticulócito (célula anucleada) (Hoffman *et al.*, 2009).

Os reticulócitos permanecem 1 a 2 dias na medula antes de serem lançados no sangue periférico. Ao fim do primeiro dia sofrem maturação (perdem o resto do ácido ribonucleico, ARN) e originam os eritrócitos maduros (Figura 4).

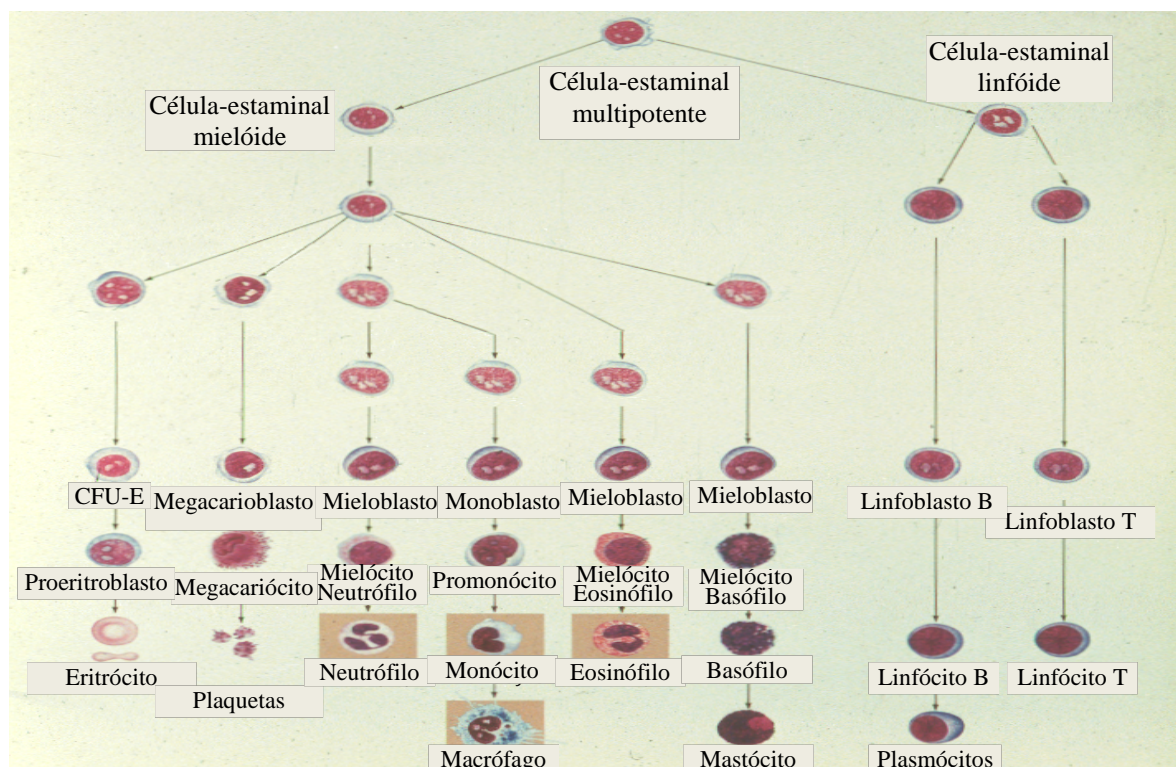


Figura 3 – Esquema representativo da hematopoiese.

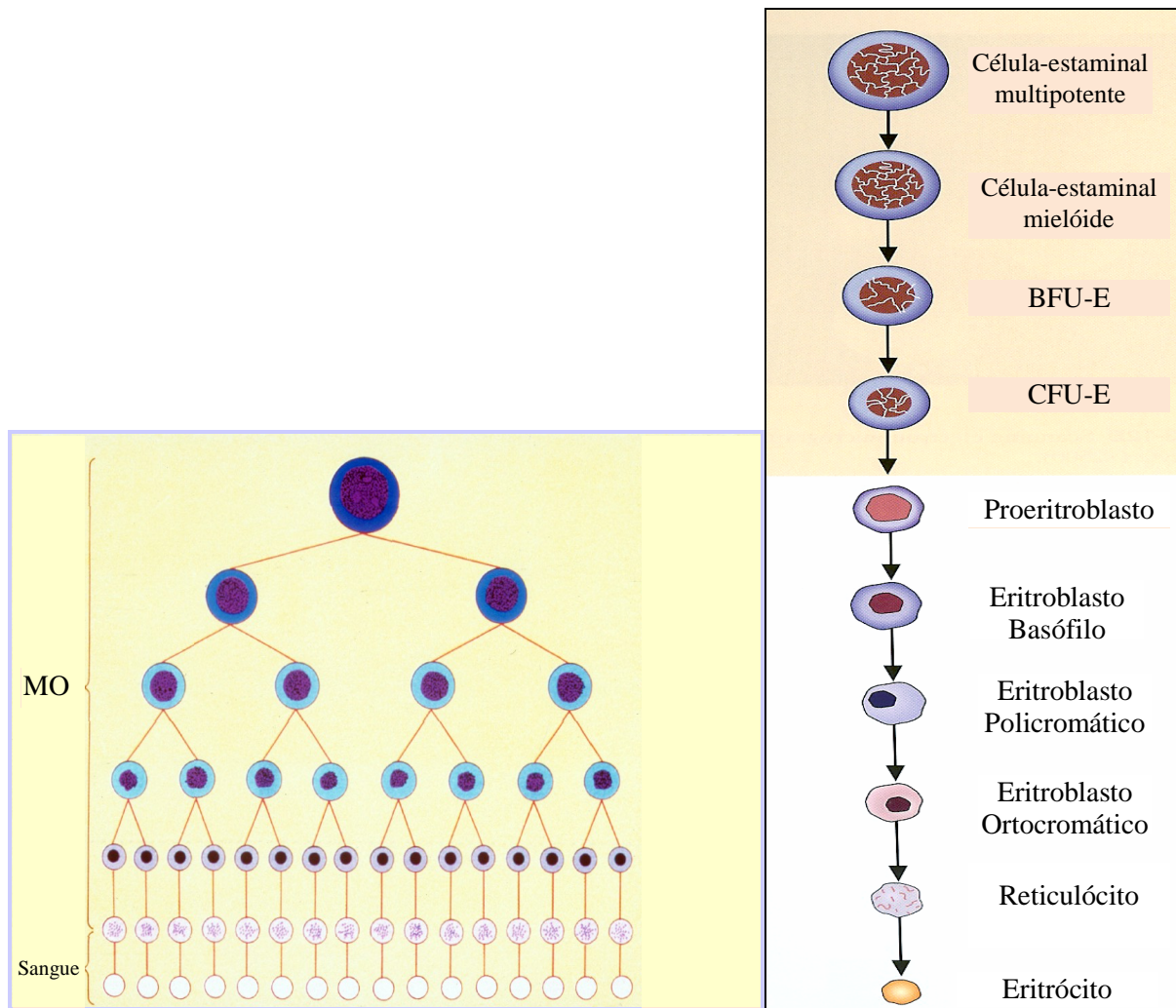


Figura 4 – Esquema representativo da eritropoiese. MO: medula óssea.

A vantagem das células anucleadas reside na sua grande capacidade de se deformar aquando da sua passagem na microcirculação sanguínea, minimizando o trabalho cardíaco. A forma típica de disco bicôncavo e a deformidade dos eritrócitos são determinadas pelas proteínas de membrana, que se acumulam depois do estágio de CFU-E (Hoffman *et al.*, 2009).

Cada eritrócito contém aproximadamente 640 milhões de moléculas de hemoglobina, sendo cada uma constituída por quatro cadeias polipeptídicas com o respectivo grupo hémico. O heme é sintetizado nas mitocôndrias e citosol e combina-se com a cadeia de globina sintetizada nos polirribossomas.

Exceptuando as primeiras semanas após a concepção, a hemoglobina dominante *in útero* é a hemoglobina fetal (HbF), composta pelo heme, associado a duas cadeias alfa (α) e duas gama (γ). Com o decorrer da gravidez, há uma transição na hemoglobina do feto para um padrão adulto, ou seja ocorre diminuição progressiva de HbF e aumento da quantidade de HbA (α_2, β_2) e de HbA₂ (α_2, δ_2). Ao nascimento, a quantidade de HbF é de aproximadamente 80% e a de HbA de 20%. Entre os 6 a 10 meses (após o nascimento), as crianças apresentam uma distribuição dos tipos de hemoglobina semelhante à do adulto (Richardson, 2011), ou seja aproximadamente 97% de HbA (α_2, β_2), 2 a 3% de HbA₂ (α_2, δ_2) e menos de 1% de HbF (α_2, γ_2).

Os eritrócitos circulam por todo o corpo estando envolvidos nas trocas gasosas (transporte de O₂ e remoção de CO₂). A eritropoiese deve manter constantes os níveis de eritrócitos circulantes. Quando a destruição é superior à formação surge anemia (Gasche *et al.*, 2010).

3. DEFINIÇÃO E EPIDEMIOLOGIA DAS ANEMIAS MICROCÍTICAS E HIPOCRÓMICAS

As anemias microcíticas e hipocrômicas correspondem a um grupo heterogêneo de doenças que podem ser herdadas ou adquiridas (Tabela 3) (Iolascon *et al.*, 2009). Caracterizam-se pela existência de eritrócitos microcíticos e hipocrômicos, ou seja por diminuição do VGM (Volume Globular Médio inferior a 80fl), da HCM (Hemoglobina Corpuscular Média inferior a 27pg) e da CHMC (Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média inferior a 30g/dL).

Tabela 3 – Classificação das anemias de acordo com a etiologia

Classificação das Anemias
Adquiridas: <ul style="list-style-type: none">• Anemia por deficiência de ferro, vitamina B₁₂ ou folato• Anemia devido a hemorragia• Anemia da doença crónica• Anemia hemolítica adquirida• Anemia aplástica
Herdadas: <ul style="list-style-type: none">• Talassémias• Doença de células falciformes• Hemoglobinopatias (outras para além da doença de células falciformes)• Anemias hemolíticas hereditárias

Além da baixa produção de eritrócitos associam-se alterações a nível do metabolismo do ferro sérico que são diferentes consoante o tipo de anemia microcítica.

A deficiência de ferro é responsável por 29% dos casos de anemia (Lambert J F *et al.*, 2006 e 2009), sendo assim, a anemia ferropénica o tipo de anemia mais prevalente (Urrechaga *et al.*, 2011), como mencionado. Esta anemia ocorre em 4-8% das crianças entre os 12 e 36 meses, o que pode levar a atrasos no crescimento e no desenvolvimento cognitivo e motor (Mekky *et al.*, 2009); em 2-5% dos homens adultos e mulheres pós-menopáusicas, associando-se normalmente a perdas crónicas de sangue.

Em 20-30% dos casos a anemia é devida a ACD ou mielodisplasia (Galloway & Smellie, 2006). A prevalência da ACD aumenta com a idade e é mais alta entre os indivíduos do sexo masculino e em indivíduos hospitalizados (Mayhew, 2006; Weiss, 1999). Na maioria dos casos é uma anemia normocítica e normocrómica, mas também se pode apresentar como microcítica e hipocrómica. A anemia ainda que subtil pode ter um grande impacto na vida

destes doentes. A fadiga é a principal queixa e reflecte o desequilíbrio energético inerente à anemia.

Alguns distúrbios são mais frequentes em certos grupos étnicos ou raciais. As síndromes Talassémicas estão entre os distúrbios genéticos mais comuns em todo o mundo (1,7% da população mundial possui genes talassémicos). No entanto, a prevalência de Talassémias é mais elevada em algumas partes do mundo, como por exemplo nas regiões Mediterrânicas (até 8%), países do Médio Oriente (até 10%), Índia (3-15%) e Sudeste Asiático (até 9%), o que constitui um problema de saúde pública. Por outro lado, a doença de células falciformes é mais frequente em Afro-Americanos e Hispânicos. A não proveniência/descendência destes lugares não exclui o diagnóstico (Urrechaga, 2008).

4. ETIOPATOGENIA/FISIOPATOLOGIA DAS ANEMIAS MICROCÍTICAS E HIPOCRÓMICAS

A quantidade de hemoglobina dos eritrócitos é determinada por acções coordenadas entre a síntese adequada da globina e do heme, associada à disponibilidade do ferro. As alterações em uma destas três condições resultam em anemias microcíticas hipocrómicas (Figura 5) (Nascimento ML, 2010; Hofbrand, 2011).

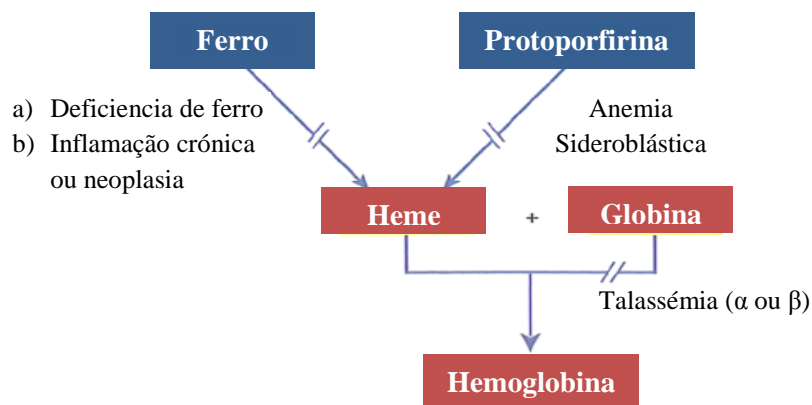


Figura 5 – Esquema representativo da fisiopatologia das anemias microcíticas e hipocrómicas (Adaptado de Hofbrand, 2011).

4.1. A IMPORTÂNCIA DO FERRO

4.1.1. Homeostasia do ferro

O ferro é um elemento essencial às células vivas. É parte integrante de processos biológicos vitais, tais como o transporte de oxigênio, a fosforilação oxidativa e a biossíntese de ácido desoxirribonucleico (ADN) (Besarab *et al.*, 2009; Iolascon *et al.*, 2009). O ferro é assim requerido para uma adequada função eritropoiética, e a sua deficiência pode levar a diminuição da produção de hemoglobina e à consequente anemia microcítica e hipocrômica (Priwitzerova *et al.*, 2004). É ainda importante para o metabolismo oxidativo e para as respostas imunológicas mediadas por células (Muñoz *et al.*, 2009).

Um indivíduo do sexo masculino com 70 Kg de peso tem aproximadamente 3,5g de ferro corporal (50mg/Kg). A maior parte do ferro encontra-se na hemoglobina circulante (65%), aproximadamente 10% encontra-se nas fibras musculares (mioglobina) e outros tecidos (enzimas e citocromos). O restante ferro do organismo está armazenado no fígado (nos macrófagos do sistema reticuloendotelial) e na medula óssea (Figura 6).

A dieta normal contém 15 a 20mg de ferro, sendo apenas absorvido 1 a 2mg/dia (Besarab *et al.*, 2009). Este aporte é equilibrado com as perdas (1 a 2mg/ dia) que ocorrem ao nível da descamação intestinal, menstruação e outras perdas sanguíneas (Gasche *et al.*, 2010). Na mulher pré-menopáusia, o ferro corporal total é inferior ao do homem (Muñoz *et al.*, 2009), podendo as perdas de ferro por ciclo ser superiores a 42mg (Hoffbrand *et al.*, 2006).

O *turnover* interno do ferro é essencial para responder aos requisitos da eritropoiese, pois a dieta fornece apenas 10% do ferro necessário, sendo entregues todos os dias à medula óssea 20 a 30mg (Richardson, 2011; Muñoz *et al.*, 2009). A mesma quantidade de ferro é devolvida aos macrófagos (como resultado da fagocitose dos eritrócitos senescentes) (Besarab *et al.*, 2009).

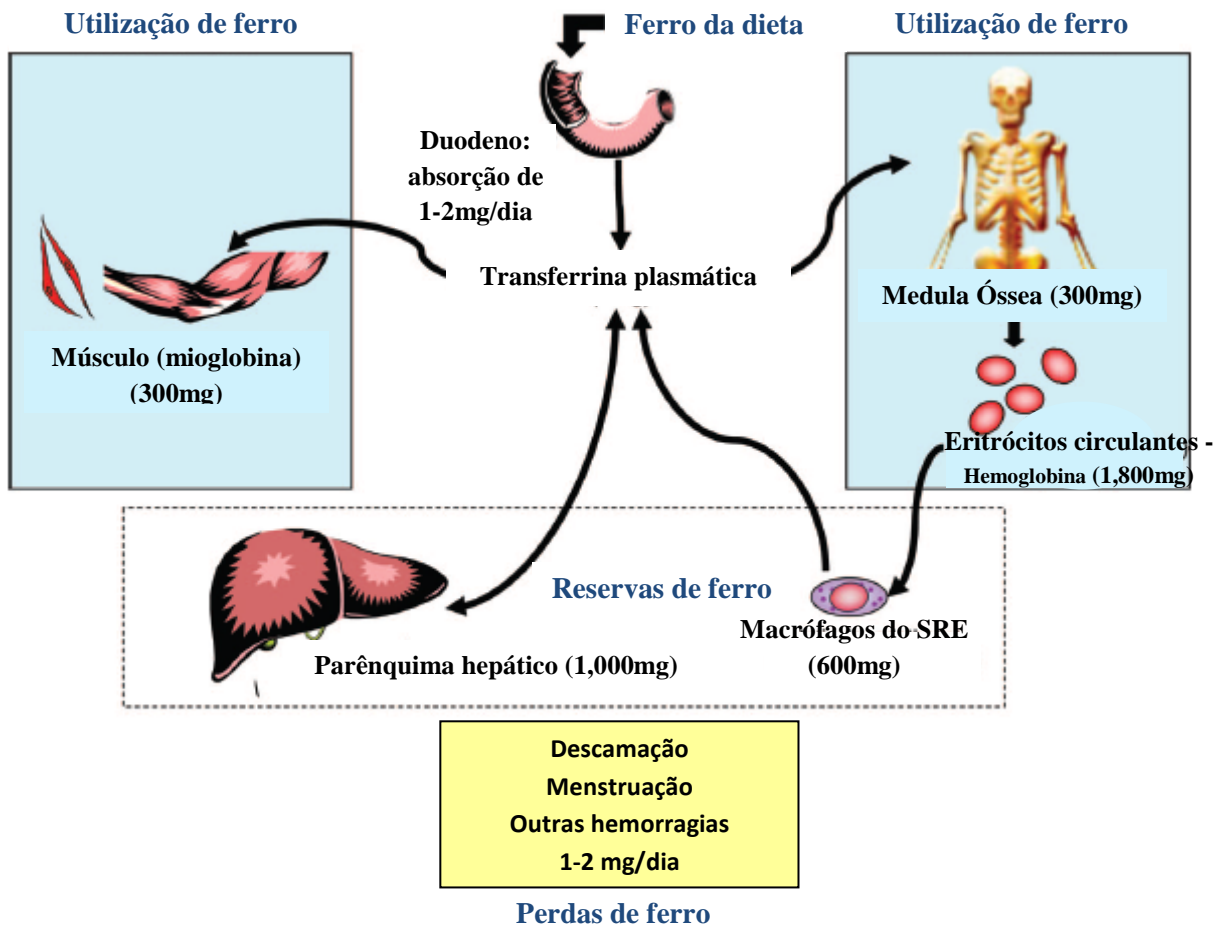


Figura 6: Balanço do ferro no adulto saudável. Distribuição de ferro no adulto (Adaptado de Besarab *et al.*, 2009)

Assim, a regulação da homeostasia do ferro é necessária para manter as funções celulares normais e evitar o dano celular, já que a acumulação de ferro metabolicamente activo pode ser prejudicial para as células e tecidos envolventes porque este metal é capaz de catalisar a formação de radicais livres de oxigénio altamente tóxicos (Weiss, 1999).

4.1.2. Metabolismo do ferro

Em condições normais há um equilíbrio entre a absorção, transporte e armazenamento de ferro, como mencionado (Richardson, 2011).

A absorção de ferro depende das reservas corporais do mesmo, da hipoxia e da eritropoiese. O organismo apresenta uma capacidade de absorção de ferro limitada, absorvendo cerca de 10% do total ingerido, embora esta percentagem aumente em estados de depleção (Hoffbrand *et al.*, 2006).

Aproximadamente 10% do ferro da dieta encontra-se na forma de heme e 90% na forma não-hémica. A absorção do ferro ocorre ao nível do duodeno (sendo uma pequena parte também absorvida no jejuno), na extremidade apical dos enterócitos, estando envolvidos diferentes mecanismos (Figura 7).

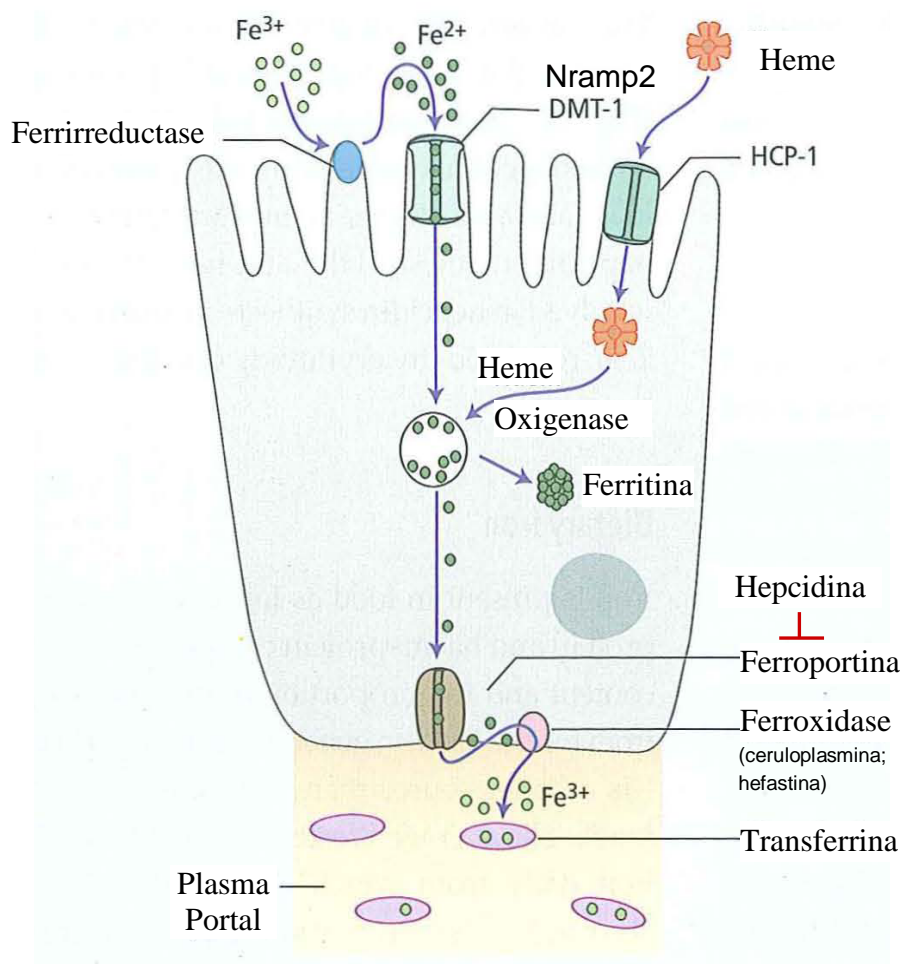


Figura 7 – Metabolismo do Ferro. Está representada a absorção e transporte do ferro no tubo digestivo. O ferro da dieta (Fe^{3+}) é reduzido a Fe^{2+} , sendo a sua entrada no enterócito feita através do transportador de metais divalentes-1, **DMT-I** e **Nramp2**. A sua exportação para o plasma é controlada pela **Ferroportina**. O ferro é oxidado antes de se ligar à transferrina no plasma. O **heme** é absorvido após a sua ligação à proteína receptora **HCP-I**. (Adaptado de Hofbrand 2006 e 2011)

O ferro na forma não-heme (Fe_3^+) não é biodisponível e tem que ser reduzido a Fe_2^+ pela enzima ferrereductase (Cui *et al.*, 2009; Lagarde *et al.*, 2006), antes de ser transportado através do epitélio intestinal pelo transportador-1 de metal divalente (DMT-1), que transporta também outros íons metálicos tais como o zinco, cobre e cobalto (Figuras 7 e 8). A redução química de Fe_3^+ a Fe_2^+ requer a presença de ácido ascórbico, bem como um pH intra-gástrico ácido (Lagarde *et al.*, 2006).

O ferro é exportado através da membrana basolateral para a circulação pela ferroportina-1 (único exportador conhecido até ao momento) (Cui *et al.*, 2009) e é oxidado pela hephaestina (proteína semelhante à ceruloplasmina plasmática) antes de se ligar à transferrina plasmática (Figura 8). A ferroportina-1 também exporta ferro ao nível dos hepatócitos e macrófagos. Esta proteína é regulada negativamente pela hepcidina, considerada o maior regulador do metabolismo do ferro

Uma vez libertado na circulação, o ferro liga-se à transferrina e é transportado para os locais onde vai ser utilizado ou armazenado. A transferrina apresenta dois locais de ligação, podendo ser encontrada no plasma três formas: a apo-transferrina que não contém ferro, a transferrina-monoférrica e a transferrina-diférrica. Sob condições fisiológicas normais, 30 a 40% destes locais estão ocupados. A ligação total de ferro à transferrina é de aproximadamente 4 mg (Muñoz *et al.*, 2009).

A absorção de ferro não-hémico pode ser diminuída pela co-administração de tetraciclina, inibidores da bomba de prótons, antiácidos, fitatos (dietas ricas em fibras), cálcio e compostos fenólicos (café e chá). Para além disso, a infecção por *Helicobacter Pylori* induz atrofia gástrica que, mesmo na ausência de hemorragia significativa, pode levar a anemia ferropénica severa. Esta anemia responde mal à terapêutica com ferro oral mas pode ser corrigida erradicando a bactéria (Muñoz *et al.*, 2009).

O ferro hémico é absorvido para o interior dos enterócitos por uma proteína transportadora de heme, a HPC1, que é uma proteína de membrana que se encontra no intestino próximo onde a absorção de heme é maior. Uma vez no interior do enterócito a maior parte de ferro é libertado na forma ferrosa pela heme-oxigenase e passa então a integrar uma via comum à do ferro não-hémico antes de sair do enterócito (Figura 8).

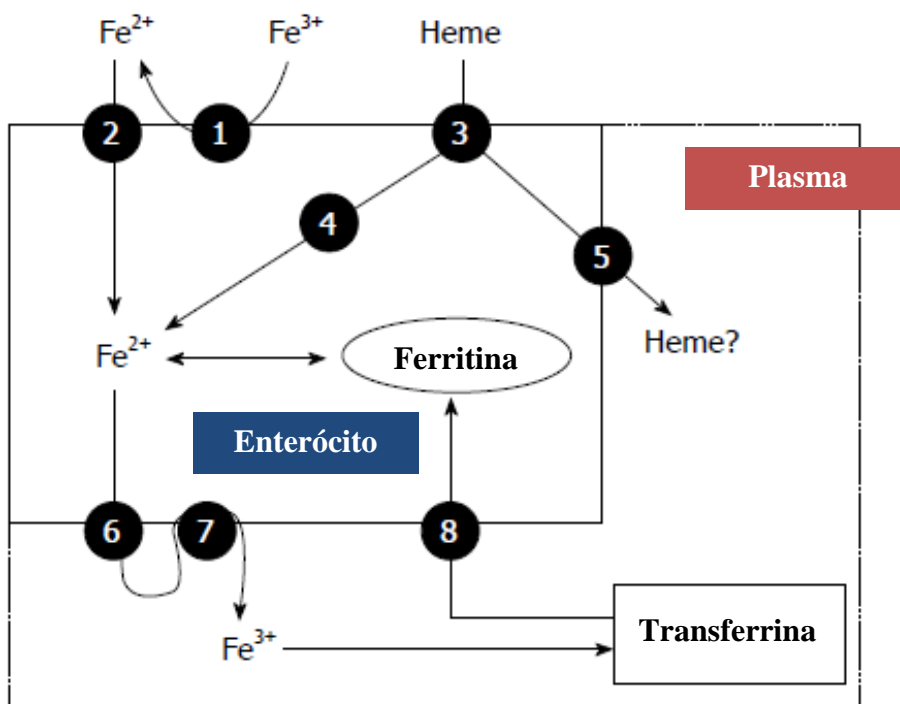


Figura 8: Vias principais de absorção de ferro ao nível do enterócito. 1- ferrirreductase; 2- transportador-1 de metal divalente (DMT-1); 3- uma proteína transportadora de heme (HPC1); 4- Heme oxigenase; 5- Exportador de heme, 6- Ferroportina; 7- Hephastina; 8- Receptor-1 da transferrina (TfR1) (Adaptado de Muñoz *et al.*, 2009)

Todas as células em proliferação expressam receptores de transferrina na sua superfície, que vão desde 10^3 a 10^5 moléculas por célula. Os precursores eritróides têm mais de 10^6 receptores por célula, uma vez que têm aumento das necessidades de ferro (para permitir a produção de hemoglobina).

Os complexos transferrina-ferro são transportados do plasma para o interior das células através do receptor da transferrina, TfR1, num processo denominado de endocitose mediada por receptores. O TfR1 liga-se apenas à transferrina-diférrica, é expresso em todas as células em divisão e é particularmente abundante ao nível dos precursores eritróides. Pelo contrário, o TfR2 é codificado por um gene diferente, é expresso principalmente ao nível do fígado e liga-se com menor afinidade ao complexo transferrina-ferro (Iolascon *et al.*, 2009).

No transporte de ferro ligado à transferrina e mediado por receptores formam-se invaginações de membrana (complexos transferrina-ferro ligados aos TfR), que são endossomas revestidos por clatrina. Após a remoção da clatrina ocorre acidificação dos endossomas através de um influxo de prótons (H^+) dependente de ATP, o que leva à alteração conformacional da transferrina e do TfR1, permitindo a libertação do ferro (Fe_3^+) da transferrina. De seguida o ferro é reduzido por acção da ferrereductase e transportado para o citoplasma pela DMT-1, enquanto que o TfR é reciclado e a transferrina regressa à circulação (Muñoz *et al.*, 2009).

Uma vez que parte da síntese do heme, em particular a incorporação de ferro, ocorre na mitocôndria, o ferro necessita atravessar uma membrana impermeável a iões (Priwitzerova *et al.*, 2004). A mitoferrina (também conhecida como SLC25A37) é uma proteína transmembranar, um importador mitocondrial de ferro, que desempenha um papel importante no fornecimento de ferro à ferroquelase, para que ocorra a sua incorporação na protoporfirina IX e se forme o heme. Foram identificados vários exportadores de heme nos eritroblastos e a sua actividade parece ser crucial na eritropoiese, ao transferir o heme para o citoplasma, removendo o excesso deste das células eritróides (Muñoz *et al.*, 2009).

O ferro da hemoglobina tem um *turnover* elevado. Os eritrócitos senescentes são fagocitados pelos macrófagos do sistema reticulo-endotelial (SRE), formando-se vesículas no interior das quais o heme é metabolizado pela heme-oxigenase e o ferro libertado é

transportado para o citoplasma através de uma proteína semelhante à DMT-1. No interior da célula, o ferro pode ser armazenado sob duas formas: no citoplasma como ferritina ou nos lisossomas como hemossiderina. A hemossiderina representa uma pequena fracção do ferro corporal, mas os seus níveis aumentam drasticamente com a sobrecarga de ferro. O armazenamento de ferro nos macrófagos é seguro já que não ocorre stresse oxidativo.

A EPO reduz a retenção de ferro nos macrófagos, reduzindo a DMT-1 e aumentando a expressão de ferroportina-1.

O fígado armazena ferro nos hepatócitos sob a forma de ferritina ou hemossiderina (Figura 9). A captação de ferro pelos hepatócitos é mediada pelos receptores TfR1 e TfR2. O TfR2 é expresso de forma ampla no fígado humano e é provável que desempenhe um papel importante na sobrecarga de ferro no fígado. Em condições normais a expressão de TfR2 excede a de TfR1, o que sugere que o primeiro desempenha um papel importante na hemocromatose.

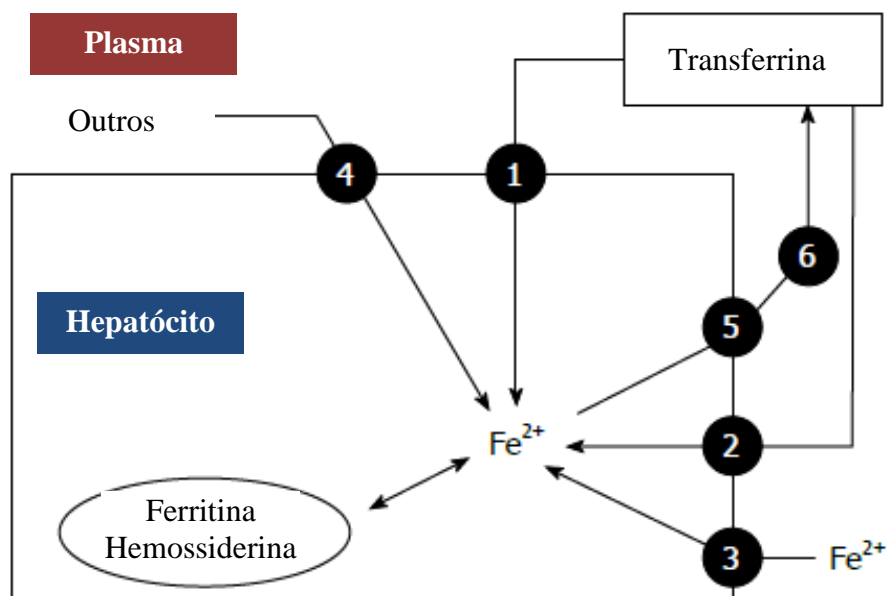


Figura 9: Vias principais de armazenamento e exportação de ferro pelos hepatócitos: 1- TfR1; 2- TfR2; 3- DMT-1; 4- Outros: Hb, Heme, Ferritina; 5- Ferroportina; 6- Ceruloplasmina (Adaptado de Muñoz *et al.*, 2009).

4.1.3. Regulação da Homeostasia do Ferro: o papel da Hepcidina

Os níveis de ferro nos tecidos e no plasma são controlados de forma apertada por mecanismos que regulam a absorção, armazenamento, reciclagem e libertação de ferro (Cui *et al.*, 2009), de modo a evitar a sua toxicidade já que o corpo não tem meios eficazes para o excretar. A falência deste sistema de controlo pode levar a uma sobrecarga de ferro, ou pelo contrário a anemia ferropénica (Priwitzerova *et al.*, 2004).

Em 2000, Krause *et al.*, isolaram um peptídeo no plasma com propriedades antimicrobianas, produzido no fígado, o peptídeo-1 antimicrobiano (LEAP-1). Park *et al.* isolaram na mesma altura um peptídeo semelhante, tendo-o designado por hepcidina. Uma vez que os peptídeos eram idênticos, adoptou-se o nome hepcidina (Means, 2004).

A estrutura da hepcidina é altamente conservada entre os mamíferos, sugerindo o seu papel chave em funções biológicas. Trata-se de um polipeptídeo rico em cisteína de 25 aminoácidos e 2.8 KDa de peso molecular, que é sintetizado no fígado como prepropeptídeo de 84 aminoácidos, que após clivagens sucessivas origina o peptídeo maduro, a hepcidina. A hepcidina é simultaneamente uma proteína de fase aguda do tipo II (Means, 2004) e o principal regulador na homeostasia do ferro. Controla os níveis plasmáticos de ferro, reduzindo a absorção intestinal do mesmo, diminuindo a sua libertação ao nível dos hepatócitos e prevenindo a sua reciclagem pelos macrófagos.

A hepcidina é codificada pelo gene *Hamp*. A actividade promotora deste gene é inibida pela superexpressão da matriptase-2 (uma serina-protease ligada à membrana, produzida no fígado) que degrada a hemojuvelina presente na membrana celular (Figura 10). A hemojuvelina é um co-receptor das proteínas morfogenéticas do osso (BMP) importantes na promoção da expressão de hepcidina. Mutações no gene *TMPRSS6* que codifica a matriptase-2 resultam na elevação da hemojuvelina e consequentemente de hepcidina, o que

leva a um compromisso na absorção/reciclagem de ferro, que por sua vez causa anemia ferropénica refractária ao ferro.

A hepcidina uma vez secretada para o sangue interage com as vilosidades dos enterócitos regulando a taxa de absorção de ferro, por meio do controle da expressão de ferroportina-1 na membrana basolateral (Muñoz *et al.*, 2009). Liga-se à ferroportina, induz a sua fosforilação e, conseqüentemente a internalização da ferroportina e a sua degradação nos lisossomas. A degradação da ferroportina bloqueia a transferência de ferro para a circulação, ficando assim o ferro retido no interior dos enterócitos e macrófagos. A sua retenção nos macrófagos merece especial atenção já que estes estão envolvidos na re-utilização de ferro proveniente dos eritrócitos senescentes. A hepcidina é excretada na urina.

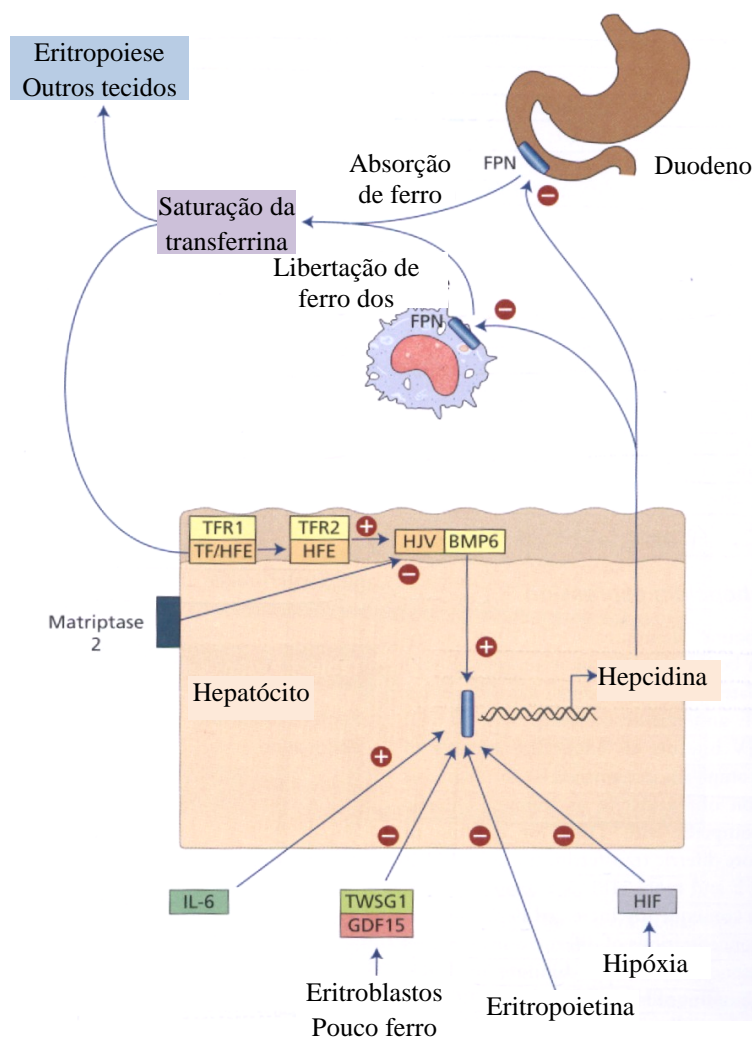


Figura 10 – Mecanismo de acção e regulação da hepcidina. (Adaptado de Hofbrand 2011)

A inflamação mediada pelo lipopolissacarídeo e interleucina-6 (IL-6) induz aumento da síntese de mRNA da hepcidina ao nível dos hepatócitos, o que reflecte uma resposta regulatória defensiva contra os efeitos adversos resultantes da sobrecarga de ferro. Pelo contrário, a deficiência de ferro, hipoxia e eritropoiese ineficaz causam diminuição da produção de hepcidina (Figura 10) (Hoffbrand *et al.*, 2006 e 2011).

Assim, na inflamação crónica o excesso de hepcidina diminui a absorção de ferro e previne a sua reciclagem, o que resulta numa hipoferrémia e restrição da eritropoiese, apesar dos depósitos normais de ferro. Em contraste, a baixa expressão de hepcidina pode levar à sobrecarga de ferro (Muñoz *et al.*, 2009).

4.2. ALTERAÇÃO DA DISPONIBILIDADE/AQUISIÇÃO DE FERRO PELOS PRECURSORES ERITRÓIDES

4.2.1. Anemia Ferropénica

A anemia ferropénica (défice de ferro) é a mais frequente das deficiências nutricionais em todo o mundo (Hoffbrand *et al.*, 2006) e surge quando as demandas ultrapassam a capacidade de absorção de ferro proveniente da dieta, como referido (Hoffbrand *et al.*, 2006).

As causas de anemia variam com a idade. As crianças apresentam deficiência funcional de ferro ou devido a aporte inadequado (mais frequentemente) ou a hemorragia (gastro-intestinal). Nas mulheres adolescentes e em idade fértil a causa mais frequente são as menorragias (Richardson, 2011).

O transporte de ferro através da placenta é um factor determinante na constituição das reservas de ferro. Este transporte é máximo no 3º trimestre, o que leva a que os níveis totais de ferro no prematuro sejam inferiores aos dos bebés de termo. Assim, a prematuridade predispõe a que esta deficiência funcional ocorra antes dos 6 meses, devido ao desequilíbrio entre o ferro disponível e o ferro necessário ao crescimento (Jain & Kamat, 2009). Logo a idade gestacional à altura do nascimento deve ser considerada.

Durante os primeiros 6 meses de vida, o leite materno fornece um aporte de ferro mais adequado do que o leite de vaca ou as fórmulas não-fortificadas. A base disto reside no facto do leite materno ter uma maior biodisponibilidade e melhor absorção do que o leite de vaca. Assim, a amamentação prolongada confere protecção parcial contra o desenvolvimento de anemia por défice de ferro. Depois dos 6 meses, a amamentação deverá ser complementada com alimentação enriquecida em ferro.

Entre os 6 meses e os 2 anos, a ingestão excessiva de leite é a principal causa de deficiência de ferro (Janus & Moerschel, 2010). O leite de vaca provoca um atraso no esvaziamento gástrico, interferindo assim com a absorção de ferro presente noutros alimentos. Pode ainda provocar hemorragias da mucosa devido à sensibilidade à lactoglobulina. Portanto, deve ser feita uma história clínica detalhada da dieta, ter em atenção a quantidade e tipo de carnes e vegetais ingeridos bem como o volume de ingestão de leite (Richardson, 2011).

No adulto, a deficiência de ferro pode ser devido a aporte nutricional insuficiente (acontece raramente nos países desenvolvidos), a má absorção intestinal de ferro e a perdas crónicas de sangue. As perdas crónicas são as principais causas de deficiência de ferro e podem ser devidas a menorragias (na mulher pré-menopáusicas) e a hemorragias gastrointestinais (em homens e mulheres pós-menopáusicas). Estas últimas poderão ser devidas a úlceras, divertículos, neoplasias ou angiodisplasias.

A deficiência de ferro e a anemia ferropénica resultam assim de três factores: aumento das necessidades de ferro (crescimento, uso de agentes estimulantes da eritropoiese, gravidez e pós-hemorragia), suprimento externo inadequado (desnutrição, má absorção provocada por doença inflamatória intestinal, uso de antiácidos e infecção por H.Pylori) e aumento das perdas sanguíneas (hemorragia gastro-intestinal crónica).

4.2.2. Anemia da Doença Crónica

A anemia da doença crónica (ACD) é a anemia mais frequentemente observada em idosos e em doentes hospitalizados, representando aproximadamente 27,5% de todos os casos de anemia (Figura 1) (Jayarane & Sthaneshwar, 2006; Weiss, 1999). O seu diagnóstico pode em alguns casos representar um desafio (Mayhew, 2006).

Trata-se de uma anemia normocítica, normocrómica, na qual se verifica diminuição da concentração do ferro sérico e da capacidade total de ligação ao ferro (TIBC), apesar da quantidade de ferro a nível do SRE estar normal, ou até mesmo aumentada (Cançado & Chiattoni, 2002). O desenvolvimento deste tipo de anemia é mediado por um conjunto de citocinas pró-inflamatórias, citocinas anti-inflamatórias, proteínas de fase aguda, radicais livres, células do SRE (Weiss, 1999) e por uma molécula chave, a hepcidina (Guidi & Santonastaso, 2010). Os níveis desta proteína encontram-se aumentados na ACD, como resultado do aumento da actividade inflamatória e, conseqüentemente, dos níveis de citocinas pró-inflamatórias, o que não acontece na anemia derivada de um quadro de hemólise, por perda intensa de sangue ou por défice de ferro em que a sua síntese diminui.

Apesar de ser uma anemia tipicamente normocítica e normocrómica, quando o defeito na mobilização do ferro é severo, surge microcitose (Shoho *et al.*, 2000).

A ACD está associada a doenças inflamatórias, infecciosas ou neoplásicas, ou seja, a distúrbios em que ocorre activação de citocinas mediadoras da resposta imune e inflamatória (factor de necrose tumoral- α (TNF- α), IL-1 e interferão (INF)) (Figuras 11 e 12) (Dallalio *et al.*, 2003), sendo a anemia uma consequência dos efeitos das concentrações elevadas dessas citocinas.

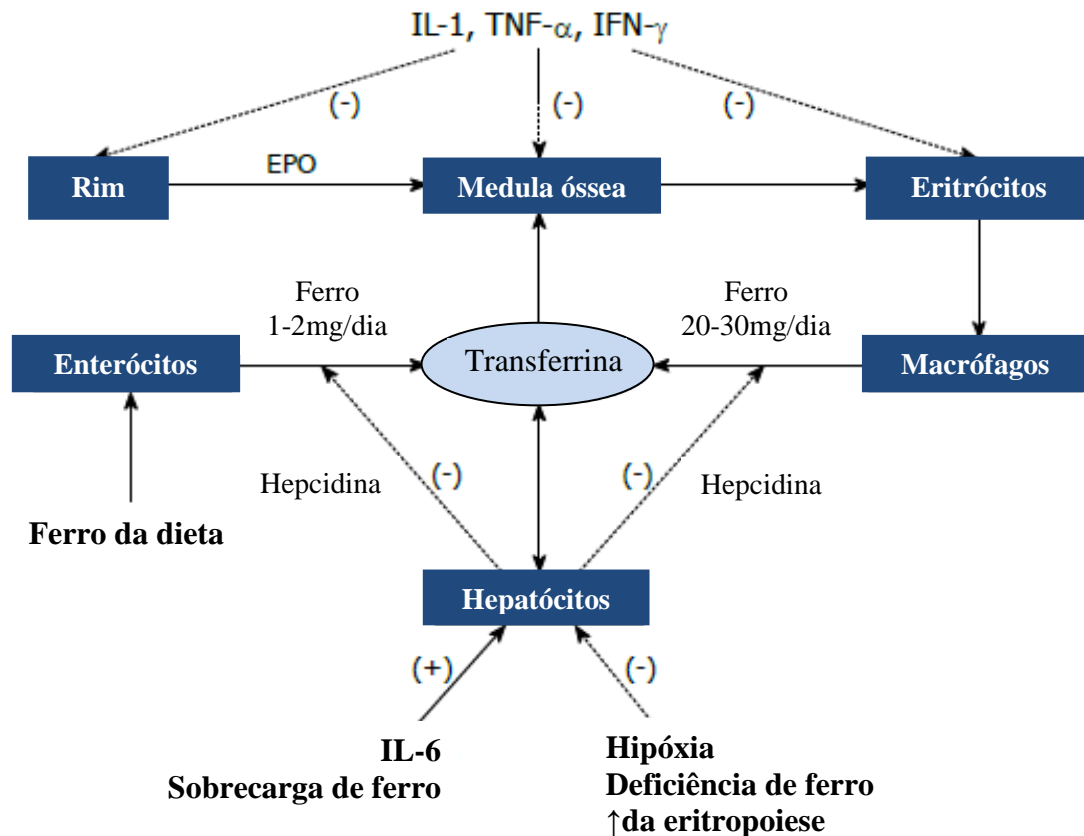


Figura 11: Efeitos da inflamação na eritropoiese e na homeostasia do ferro: (-) efeito negativo; (+) efeito positivo (Adaptado de Muñoz *et al.*, 2009).

Assim, na patogénese da doença estão envolvidos vários mecanismos. Existem anomalias na sobrevivência dos eritrócitos, uma vez que as citocinas libertadas aumentam a apoptose dos precursores eritróides, levando à diminuição dos mesmos e, conseqüentemente a anemia. A situação pode ser reversível, recorrendo-se para isso a anticorpos monoclonais anti-TNF- α ou eritropoietina recombinante humana (r-HuEPO). Além disso, pode ocorrer anomalias da eritropoiese em resposta à anemia, devido a um desequilíbrio entre o aumento

da necessidade de eritrócitos e a resposta adequada da medula (Brugnara, 2003). Por último, podem existir anomalias no metabolismo do ferro, pois estes doentes não conseguem mobilizar ou utilizar as reservas de ferro presente nas células do SRE da medula.

A hepcidina libertada como resposta à inflamação, tem na ACD um papel chave, ao inibir a libertação de ferro pelos macrófagos e a sua absorção ao nível do duodeno (Figura 12) (Hoffbrand *et al.*, 2006).

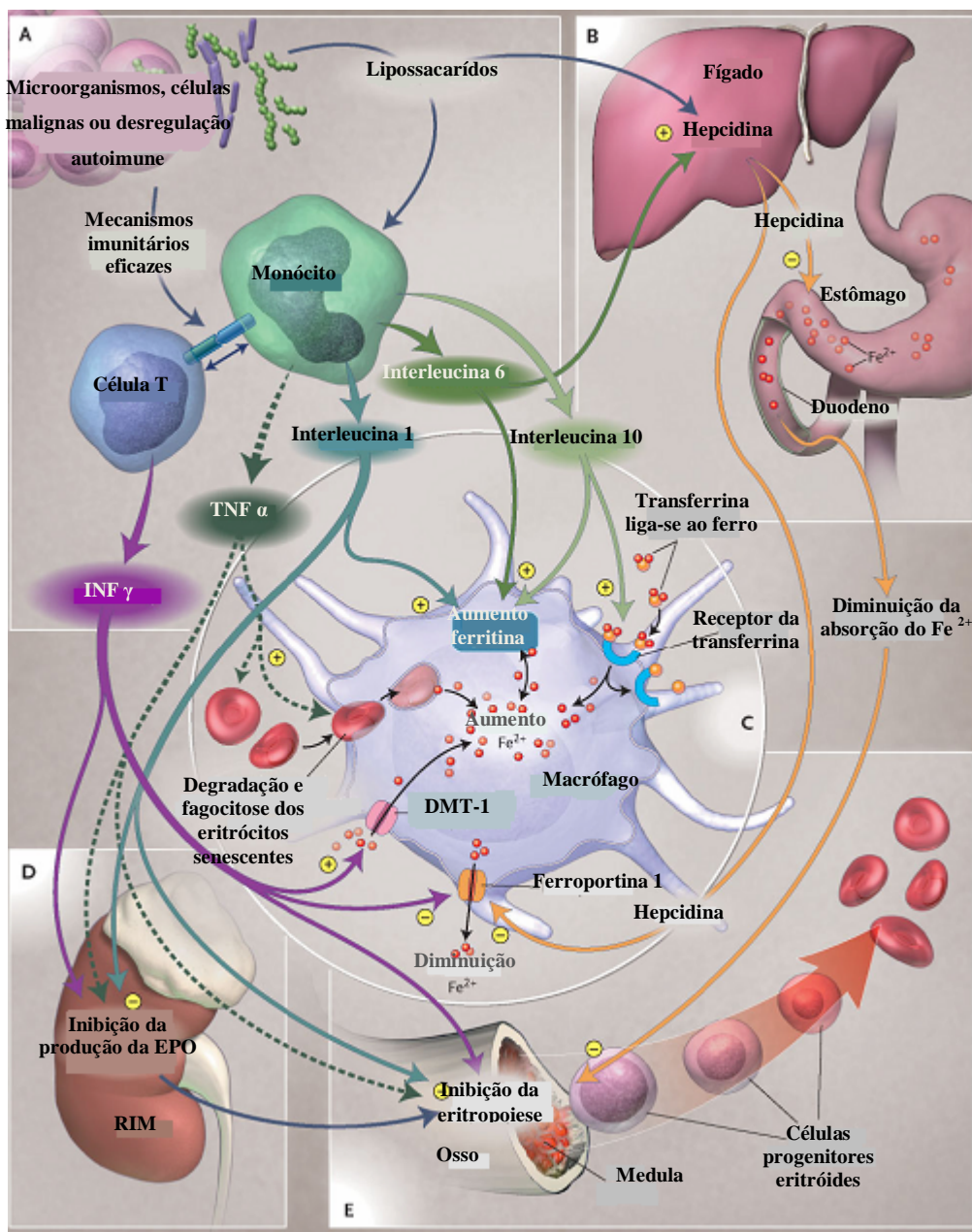


Figura 12 – Mecanismos fisiopatológicos envolvidos na Anemia da doença crónica (Adaptado de Weiss & Goodnough, 2005).

Como mencionado, na ACD a absorção de ferro está diminuída o que representa uma vantagem, pois limita o crescimento de microrganismos em infecções crónicas (Gasche *et al.*, 2010). Estes doentes apresentam assim uma diminuição do ferro sérico, TIBC normal ou baixo, diminuição da concentração de TfR e ferritina sérica normal ou alta. Este último indicador bioquímico, quando usado isoladamente, é o que melhor avalia as reservas reticuloendoteliais de ferro,

Para além disso, a α -1-antitripsina (proteína de fase aguda), liga-se ao receptor da transferrina, inibindo assim a absorção de ferro pelos progenitores eritróides, bloqueando o crescimento e diferenciação celulares (Weiss & Gasche, 2010).

Deste modo, a eritropoiese ineficaz que se observa neste tipo de anemia, resulta de dois processos: o aumento da produção de EPO em resposta à anemia não é suficientemente elevado para o grau de anemia e, por outro lado, há uma diminuição da sensibilidade à EPO por parte dos precursores eritróides.

A anemia é corrigida apenas quando a doença de base é tratada com sucesso (Hoffbrand *et al.*, 2006). O tratamento com ferro deve ser evitado nos doentes com ACD, já que a suplementação com ferro pode favorecer o crescimento e proliferação de microrganismos e células tumorais; pode enfraquecer a resposta imune mediada por células e promover a progressão da doença subjacente.

Contudo, a suplementação com ferro pode beneficiar doentes com ACD associada a distúrbios auto-imunes ou reumatológicos. Nestes, o enfraquecimento da imunidade mediada por células pelo ferro pode ajudar a reduzir a actividade da doença e melhorar a ACD, neutralizando a actividade do TNF- α e INF- γ (Jayaranee & Sthaneshwar, 2006).

4.2.3. Intoxicação por Chumbo

A intoxicação por chumbo é uma causa rara de anemia microcítica hipocrômica.

A tinta e a gasolina com chumbo deixaram de ser produzidas de forma faseada nos anos 70, 80 e 90. Contudo, muitas habitações antigas permanecem pintadas com tinta que apresenta níveis residuais deste metal. Em adição, o chumbo das auto-emissões permanece durante anos no solo, fornecendo fontes de envenenamento (Richardson, 2011). Por outro lado, crianças com intoxicação por chumbo podem ter PICA, sendo esta uma causa ou um sintoma da intoxicação por chumbo.

A intoxicação por chumbo pode provocar anemia microcítica por dois mecanismos: sendo um metal divalente interfere com a absorção de ferro bem como com a sua utilização na síntese do heme (assim a microcitose observada na intoxicação por chumbo é também devida à deficiência de ferro); o chumbo pode inibir directamente as enzimas envolvidas na síntese do heme, em particular a sintetase do porfobilinogénio e a ferroquelatase (Jain & Kamat, 2009).

Os níveis plasmáticos de chumbo são facilmente mensuráveis, a protoporfirina eritrocitária livre está aumentada e a medula óssea apresenta na maioria das vezes sideroblastos em anel (Hoffbrand *et al.*, 2006).

4.2.4. Atransferrinémia

A atransferrinemia ou hipotransferrinemia é uma doença autossómica recessiva muito rara que se manifesta cedo na infância, e se caracteriza pela deficiência de transferrina, originando uma AMH severa. Aliás, a anemia é uma das principais manifestações clínicas

desta doença. Apesar de rara, a doença deve ser considerada em casos de AMH, baixos níveis de ferro e TIBC e elevação da ferritina plasmática.

Mutações no gene da transferrina (3q21) estão associadas a esta doença, resultando na deficiente expressão de transferrina, na diminuição da acessibilidade ao ferro por parte dos precursores eritróides e por último em AMH (Shamsian *et al.*, 2009).

A terapêutica suplementar com apo-transferrina resulta no desaparecimento gradual da anemia e melhoria do crescimento, mas este tratamento tem apenas um efeito transitório. O mesmo se passa com a infusão de plasma fresco congelado (Shamsian *et al.*, 2009).

4.3. DEFEITOS NOS GENES DA GLOBINA - HEMOGLOBINOPATIAS

As Hemoglobinopatias são doenças hereditárias nas quais ocorrem defeitos na síntese das cadeias de globina, aquando da sua produção. Este termo engloba os distúrbios em que ocorre diminuição da síntese de cadeias (Talassémias) e os distúrbios em que as cadeias de globina, apesar de produzidos em quantidades normais, são estruturalmente anormais e consequentemente a hemoglobina produzida (como acontece por exemplo na anemia falciforme).

4.3.1. Talassémias

As Talassémias são uma família de doenças que resultam da diminuição da produção de cadeias de globina (alterações quantitativas). Este défice tanto pode ser ao nível das cadeias alfa (α -Talassémias) como das cadeias beta (β -Talassémias) (Hoffbrand *et al.*, 2006).

Como mencionado a hemoglobina é um tetrâmero formado por 2 pares de cadeias polipeptídicas, as cadeia α , α_1 e α_2 , e α -like ζ , e as cadeia β e β -like, γ , ϵ e δ , ligadas por ligações não covalentes. Cada cadeia está ligada covalentemente a um grupo heme. A hemoglobina do adulto é fundamentalmente constituída por cadeias $\alpha_2\beta_2$, (hemoglobina A, aproximadamente 97%), embora exista uma pequena percentagem de cadeias $\alpha_2\delta_2$ (hemoglobina A₂, 2 a 3%) e $\alpha_2\gamma_2$ (hemoglobina F, inferior a 1%).

Os genes para as cadeias globínicas existem em dois “Clusters”, localizados nos cromossomas 11 e 16, respectivamente para as cadeias beta/beta *like* e alfa/alfa *like* (Figura 13). O produto dos 2 genes é expresso em quantidades iguais, mantendo-se o equilíbrio na produção de cadeias ao longo do desenvolvimento.

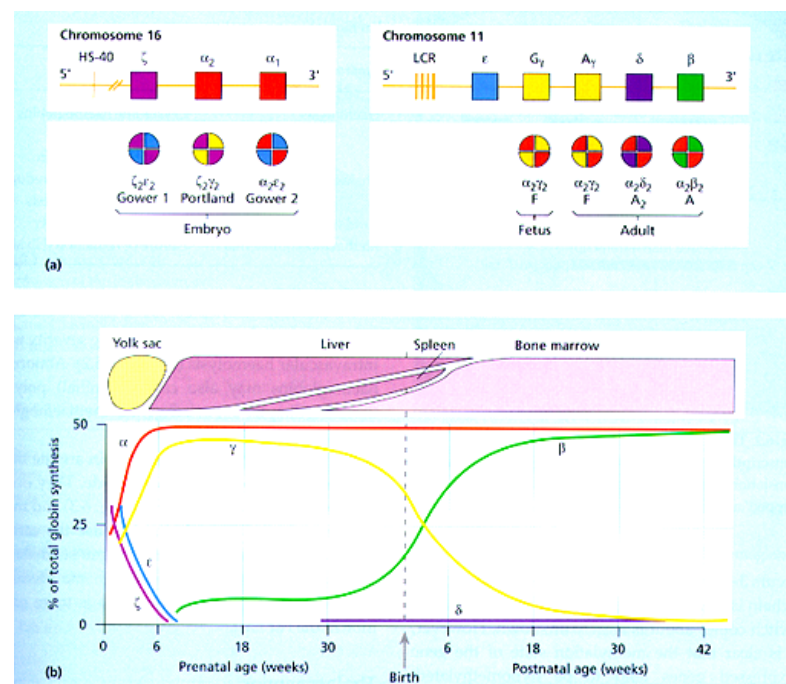


Figura 13 – Expressão das cadeias globínicas ao longo do desenvolvimento (Adaptado de Hoffbrand, *et al.*, 2006)

Nas β -Talassémias, dependendo da mutação específica, a produção de cadeias β pode variar de quase inexistente a normal. De facto, como existem dois genes que controlam a

produção de β -globina, um em cada cromossoma 11, se o defeito ocorrer apenas num único gene, surge uma forma menos grave de talassémia, a β -Talassémia *Minor* (este distúrbio é mais frequente em Afro-Americanos e descendentes de Mediterrânicos). As crianças com apenas uma mutação são habitualmente assintomáticas e não apresentam achados físicos.

No entanto, se os dois genes estão afectados surge uma forma mais grave, a β -Talassémia *Major* (anemia de Cooley). Assim, aquando da transição da hemoglobina fetal para o padrão adulto, nenhuma cadeia β está presente. Na forma intermédia da doença há alguma actividade entre os dois genes (Figura 14).

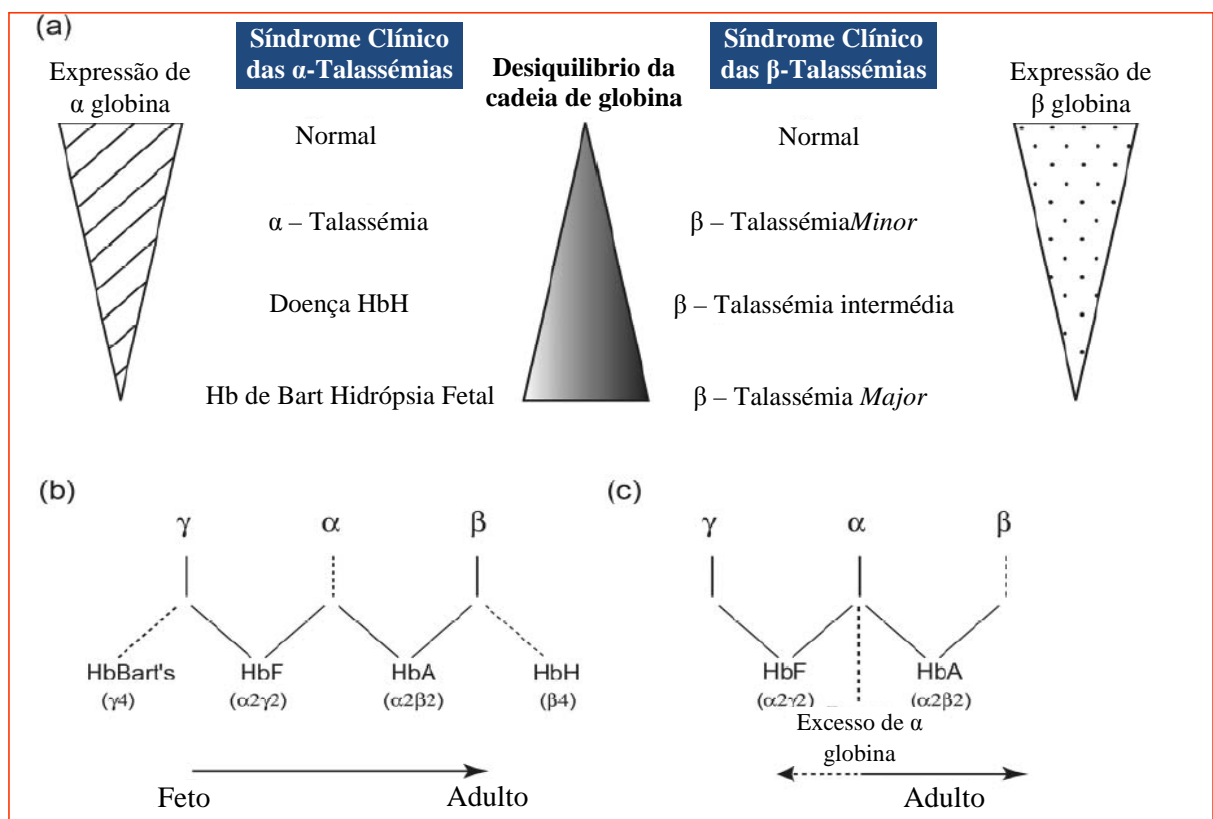


Figura 14 - As síndromes talassémicas.

Os achados físicos surgem habitualmente na segunda metade do primeiro ano de vida (Jain & Kamat, 2009) e incluem hepatoesplenomegalia, atraso do crescimento, e em alguns casos não tratados pode surgir expansão do frontal e hiperplasia do maxilar (resultante da

deformação do osso cortical devido à hiperplasia eritróide da medula óssea) (Figura 15) (Richardson, 2011).

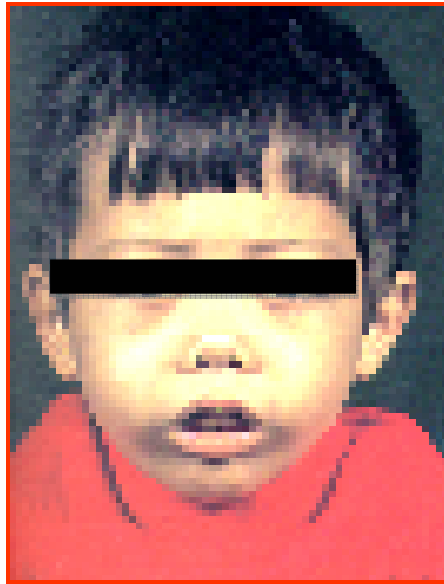


Figura 15 – Criança com *faciês* talassémico.

O diagnóstico de β -Talassémia envolve além do hemograma, do esfregaço de sangue periférico e do estudo do metabolismo do ferro, a avaliação da concentração de HbF e HbA₂ em eritrócitos lisados (HbA₂>3,5% faz o diagnóstico), através de electroforese e/ou de cromatografia líquida de alta performance (HPLC) (Tabela 4). Este método constitui o “gold standard”.

Apesar da anemia microcítica, a concentração sérica de ferritina, de ferro, TIBC e protoporfirina eritrocitária livre são normais; O índice de Mentzer é habitualmente inferior a 13 (Janus & Moerschel, 2010); na forma *Major*, a electroforese revela ausência de HbA e quantidades aumentadas de HbA₂ e HbF; na forma intermédia, a electroforese revela quantidades variáveis de HbA, dependendo da sua gravidade.

Tabela 4 – Diagnóstico diferencial de Talassémia *major* e intermédia

	Talassémia <i>Major</i>	Talassémia Intermédia
Clínica: <ul style="list-style-type: none"> • Apresentação (anos) • Níveis de Hb (g/dL) • Hepato/esplenomegalia 	<p><2</p> <p><7</p> <p>Severa</p>	<p>>2</p> <p>8-10</p> <p>Moderada a Severa</p>
Hematologia: <ul style="list-style-type: none"> • HbF (%) • HbA₂ (%) 	<p>>50</p> <p><4</p>	<p>10-50 (até 100%)</p> <p>>4</p>
Genética: <ul style="list-style-type: none"> • Pais 	<p>Ambos portadores de β-Talassémia (HbA₂ alta)</p>	<p>Um ou ambos portadores assintomáticos</p> <p>- β-Talassémia (HbF alta)</p> <p>- Valores HbA₂ borderline</p>
Molecular: <ul style="list-style-type: none"> • Tipo de mutação • Co-herança de β-Talassémia • Persistência hereditária de HbF • $\delta\beta$ – Talassémia • Polimorfismo <i>G_{\gamma}XmnI</i> 	<p>Severa</p> <p>Não</p> <p>Não</p> <p>Não</p> <p>Não</p>	<p>Moderada/Silenciosa</p> <p>Sim</p> <p>Sim</p> <p>Sim</p> <p>Sim</p>

(Adaptado de Lamber J F *et al.*, 2011)

Assim, em doentes com anemia microcítica que não apresentem deficiência de ferro e que não respondem à terapêutica com ferro, devem ser feitos testes de pesquisa de Talassémia. A HbA₂ e F devem ser quantificadas para confirmar a presença da doença (Urrechaga *et al.*, 2011).

De salientar que, enquanto as formas intermédias de β -Talassémia não requerem tratamento, os doentes com β -Talassémia *Major* necessitam de transfusões de eritrócitos e sofrem das complicações associadas ao excesso de ferro, exposição a múltiplos antígenos dos

eritrócitos e potencial exposição a patógenos veiculados pelo sangue. O transplante de medula óssea de um dador compatível é curativo.

Quanto às α -Talassemias, quatro genes idênticos estão envolvidos na produção de α -globinas, dois em cada cópia do cromossoma 16. Deste modo, a mutação num único gene resulta em α -Talassemia silenciosa, que é assintomática. Mutações em dois genes originam α -Talassemia que pode ser devido a uma deleção em ambos os cromossomas ou deleção de dois genes no mesmo cromossoma. As crianças afectadas têm microcitose e frequentemente anemia ligeira ou ausente (Richardson, 2011). Por outro lado, a deleção em 3 genes originam a HbH. Esta hemoglobina é composta por um grupo heme ligado a quatro cadeias β devido à pequena quantidade de cadeias α sintetizadas. Quando os quatro genes são defeituosos, a hemoglobina normal não pode ser sintetizada, do que resulta hidrósia fetal (anemia severa com alto débito cardíaco e anasarca) quase sempre fatal (Figura 16). Este distúrbio deve ser suspeitado quando há microcitose e não há evidência de deficiência de ferro ou β -Talassemia.

A α -Talassemia silenciosa não requer tratamento; as crianças com HbH podem necessitar de suplementos de folato, transfusões periódicas e talvez esplenectomia. O transplante de medula óssea é curativo e é o tratamento de escolha.

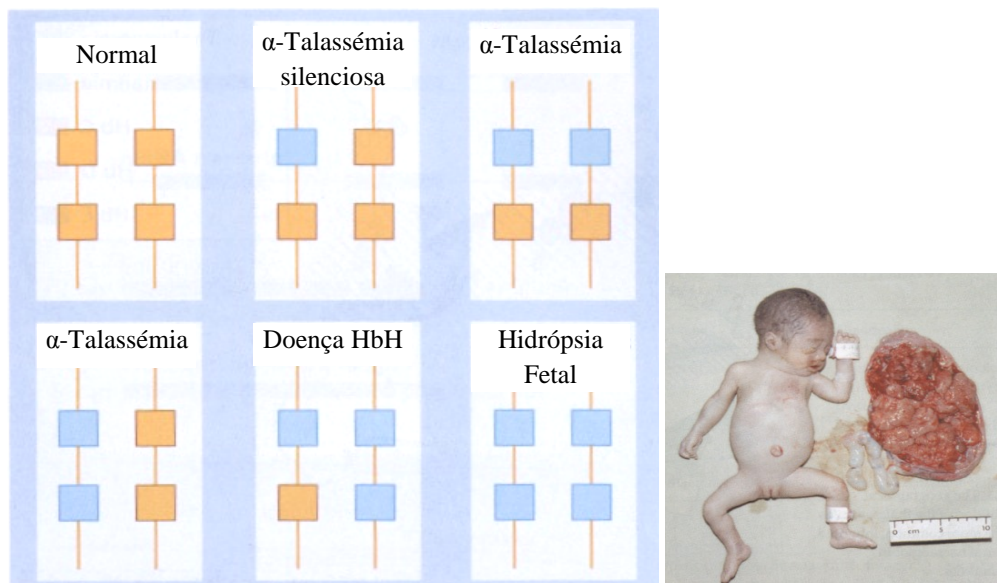


Figura 16 – α -Talassemias: número de deleções genéticas que podem ocorrer. Caso de hidrósia fetal (Hoffbrand *et al.*, 2006).

Nas Talassémias há uma alteração na proporção das cadeias de α e β -globina, do que resulta a produção de eritrócitos anormais. A eritropoiese ineficaz que se verifica leva a que o ferro se acumule no organismo (principalmente ao nível do fígado e coração), aumentando assim a formação de radicais livres altamente tóxicos. Estes radicais livres provocam efeitos nefastos ao nível do endotélio dos vasos o que condiciona o aparecimento de inúmeras patologias (Figura 17).

Por outro lado, a produção de eritrócitos anormais leva a que ocorra hemólise, o que agrava ainda mais a anemia e conseqüentemente a oxigenação tecidual. Os achados físicos reflectem os mecanismos subjacentes à patologia.

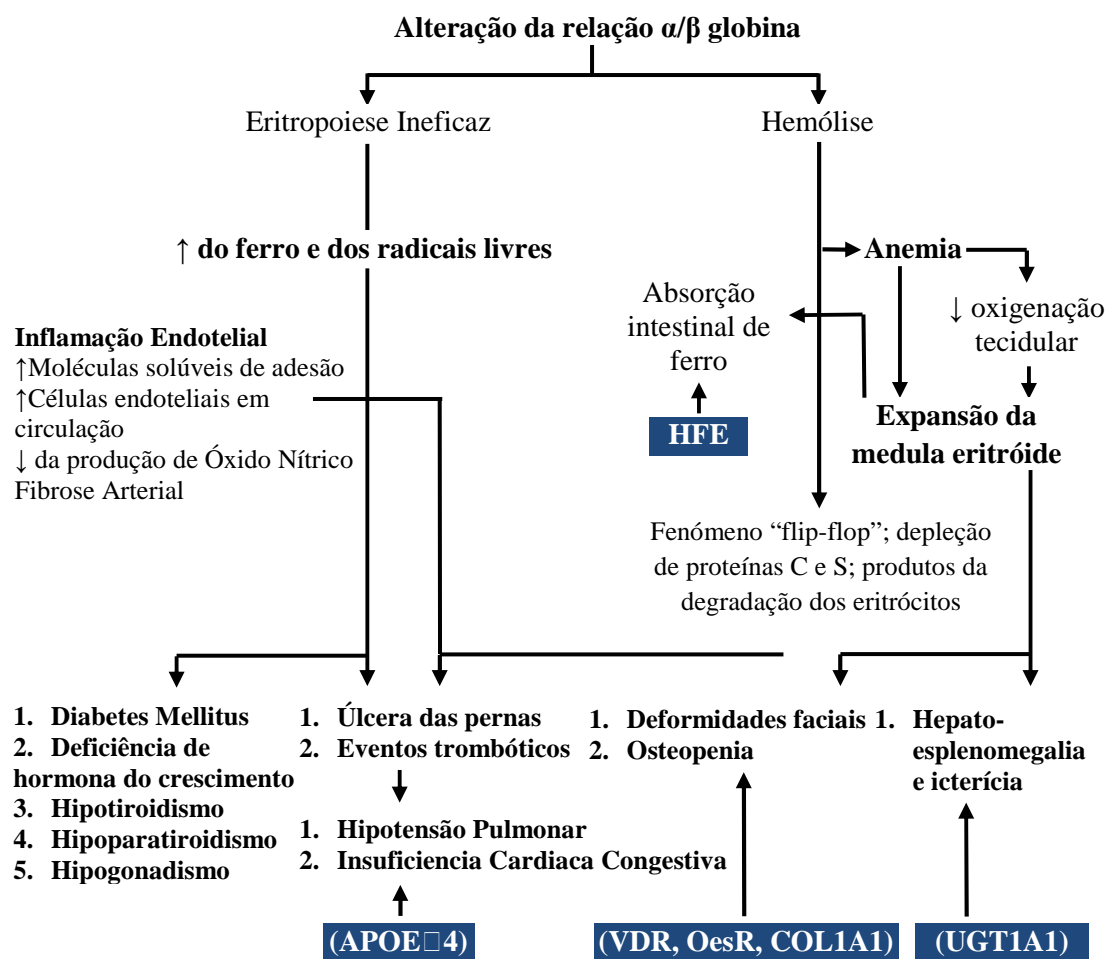


Figura 17: Fisiopatologia da Talassémia não tratada e as correspondentes manifestações clínicas

Uma vez que as Talassémias são distúrbios mais frequentes em certos grupos étnicos/raciais, a sua presença deve ser equacionada perante uma anemia microcítica hipocrómica, em que as reservas de ferro (ferritina) do organismo são normais. Confirmado o diagnóstico (recorrendo à electroforese da hemoglobina), deve-se iniciar o tratamento caso o doente apresente critérios para tal (Figura 18).

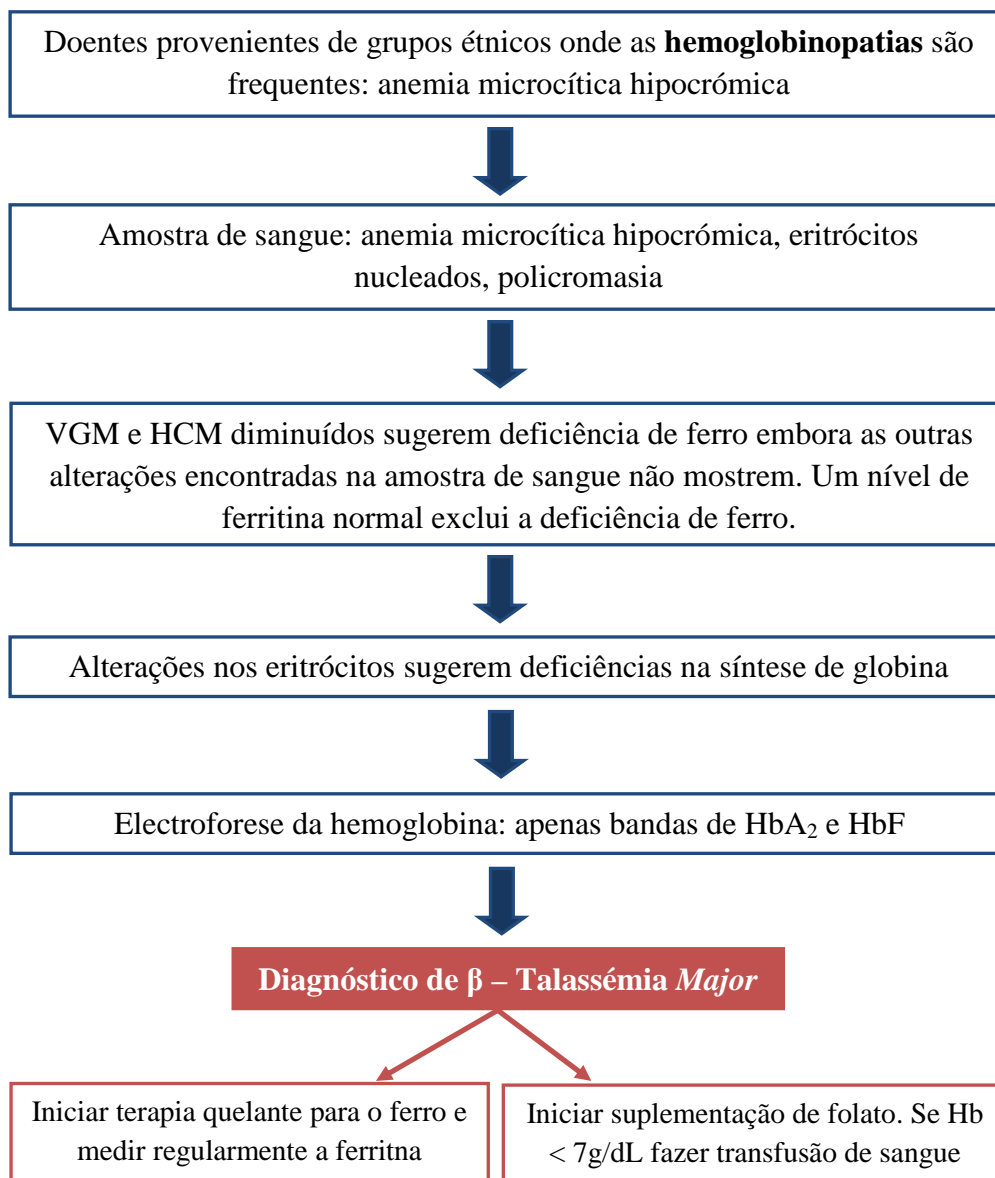


Figura 18: Abordagem a doentes provenientes de grupos étnicos com elevada prevalência de hemoglobinopatias.

4.3.2. Outras hemoglobinopatias

As hemoglobinopatias resultam de defeitos quantitativos (Talassémias), qualitativos ou funcionais ao nível das cadeias de globina, estando envolvidas várias mutações nos genes que codificam as cadeias globínicas, α e β . Algumas mutações não provocam microcitose significativa a não ser que haja uma Talassémia concomitante (Hoffbrand *et al.*, 2006).

A Doença de Células Falciformes ou Hemoglobina S resulta de uma anomalia qualitativa das cadeias globínicas, em particular de uma mutação pontual no codão 6 do gene que codifica a cadeia β (uma adenina é substituída por timina) resultando na substituição do aminoácido ácido glutâmico por valina. Esta alteração molecular leva à diminuição da solubilidade da hemoglobina e alteração da forma do eritrócito, que passa de disco biconcavo para a forma de foice, sobretudo em condições de baixa oxigenação (Figura 19). Além disso a baixa solubilidade desta hemoglobina mutante conduz à sua polimerização e agregação, afoçamento irreversível e, conseqüentemente, à estase, com as respectivas conseqüências clínicas.

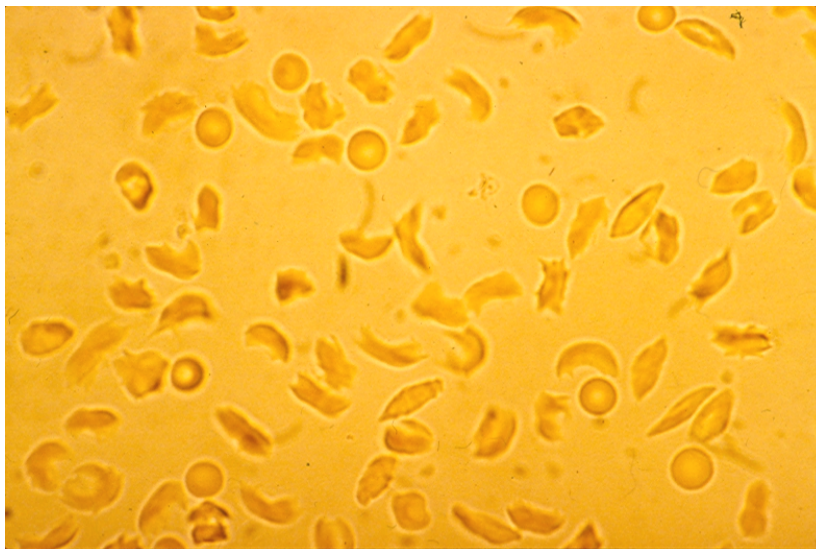


Figura 19 – Esfregaço de sangue periférico evidenciando glóbulos vermelhos em forma de foice.

Assim, os doentes têm anemia e microcitose ligeira e podem apresentar complicações a longo prazo, crises dolorosas vaso-oclusivas e de sequestração visceral, crises aplásticas e hemolíticas, bacteriemia, retinopatia, necrose avascular, angina de peito e enfarte, úlceras dos membros inferiores e hipertensão pulmonar. O diagnóstico deve ser suspeitado quando o RN apresenta HbS ou HbC e ausência de HbA ou quando há história familiar da doença.

4.4. DEFEITOS NA SÍNTESE DO HEME: ANEMIAS SIDEROBLÁSTICAS

As anemias sideroblásticas constituem um grupo raro de doenças resultantes da alteração do metabolismo do heme, que se caracterizam por anemia hipocrômica microcítica e a presença de sideroblastos em anel na MO (Figura 20) numa percentagem superior ou igual a 15%.

Podem ser hereditárias, frequentemente ligada ao X (deficiência na enzima sintetase do ácido δ -aminolevulínico ou heme sintetase), ou adquiridas mas, independentemente da causa, devem-se a uma falha na inserção do ferro no anel de porfirina durante a síntese mitocondrial do heme (Tabela 5) (Ye *et al.*, 2005).

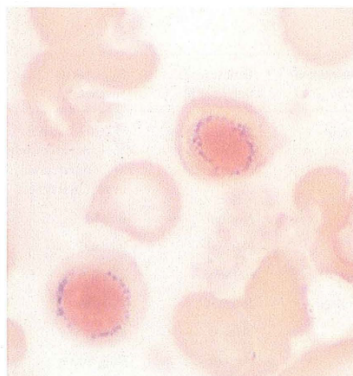


Figura 20 - Sideroblastos em anel. A figura mostra um anel perinuclear de grânulos de ferro (sideroblasto em anel). (Adaptado de Hofbrand *et al*, 2006 e 2011).

Tabela 5 - Classificação das anemias sideroblásticas

Hereditárias:
Ocorrem mais frequentemente em homens (transmitidas pelas mulheres), embora também possam se observadas em mulheres
Adquiridas:
Primárias: Mielodisplasia (anemia refractária com sideroblastos em anel)
Secundárias: A formação de sideroblastos em anel também pode ocorrer na medula nas seguintes situações: <ul style="list-style-type: none">• Doenças malignas da medula (outros tipos de mielodisplasia, mielofibrose, leucemia mielóide e mieloma);• Drogas, como antituberculosos (isoniazida e cicloserina), álcool e chumbo;• Outras condições benignas (anemia hemolítica, anemia megaloblástica, má-absorção, artrite reumatóide).

(Adaptado de Hofbrand *et al*, 2006 e 2011)

As formas adquiridas dividem-se em primárias ou idiopáticas (ex. síndrome mielodisplásico) e secundárias (ex. intoxicação por chumbo, alcoolismo, terapêutica com isoniazida ou cloranfenicol) (Tabela 5) (Shoho *et al.*, 2000, Hofbrand 2006).

A anemia sideroblástica adquirida idiopática, também conhecida como anemia refractária com sideroblastos em anel, ocorre principalmente em adultos mais velhos (este distúrbio ocorre em 10-12% dos casos de síndromes mielodisplásicos, segundo a OMS). É uma patologia rara em crianças, mas é uma entidade importante e deve ser considerada no diagnóstico diferencial de uma anemia microcítica hipocrômica em crianças (Ye *et al.*, 2005). No entanto, a patogênese desta doença permanece pouco compreendida.

Todas as formas de anemia sideroblástica apresentam eritropoiese ineficaz, hiperplasia eritróide, aumento das reservas de ferro e dos sideroblastos em anel (estes constituem mais de

15% dos precursores eritróides, como mencionado). O excesso de ferro deposita-se nos eritroblastos da medula óssea como anéis à volta do núcleo (sideroblastos patológicos em anel). O sangue periférico caracteriza-se pela presença de duas populações diferentes de eritrócitos, com uma marcada anisopoiquilocitose e pontilhado basófilo. O ferro sérico está frequentemente elevado e a TIBC diminuída. A protoporfirina livre está tipicamente elevada nas formas adquiridas, sendo os níveis mais elevados observados na intoxicação por chumbo (Ye *et al.*, 2005).

O diagnóstico requer a aspiração de medula óssea (Janus & Moerschel, 2010).

Nos doentes com a forma hereditária há resposta ao tratamento com piridoxina, um cofactor da enzima sintetase do ácido δ -aminolevulínico ou heme sintetase. Em casos muito graves o recurso a transfusões contínuas é frequente, e tem como objectivo manter a concentração de hemoglobina satisfatória. No entanto, a sobrecarga de ferro torna-se um problema sério (Hoffbrand *et al.*, 2006).

5. DIAGNÓSTICO E DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

5.1. APRESENTAÇÃO CLÍNICA

A anemia é muitas vezes assintomática, sendo assim detectada em grande parte dos casos em exames de rotina ou quando o hemograma é obtido na sequência de outra doença. Deste modo, as formas leves de anemia apresentam-se frequentemente sem sintomas ou com queixas inespecíficas (Jain & Kamat, 2009).

Os sintomas que o doente apresenta dependem da severidade e velocidade de instalação da anemia e incluem fraqueza, sonolência excessiva, letargia, diminuição da

concentração, depressão, irritabilidade ou comportamento inadequado, dispneia, diminuição da tolerância ao exercício, palpitações, confusão, síncope e ortopneia (Jain & Kamat, 2009). Outros sintomas clássicos, mas menos frequentes nos países desenvolvidos, são a coiloníquia (surge na anemia ferropénica), glossite, estomatite angular e disfagia (Figura 21)

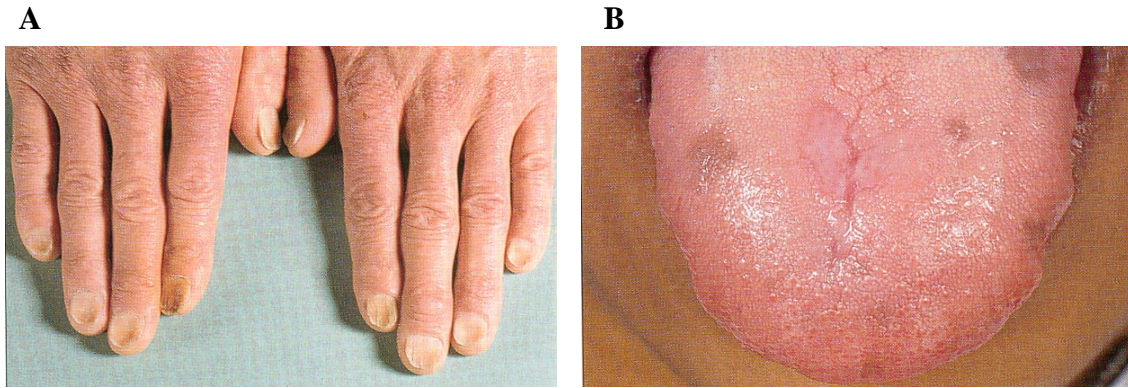


Figura 21 – Manifestações de anemia ferropénica. Em (A) unhas em colher típicas: quebradiças e enrugadas (coiloníquia); em (B) glossite.

A persistência de anemia associa-se a alterações da função cardíaca e renal, diminuição do aporte de oxigénio aos tecidos, diminuição da actividade física, fadiga e diminuição da qualidade de vida (Weiss & Gasche, 2010). A reduzida eficácia energética e metabólica durante a actividade física também contribui para a perda de peso na anemia.

A dispneia e a taquicardia resultam da diminuição dos níveis de oxigénio e consequente hipóxia periférica. A nível do sistema nervoso central, a hipóxia pode levar a sintomas como cefaleias, tonturas, vertigens, zumbidos ou confusão. O tratamento da anemia melhora a função cognitiva.

Alterações da motilidade, náuseas, anorexia e até mesmo má absorção, têm sido atribuídas à anemia.

Um achado comum entre as mulheres é a menorragia e a amenorreia; os homens podem sofrer de impotência. A perda de libido pode contribuir para a perda de qualidade de vida em ambos os sexos (Gasche *et al.*, 2010).

Os sinais clínicos de anemia incluem palidez da pele e mucosas (quando a Hb é inferior a 9/10g/dL), hipercinese circulatória, taquicardia, pulso amplo, sopro sistólico, cardiomegalia e sinais de insuficiência cardíaca.

Nas crianças a deficiência de ferro pode provocar cansaço, irritabilidade, diminuição da função cognitiva e do desenvolvimento psicomotor (Hoffbrand *et al.*, 2006). Os familiares que contactem esporadicamente com a criança podem notar palidez. Esta pode ser observada ao nível das conjuntivas e nas pregas das palmas das mãos. Em doentes negros, a pesquisa de palidez deve ser feita no leito ungueal.

Ao exame físico a criança pode apresentar taquicardia em repouso. A presença de esplenomegalia deve fazer colocar a hipótese de hemoglobinopatia (ex. talassémia). A deformação óssea do osso frontal ou a displasia do maxilar sugere hipertrofia da medula óssea, frequentemente observada em síndromes Talassémicas *Major* (Figura 15)(Richardson, 2011).

Nos doentes idosos podem surgir sintomas de insuficiência cardíaca, angina de peito, claudicação intermitente e confusão mental. Se a anemia é severa e de rápida instalação, pode haver hemorragia da retina com os consequentes distúrbios visuais.

Em suma, à anemia associam-se consequências físicas, emocionais, psicológicas e sociais, afectando praticamente todos os aspectos da vida diária (Gasche *et al.*, 2010). O seu diagnóstico pode ser atrasado pela presença de condições relacionadas com a idade como seja: a diminuição da percepção de sintomas ou a errada atribuição da fadiga à idade ou a condições preexistentes.

5.2. AVALIAÇÃO LABORATORIAL

O diagnóstico de anemia não pode ser feito recorrendo apenas aos sintomas que o doente apresenta. Assim, a avaliação laboratorial desempenha um papel muito importante.

A anemia é inicialmente diagnosticada em análises de rotina, com base na concentração de hemoglobina e no hematócrito. Segundo a OMS estamos perante um adulto com anemia quando os níveis de hemoglobina são inferior a 12g/dL na mulher (11g/dL na grávida) e a 13g/dL no homem (Hoffbrand *et al.*, 2006).

Para se classificar a anemia para além do hemograma completo com avaliação dos reticulócitos, devem-se determinar os índices eritrocitários e realizar o esfregaço de sangue periférico (as células são examinadas quanto ao seu tamanho, intensidade de coloração, anomalias da forma e presença de inclusões) (Jain & Kamat, 2009).

Como mencionado, a anemia microcítica hipocrómica caracteriza-se por VGM inferior a 80fl, HCM inferior a 27pg e CHMC inferior a 30g/dL. Os eritrócitos são hipocrómicos quando a sua palidez central é maior do que um terço do seu diâmetro total.

A anemia ferropénia é a AMH mais frequentemente encontrada na prática clínica, tendo a sua investigação mudado nos últimos anos.

Em mulheres pós-menopáusicas e em homens de todas as idades a investigação da causa da anemia ferropénica passa pela avaliação endoscópica (endoscopia digestiva alta e colonoscopia) de modo a detectar uma possível hemorragia oculta (Hoffbrand *et al.*, 2006).

Em termos laboratoriais, os baixos níveis séricos de ferro, a diminuição da saturação da transferrina e o aumento da capacidade total de ligação do ferro (TIBC) são característicos da anemia ferropénica, mas o nível de ferritina sérico é considerado o mais poderoso teste diagnóstico desta anemia, quando usado isoladamente (Janus & Moerschel, 2010).

Apesar de a ferritina ser uma proteína de armazenamento intracelular do ferro, pequenas quantidades são secretadas para a circulação, podendo assim ser medidas laboratorialmente (1ng/mL de ferritina sérica corresponde a aproximadamente 8mg de ferro armazenado) (Muñoz *et al.*, 2009). Assim, o diagnóstico da deficiência de ferro é feito quando a ferritina é inferior a 30ng/mL, na ausência de inflamação, e a saturação de transferrina é inferior a 20%. A presença de ferritina sérica superior a 100µg/l exclui uma deficiência de ferro. A determinação da ferritina permite assim o diagnóstico diferencial entre anemia ferropénica e anemia de doença crónica em que há deficiência funcional da utilização do ferro (Tabela 6).

Tabela 6 - Diagnóstico diferencial de anemias hipocrómicas e microcíticas

	Deficiência de ferro	Inflamação Crónica / Neoplasia	Talassémias (α ou β)	Anemia Sideroblástica
VGM HCM	Diminuído em relação com o grau de anemia	Normal ou moderadamente diminuído	Diminuído: muito baixo para o grau de anemia	Normalmente diminuído na forma congénita e elevado nas formas adquiridas
Ferro Sérico	Diminuído	Diminuído	Normal	Aumentado
TIBC	Aumentada	Diminuída	Normal	Normal
Receptor da transferrina sérico	Aumentado	Normal ou diminuído	Variável	Normal
Ferritina Sérica	Diminuída	Normal ou aumentada	Normal	Aumentada
Reservas de ferro na medula óssea	Ausentes	Presentes	Presentes	Presentes
Ferro ao novel dos eritroblastos	Ausente	Ausente	Presente	Forma em anel
Electroforese da hemoglobina	Normal	Normal	HbA ₂ aumentada na forma β	Normal

VGM: volume globular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; TIBC: capacidade total de ligação ao ferro. (Adaptado de Hoffbrand *et al.*, 2006 e 2011)

O ferro sérico pode ser afectado por contaminação externa da amostra de sangue, variações diurnas e pela terapia concomitante com ferro. A ferritina sérica, pelo contrário, não é afectada por estas variações. Um argumento que pode ser usado contra a ferritina sérica é o facto de ela ser uma proteína inflamatória de fase aguda e, deste modo, poder estar elevada em várias situações inflamatórias (Janus & Moerschel, 2010).

De salientar que a anemia ferropénica só se manifesta quando as reservas de ferro da medula são depletadas (Shoho *et al.*, 2000). No entanto, a deficiência de ferro pode ser absoluta ou funcional. Na deficiência absoluta não há reservas de ferro, estas estão esgotadas; na funcional apesar da existência de reservas de ferro, estas não podem ser mobilizadas dos macrófagos do SRE para a medula óssea, tão rápido quanto seria necessário, (Richardson, 2011).

Como a transferrina é a proteína transportadora de ferro, a sua saturação reflecte a disponibilidade de ferro para a medula óssea (Muñoz *et al.*, 2009). Na presença de inflamação a concentração de ferritina é normal e a saturação de transferrina é baixa (deficiência funcional de ferro).

Para além da microcitose, a deficiência de ferro resulta no aumento do RDW (*red cell distribution width* – índice de anisocitose) e diminuição da contagem de reticulócitos. As plaquetas podem estar elevadas (Richardson, 2011).

O aspirado da medula óssea, fixado com azul da Prússia é considerado o marcador definitivo da deficiência de ferro, permitindo ainda avaliar a presença de sideroblastos em anel. No entanto, este exame é incómodo, desconfortável e impraticável na prática clínica diária, ficando reservado para situações em que não se consegue identificar a causa. Daí a necessidade de exames não-invasivos e sensíveis para o diagnóstico de anemia. Uma abordagem possível é a determinação do receptor da transferrina sérico (TfR). Este não se encontra elevado na infecção ou inflamação, ao contrário da ferritina plasmática, e pode ser

especialmente útil no diagnóstico diferencial entre anemia ferropénica e ACD (Jayarane & Sthaneshwar, 2006).

O TfR é uma glicoproteína transmembranar que liga a transferrina. É encontrado em altas concentrações na superfície de células que requerem grandes quantidades de ferro. Enquanto que os níveis de ferritina variam com as reservas de ferro, os níveis de TfR reflectem o suprimento de ferro dos tecidos. Os factores determinantes mais importantes dos níveis de TfR são o *status* do ferro no organismo e a expansão e actividade eritróide da medula. Portanto, haverá aumento da síntese de TfR em condições associadas a um fornecimento de ferro reduzido à medula óssea e aumento da actividade eritropoiética (Jayarane & Sthaneshwar, 2006). Deste modo, os níveis séricos de TfR são altos em doentes com anemia ferropénica e em doentes em que há hiperplasia eritróide (β -talassémia), e são reduzidos em doenças que cursam com hipoplasia. O nível de TfR está correlacionado inversamente com os níveis séricos de ferritina em doentes com anemia ferropénica. Também pode apresentar uma correlação inversa com os níveis de Hb, VCM, HCM mas não com o ferro sérico.

Assim, a avaliação do TfR pode ser útil na investigação de AMH ao permitir diagnosticar uma deficiência de ferro associada a inflamação crónica. O seu doseamento pode ser feito de forma selectiva em doentes com ACD cujos níveis de ferritina são superiores a 60 μ g/L. Este doseamento não traz qualquer vantagem na anemia ferropénica pura, quando os exames laboratoriais de rotina são suficientes para fazer o diagnóstico. Um valor de TfR demasiadamente baixo para o grau de anemia é uma indicação da diminuição da actividade eritropoiética da medula.

O TfR e a relação TfR/ferritina são parâmetros úteis para diagnosticar a deficiência de ferro particularmente quando associada a inflamação crónica. Na presença de infecção/inflamação a concentração sérica de ferro e transferrina é baixa, ao passo que a da

ferritina é alta. Assim, TfR/ferritina tem um valor limitado em indivíduos com inflamação ou doença hepática (Brugnara, 2003).

A concentração de protoporfirina eritrocitária livre (FEP), precursora do heme, pode estar elevada (a FEP também pode estar elevada na intoxicação por chumbo).

Os doentes devem ser diagnosticados com ACD quando há anemia, evidência de inflamação crónica (elevação da proteína C reactiva, PCR), a saturação da transferrina é inferior a 20% mas a concentração de ferritina sérica é normal/aumentada (superior a 100ng/mL) ou baixa (30 a 100ng/mL) e a relação TfR/ferritina é inferior a 1. Quando co-existe ACD e anemia ferropénica, a TfR/ferritina é superior a 2 (Muñoz *et al.*, 2009).

Na β -talassémia os eritrócitos apresentam microcitose acentuada, como resultado do aumento crónico da eritropoiese, podendo ser detectados eritroblastos no sangue periférico. Os eritrócitos têm um pequeno volume devido à síntese inapropriada de globina, mas têm uma concentração de hemoglobina quase normal. Só quando estes doentes apresentam défice de ferro é que a percentagem de células hipocrómicas aumenta (Urrechaga, 2008).

O aparecimento de grânulos azuis no citoplasma traduz a agregação de ribossomas, um achado que pode ser observado em Talassémias, hemoglobinas instáveis e por vezes na intoxicação por chumbo. Outras inclusões que podem estar presentes são os corpos de Howell-Jolly (visualizadas nas deficiências graves de ferro) e de Heinz (presentes em síndromas talassémicas ou hemoglobinas instáveis).

Em todos os doentes com anemia microcítica que não apresentem défice de ferro e que não respondam à terapêutica com ferro, devem ser efectuados testes para diagnóstico de Talassémia, em particular deve ser quantificada HbA₂ e HbF, para confirmar a presença da doença (Urrechaga, 2008). A presença de células-alvo é característica de Talassémias e de outras hemoglobinopatias.

Assim, o diagnóstico diferencial entre anemia ferropénica e β -Talassémia é feito através da determinação da ferritina plasmática e do estudo das hemoglobinas, em particular a quantificação de HbA₂. Esta quantificação é feita através de HPLC, devido à alta simplicidade na preparação da amostra, na superior resolução e precisão, combinada com a completa automatização do método. O diagnóstico de β -Talassémia é feito quando os níveis de HbA₂ são superiores a 3,5%, a contagem de eritrócitos é superior a $5 \times 10^{12} \text{L}^{-6}$ e o RDW é inferior ou igual a 14% (Tiwari *et al.*, 2009; Shoho *et al.*, 2000)

6. TRATAMENTO

A anemia associa-se a alterações da função cardíaca e renal, diminuição do aporte de oxigénio aos tecidos, diminuição da actividade física, fadiga e diminuição da qualidade de vida (Weiss & Gasche, 2010). O objectivo da terapêutica é a melhoria da qualidade de vida, e isso consegue-se através da mudança na concentração de hemoglobina (na sua elevação) (Gasche *et al.*, 2010).

A escolha da terapêutica adequada baseia-se nos valores laboratoriais que reflectem a severidade da anemia, na(s) causa(s) da anemia e nos sintomas que o doente apresenta (Mayhew, 2006). A idade do doente e a presença de co-morbilidades devem também ser tidas em conta.

Em crianças deve-se diminuir o consumo do leite de vaca, aumentar a ingestão de alimentos contendo ferro-heme e parar a hemorragia.

A anemia por deficiência de ferro permanece como a causa mais comum e tratável de anemia no mundo inteiro. Uma vez identificada a causa subjacente à mesma, a administração

de suplementos de ferro por via oral (para corrigir a anemia e repor os depósitos), leva a melhoria da anemia na maioria dos casos (Brugnara, 2003).

O tratamento da doença de base constitui a melhor abordagem terapêutica na ACD. No entanto, quando não se consegue alcançar esse objectivo, ou quando a anemia é grave, o tratamento da anemia é mandatório (Weiss & Gasche, 2010).

As opções terapêuticas para o tratamento das anemias microcíticas hipocrómicas incluem (para além do tratamento da doença de base), a administração de suplementos de ferro, a transfusão de eritrócitos e a administração de agentes estimulantes da eritropoiese.

6.1. SUPLEMENTOS DE FERRO

O ferro é indispensável a um grande número de processos biológicos, sendo também necessário ao crescimento de microorganismos e à proliferação de células tumorais. Assim, na presença de anemia da doença crónica o sequestro de ferro nos macrófagos do SRE representa uma estratégia de defesa do organismo, e a terapêutica com ferro deve ser evitada já que pode enfraquecer a resposta imune mediada por células e promover a progressão da doença subjacente (Jayarane & Sthaneshwar, 2006).

Na ACD só se deve administrar ferro se houver evidência da sua deficiência. Pode ainda beneficiar doentes com ACD associada a distúrbios auto-imunes ou reumáticos, já que nestas o enfraquecimento da imunidade mediada por células pelo ferro pode ajudar a reduzir a actividade da doença e melhorar a ACD, neutralizando a actividade do TNF- α e INF- γ .

Os suplementos de ferro devem ser considerados em doentes com anemia ferropénica (pois as reservas corporais de ferro estão depletadas), nomeadamente nos doentes em que a

ferritina sérica é inferior ou igual a 40µg/l (ou inferior ou igual a 70µg/l na presença de inflamação crónica) (Galloway & Smellie, 2006).

A administração de ferro pode ser feita por via oral ou parentérica. Se houver um funcionamento normal do intestino, o ferro deve ser administrado por via oral (Richardson, 2011).

Os suplementos de ferro contêm normalmente este micronutriente na forma de sais ferrosos, sulfato ferroso, gluconato ferroso e fumarato ferroso. Todos os componentes ferrosos são oxidados no lúmen intestinal ou no interior da mucosa, com a libertação de radicais hidroxil activados, que vão atacar a parede intestinal e produzir sintomas gastro-intestinais como náuseas, vómitos, obstipação e desconforto abdominal. Outro obstáculo à suplementação com ferro oral é a limitada capacidade de absorção de ferro que ocorre na ACD devido à acção conjunta da hepcidina e do TNF- α (Gasche *et al.*, 2010).

Os efeitos adversos da terapia podem levar à diminuição da ingestão alimentar e a obstipação (Ferrara *et al.*, 2009). A utilização de laxantes, emolientes e o aporte adequado de líquidos podem aliviar a obstipação. As causas mais comuns de falência do tratamento são a assim a não aderência terapêutica e a falha no tratamento da doença de base.

A dose normalmente recomendada é de 150-200mg de ferro elementar por dia mas doses mais elevadas podem ser necessárias quando o ferro é pobremente absorvido. Na criança a dose é de 3 a 6 mg de ferro elementar por kilograma.

Nos primeiros 4 a 6 meses de vida, a criança de termo usa as reservas hepáticas de ferro bem como o ferro presente no leite adaptado ou da amamentação (suplementos de ferro não são necessários nestas crianças). Os prematuros não apresentam reservas de ferro adequadas e necessitam de maiores quantidades de ferro para recuperarem o “corredor” de crescimento. Assim, estes devem receber suplementos de ferro (Janus & Moerschel, 2010).

Parece não haver diferenças ao nível da tolerância entre as diferentes formulações existentes, sendo o sulfato ferroso o mais barato. Fórmulas de libertação contínua devem ser evitadas como terapêutica inicial pois reduzem a quantidade de ferro que é apresentado às vilosidades duodenais para absorção.

O ácido ascórbico (vitamina C) aumenta a absorção de ferro, devendo assim estes suplementos ser tomados em conjunto com alimentos contendo vitamina-c ou sumos.

O aumento da hemoglobina, dos reticulócitos e da HCM dentro de 1 a 4 semanas após o início da terapia com ferro, é a melhor forma de confirmar o diagnóstico de deficiência de ferro (Rirchardson, 2011). A hemoglobina deve subir a um ritmo de 2g/dL a cada 3 semanas, devendo a terapêutica manter-se pelo menos durante 6 meses, de modo a que haja correcção da anemia e reposição de ferro a nível dos depósitos (Hoffbrand *et al.*, 2006).

A resposta hematológica ao ferro por via parentérica não é mais rápida do que a resposta por via oral. No entanto, os depósitos são refeitos com maior rapidez. A presença de hemorragia crónica não corrigível, má absorção intestinal, intolerância ao ferro oral, não aderência ao tratamento e Hb inferior a 6gr/dL constituem indicações para o uso de ferro por via endovenosa (Hoffbrand *et al.*, 2006).

No entanto, a administração directa de ferro na circulação exige formulações que impeçam a toxicidade celular dos sais de ferro, estando actualmente três produtos disponíveis, o ferro dextrano, o gluconato e a sacarose de ferro.

O ferro dextrano é um produto estável, uma vez que os seus complexos são fagocitados activamente por macrófagos do SRE antes de serem libertados e ficarem disponíveis para a síntese de hemoglobina. A sua semi-vida plasmática é de 3 a 4 dias, o que permite a administração de doses únicas elevadas. No entanto, pode causar reacções anafiláticas, apresentando o doente hipotensão, câibras, náuseas, vómitos, cefaleias e diarreia (Mayhew, 2006).

O gluconato de ferro apresenta uma cinética de degradação rápida, a sua toxicidade potencial é causada pela super-saturação da transferrina já que, o ferro iónico livre, não ligado à transferrina, pode induzir lesão endotelial. Os sintomas clínicos nestas circunstâncias incluem náuseas, hipotensão, taquicardia, dispneia (edema pulmonar) e edema bilateral das mãos e dos pés (não deve ser interpretado como anafilaxia). O uso desta preparação em doentes em diálise e com deficiência de ferro é seguro e com eficácia superior à do ferro dextrano.

Com a sacarose de ferro não há risco de reacções anafiláticas. É parcialmente estável, tem uma cinética de degradação média e uma semi-vida relativamente curta (5-6 horas). Doses únicas até 300 mg são seguras, sendo a dosagem máxima recomendada de 600 mg/semana (esta quantidade excede contudo as necessidades fisiológicas para a proliferação de eritroblastos). Se a velocidade de infusão é muito alta (acima de 4mg de Fe^{3+} /min) ou se a dose é muito alta (acima de 7mg de Fe^{3+} /Kg) a quantidade de ferro livre (não ligado à transferrina) provoca os sintomas descritos para o gluconato de ferro. A sacarose de ferro também tem sido usada com segurança após o 1º trimestre de gravidez e no pós-parto (Gasche *et al.*, 2010).

Em geral, as vias intramusculares e subcutâneas são obsoletas para a administração parenteral de ferro devido ao aumento de efeitos colaterais e diminuição da eficácia.

O tratamento combinado com suplementos de ferro e EPO em doentes com anemia e artrite reumatóide activa reduz significativamente a actividade da doença (Figura 22).

A presença de sintomas sistémicos ou a ausência de resposta ao ferro (suplementos) deve levar à investigação/pesquisa de doenças potencialmente graves (Shoho *et al.*, 2000).

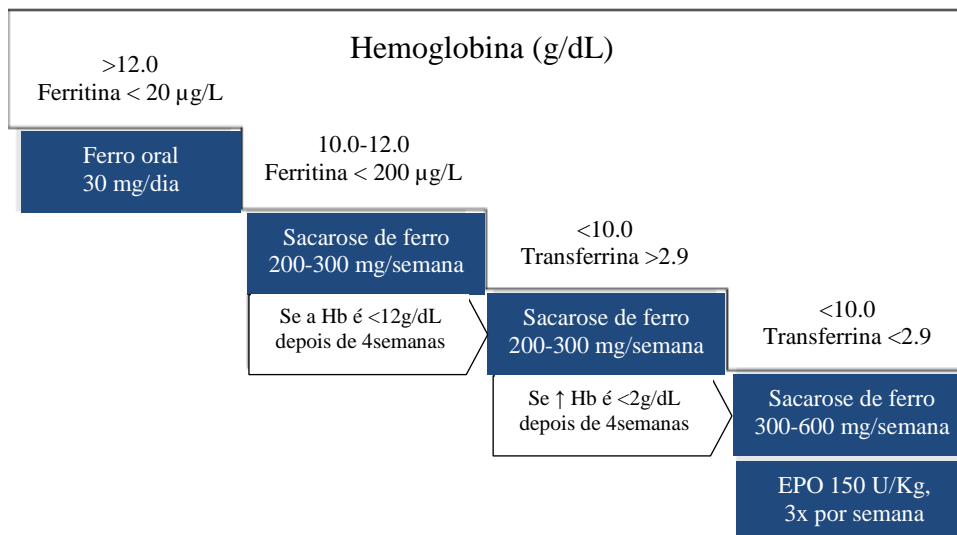


Figura 22: Terapêutica ajustada ao grau de anemia (Adaptado de Gasche *et al.*, 2010)

6.2. TRANSFUSÃO DE ERITRÓCITOS

A transfusão de concentrado de eritrócitos é amplamente utilizada como uma medida de intervenção para a rápida correção de uma anemia grave (hemoglobina inferior a 8 g/dL), ou que coloque em risco a vida do doente (níveis inferiores a 6,5 g/dL). No entanto, as transfusões não corrigem a patologia de base, logo não têm um efeito duradouro. Durante a transfusão o doente deve ser monitorizado de modo a evitar o aparecimento de insuficiência cardíaca (Janus & Moerschel, 2010).

No adulto, por cada unidade de eritrócitos a hemoglobina deve aumentar 1g/dL e o hematócrito 3%. Nas crianças, a transfusão de 5ml/Kg deve provocar o mesmo aumento. Se isto não ocorrer devem ser procuradas as causas que provoquem perda, destruição ou sequestro de eritrócitos (como por exemplo hemólise, hemorragia oculta e hiperesplenismo).

A decisão de transfusão de eritrócitos numa anemia aguda deve ser baseada no nível de hemoglobina, nos sintomas que o doente apresenta e na existência de co-morbilidades (Weiss & Gasche, 2010).

O principal objectivo do tratamento de uma anemia aguda é o de evitar o choque hipovolémico. Quando as perdas são inferiores a 15% o doente não apresenta sintomas ou não requer transfusão, a não ser que haja uma anemia prévia; quando são entre 15 a 30% desenvolve-se taquicardia compensatória e a transfusão está indicada apenas se existir anemia prévia à hemorragia, ou se o doente apresenta doença cardíaca ou pulmonar; perdas superiores a 30% provocam choque e se superiores a 40% o choque é severo, sendo a transfusão necessária à salvação da vida do doente (Liumbruno *et al.*, 2009).

Na anemia da doença crónica, a causa e o tipo de anemia devem ser investigados para que se possa adoptar a melhor estratégia terapêutica. Em doentes com patologia cardíaca ou respiratória, com diminuição da oxigenação, devem ser transfundidos com níveis de Hb superiores a 8 g/dL (Hoffbrand *et al.*, 2006).

Nas talassémias, o limiar transfusional é normalmente de 9 a 9,5 g/dL de modo a garantir um equilíbrio entre a inibição da eritropoiese ao nível da medula óssea e a sobrecarga de ferro que advém da transfusão (Liumbruno *et al.*, 2009).

A transfusão de eritrócitos tem muitas desvantagens, como a exposição a antigénios e infecções transmitidas pelo sangue, enfarte agudo do miocárdio (EAM) e sobrecarga de ferro, além dos seus custos elevados (Fishbane, 2010).

6.3. AGENTES ESTIMULANTES DA ERITROPOIESE

O uso de eritropoietina recombinante humana (r-HuEPO) está a expandir-se já que constitui uma opção terapêutica no tratamento da anemia.

A experiência inicial em doentes em diálise crónica e os subsequentes estudos em indivíduos normais, mostraram que apesar do uso de ferro oral o aumento da actividade

eritropoiética induzido pela r-HuEPO pode não ser mantido pelo ferro normalmente disponível, ocorrendo assim eritropoiese ineficaz (Brugnara, 2003).

A Epoetina- α e a Darbepoetina são dois análogos muito próximos da EPO, com perfis de eficácia e segurança similares (Fishbane, 2010). São muito eficazes já que reduzem a necessidade de transfusões em doentes com anemia, seja ela devida a doença renal crónica ou a cancro. Contudo muitos médicos continuam cautelosos quanto à sua administração, devido a questões de segurança já que doses mais elevadas estão associadas a doença cardio-vascular (DCV), acidente vascular cerebral (AVC) ou morte (Fatodu, 2010).

O tratamento com agentes estimulantes da eritropoiese (ESA) leva a diminuição do ferro sérico e da saturação da transferrina para valores abaixo dos 16%, o que está associado a eritropoiese ineficaz por falta de ferro.

A resposta terapêutica com r-HuEPO pode ser feita medindo os níveis de hemoglobina e fazendo a contagem de reticulócitos 4 semanas após o início do tratamento. Um aumento de Hb e/ou de reticulócitos superior ou igual a 10g/L ou a $40 \times 10^9/L$, respectivamente, indica que o doente está a responder à terapêutica (Brugnara, 2003).

7. CONCLUSÃO

A Anemia Microcítica e Hipocrômica (AMH) é a anemia mais prevalente e caracteriza-se por eritrócitos microcíticos e hipocrômicos, ou seja por diminuição do VGM e da HCM/CHMC.

A causa mais frequente de AMH é a deficiência de ferro que conduz a um defeito na síntese de hemoglobina, resultando em eritropoiese ineficaz. A AMH também pode ser devida a doença crónica, e neste caso há retenção de ferro ao nível dos macrófagos do SRE com a consequente alteração de produção de eritrócitos e sobrevivência dos mesmos. Nas talassémias, a quantidade de cadeias de globina produzidas depende do número de deleções nos genes que codificam as cadeias alfa e beta globínicas, variando assim a gravidade de apresentação da anemia.

O diagnóstico da anemia é fundamental, já que muitas vezes o doente apresenta sintomatologia arrastada (nomeadamente fadiga), que afecta a sua qualidade de vida a todos os níveis. A procura da causa da anemia é muito importante para o estabelecimento de um procedimento adequado que permita melhorar a sintomatologia e consequentemente os parâmetros hematológicos. Muitas vezes, o diagnóstico e o diagnóstico diferencial representa um desafio, pois a anemia pode ter uma etiologia multifactorial. Na Figura 23 está representado uma proposta de algoritmo que pretende ser uma ferramenta útil na prática clínica, nomeadamente no diagnóstico diferencial entre anemia ferropénica, ACD e ACD com deficiência de ferro.

Na suspeita de anemia, e depois de observada a palidez das mucosas bem como de outra sintomatologia típica, deve-se proceder à avaliação laboratorial pois só assim é possível o diagnóstico rigoroso da anemia, através da observação dos diversos parâmetros laboratoriais. O doente deve ser questionado quanto à existência de hemorragias e défices

nutricionais. A história familiar também deve ser averiguada para se excluir uma hemoglobinopatia de carácter hereditário.

A anemia ferropénica, algumas formas de ACD, a atranferrinémia, as anemias sideroblásticas, a intoxicação por chumbo, as talassémias e outras hemoglobinopatias, caracterizam-se laboratorialmente pela existência de eritrócitos microcíticos e hipocrómicos, variando a microcitose e a hipocromia segundo a causa da anemia. A anemia podia ainda variar de ligeira a grave, bem como ser aguda ou crónica.

A anemia ferropénica é a AMH mais frequente e caracteriza-se por uma diminuição do ferro sérico, da ferritina e da percentagem de saturação da transferrina, estando a TIBC aumentada bem como o TfR. Dado que esta anemia pode coexistir com ACD, pode ser necessária a avaliação das reservas de ferro a nível da medula óssea, procedendo-se posteriormente à coloração dos esfregaços com azul da Prússia (coloração de Perls). É fundamental distinguir a anemia ferropénica de ACD e ACD com deficiência de ferro, pois a terapêutica a instituir é diferente consoante o tipo de anemia.

Para além da avaliação laboratorial é fundamental o tratamento da doença de base, principalmente na ACD. Quando isto não é possível, deve então corrigir-se a anemia seleccionando a melhor opção terapêutica que pode ser a suplementação de ferro, transfusão de eritrócitos e administração de agentes estimulantes da eritropoiese.

Os suplementos de ferro permitem na maioria das vezes a correcção da anemia, não estando contudo indicados em situações de inflamação crónica, já que este micronutriente é utilizado pelas células bacterianas e neoplásicas para a sua proliferação.

As transfusões estão indicadas em situações de anemia severa que coloquem em risco a vida do doente.

Os agentes estimulantes da eritropoiese podem ser úteis no tratamento de alguns casos de ACD, permitindo este tratamento uma diminuição do número de transfusões de eritrócitos.

Qualquer abordagem terapêutica deve seguir as normas internacionais (*guidelines*) para o tratamento, uma vez que podem surgir efeitos adversos e aumento da morbidade e mortalidade se o tratamento instituído não for o mais correcto.

Podemos concluir que, na abordagem destas anemias, o clínico deve conhecer as diferentes etiologias possíveis bem como os mecanismos patogénicos envolvidos. Deve ponderar sempre a necessidade de recorrer ou não a terapêutica, qual a necessária, e avaliar os riscos/benefícios da mesma.

Como se pode observar, existe um elevado número de publicações neste domínio, continuando o tema a suscitar a curiosidade e atenção dos investigadores. Esta investigação permite, à medida que avança, uma melhor compreensão dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos bem como a descoberta de terapêuticas mais eficazes e seguras no tratamento da anemia.

ALGORITMO

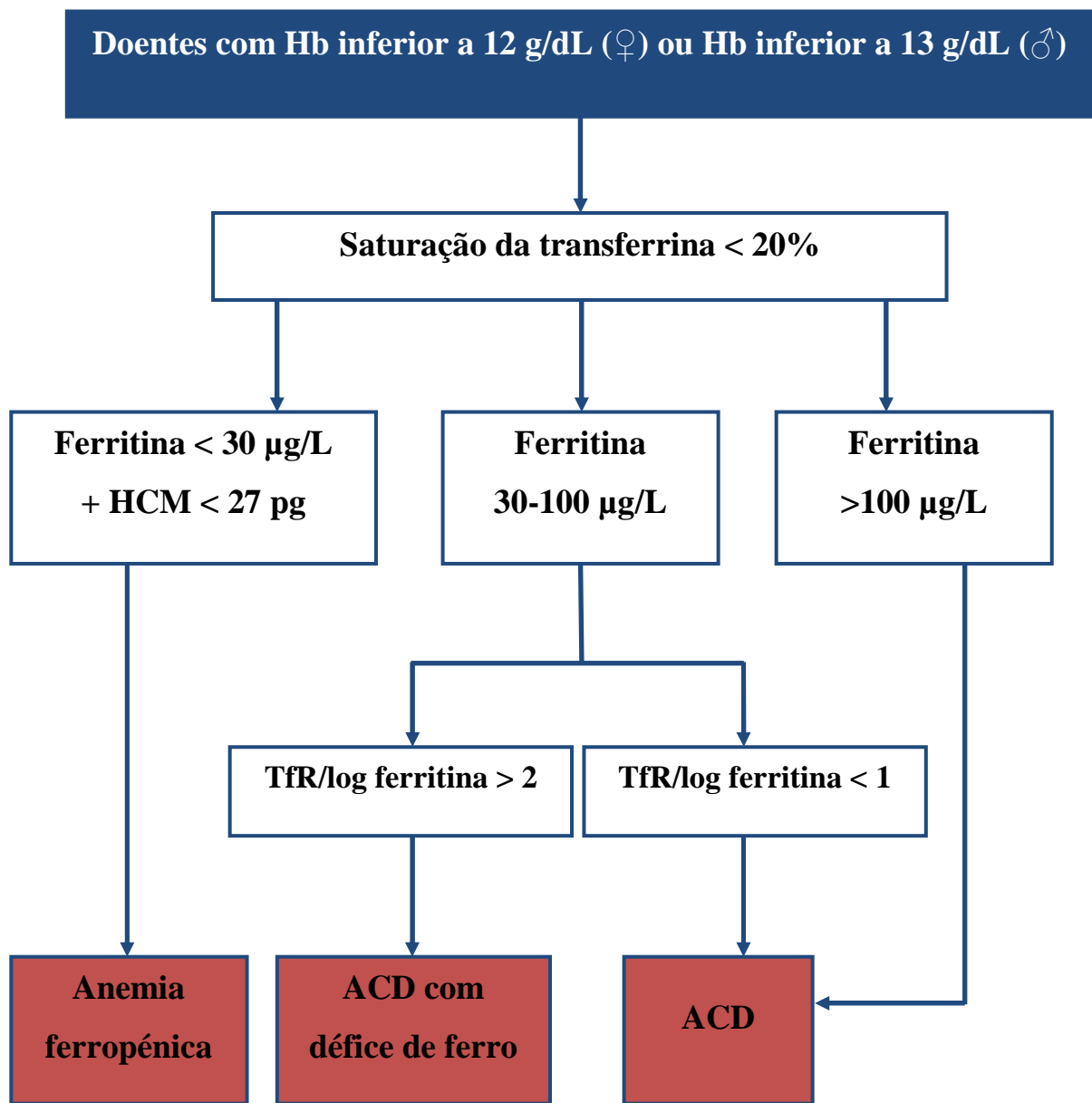


Figura 23 - Algoritmo simplificado de diagnóstico diferencial de anemia hipocrômica e microcítica (ferropénica, da doença cónica, ACD, e ACD com défice de ferro) (Adaptado de Muñoz *et al.*, 2009).

BIBLIOGRAFIA

- Adamson JW (2008) Distúrbios da hematopoiese: Deficiência de ferro e outras anemias hipoproliferativas. In: Harrison Medicina Interna (Braunwald E, et tal., ed), pp628-634. S. Paulo: McGraw-Hill.
- Adamson JW, Longo DL (2008) Alterações hematológicas: Anemia e policitemia. In: Harrison Medicina Interna (Braunwald E, et tal., ed), pp355-363. S. Paulo: McGraw-Hill.
- Aulakl R, et al. (2009) Red cell distribution width (RDW) in the diagnosis of iron deficiency with microcytic hypochromic anemia. *Indian Journal of Pediatrics* 76(3): 265-267.
- Beaumont C, et al. (2006) Two new human DMT1 gene mutations in a patient with microcytic anemia, low ferritinemia, and liver iron overload. *Blood* 107(10): 4168-4170.
- Besarad A, Horl WH, Silverberg D (2009) Iron metabolism, iron deficiency, thrombocytosis, and the cardiorenal anemia syndrome. *The Oncologist* 14: 22-33.
- Blanco E, et al. (2009) Not all DMT1 mutations lead to iron overload. *Blood Cells Mol Dis* 43(2): 199-201.
- Brain BJ (2008) Hypochromic microcytic anemia with a variant hemoglobin. *Am J Hematol* 84(1): 59.
- Brugnara C (2003) Iron deficiency and erythropoiesis: new diagnostic approaches. *Clin Chem* 49(10): 1573-1578.
- Cançado RD, Chiatton CS (2002) Anemia de doença crônica. *Ver Bras Hematol Hemoter* 24(2): 127-136.
- Cui Y, Wu Q, Zhou Y (2009) Iron-refractory iron deficiency anemia: new molecular mechanisms. *Kidney Int* 76(11): 1137- 1141.
- Dallailo G, Fleury T, Means RT (2003) Serum hepcidin in clinical specimens. *British Journal of Haematology* 122(6): 996-1000.
- Das D (2006) Investigating iron status in microcytic anaemia : general practitioners could test for ferritin, etc, before referral. *BMJ* 333(7575): 972.
- Ehsani MA, et al (2009) A new index for discrimination between iron deficiency anemia and beta-thalassemia minor: results in 284 patients. *Pak J Biol Sci* 12(5): 473-5.
- Fatadu H (2010) Evolving regulatory landscape with erythropoiesis-stimulating agents and impact on managed care. *Am J Manag Care* 16:S74-S79.
- Ferrara M, Capozzi L, Russo R (2009) Influence of helicobacter pylori infection associated with iron deficiency anaemia on growth in pre-adolescent children. *Hematology* 14(3): 173-176.

- Ferrara M, *et al.* (2010) Reliability of red blood cell indices and formulas to discriminate between β thalassemia trait and iron deficiency in children. *Hematology* 15(2): 112-115.
- Fishbane S (2010) The role of erythropoiesis - stimulating agents in the treatment of anemia. *Am J Manag Care* 16(3): s67-s73.
- Galloway MJ, Smellie WS (2006) Investigating iron status in microcytic anaemia. *BMJ* 333 (7572):791-793.
- Gasche C, *et al.* (2010) Iron, anaemia, and inflammatory bowel diseases. *GUT* 53: 1190-1197.
- Gilbertson DT, *et al.* (2009) Hemoglobin level variability: anemia management among variability groups. *Am J Nephrol* 30: 491-498.
- Guidi GC, Santonastaso CL (2010) Advancements in anemias related to chronic conditions. *Clin Chem Lab Med* 48(9): 1217- 1266.
- Guillem F, *et al.* (2008) Two nonsense mutations in the *TMPRSS6* gene in a patient with microcytic anemia and iron deficiency. *Blood* 112(5): 2089-2091.
- Harrington AM, *et al.* (2008) Iron deficiency anemia, beta-thalassemia minor, and anemia of chronic disease: a morphologic reappraisal. *Am J Clin Pathol* 129(3): 466 - 471.
- Hoffbrand AV, Moss PA, Pettit JE (2006) *Essential haematology*. Oxford UK: Blackwell Publishing Ltd.
- Hoffbrand AV, Moss PA, Pettit JE (2011) *Essential haematology*. Oxford UK: Blackwell Publishing Ltd.
- Hoffman R, *et al.* (2009) Biology of erythropoiesis, erythroid differentiation, and maturation (Papayannopoulou T, *et al.*,ed). In: *Hematology basic principles and practice* (5th ed.), pp276-294. Churchill Livingstone.
- Huang PH, Su JJ, Lin PH (2010) Iron deficiency anemia - a rare etiology of sinus thrombosis in adults. *Acta Neurol Taiwan* 19(2): 125-130.
- Iolascon A, *et al.* (2008) Natural history of recessive inheritance of *DMT1* mutations. *J Pediatr* 152(1): 136-139.
- Iolascon A, Falco L, Beaumont C (2009) Molecular basis of inherited microcytic anemia due to defects in iron acquisition or heme synthesis. *Haematol* 94(3): 395-408.
- Irwin JJ, Kirchner JT (2001). Anemia in children. *American Family Physician* 64(8): 1379-1386.
- Jalobe OM (2009) A differential diagnosis of microcytic hypochromic anemia for high-risk patients. *J Am Geriatr Soc* 57(7): 1311-1312.
- Jain S, Kamat D (2009) Evaluation of microcytic anemia. *Clinical Pediatrics* 84(1): 7-13.

- Janus J, Moerschel SK (2010) Evaluation of anemia in children. *Am Fam Physician* 81(12): 1462-1471.
- Jayarane S, Sthaneshwar P (2006) Serum soluble transferrin receptor in hypochromic microcytic anaemia. *Singapore Med J* 47(2): 138-142.
- Jayarane S, Sthaneshwar P (2010) RET-Y and RBC-Y in the diagnosis of iron deficiency associated with anaemia of inflammation. *Int Jnl Lab Hem* 32(5): 512-518.
- Jolobe O (2009) Microcytic anaemia can “mask” co-existing cobalamin deficiency. *QJM* 102(5): 362-363.
- Killip S, Bennett JM, Chambres MD (2007) Iron deficiency anemia. *Am Fam Physician* 75(5): 671-678.
- Lagarde S, *et al.* (2006) Is there any relationship between pernicious anemia and iron deficiency? *Gastroenterol Clin Biol* 30(11): 1245-1249.
- Lambert JF, Beris P (2006) Pathophysiology and differential diagnosis of anaemia. In: Disorders of iron homeostasis, erythrocytes, erythropoiesis (Beaumont C, *et al.*, ed), pp72-101. Paris: European School of Haematology.
- Lambert JF, Beris P (2009) Pathophysiology and differential diagnosis of anaemia. In: Disorders of erythropoiesis, erythrocytes and iron metabolism (Beaumont C, *et al.*, ed), pp108-141. Paris: European School of Haematology.
- Liumbruno G, *et al.* (2009) Recommendations for the transfusion of red blood cells. *Blood Transfus* 7: 49-64.
- Lopez-Garcia LJ, *et al.* (2006) A "hidden treasure" causing microcytic hypochromic anemia. *Gastrointest Endosc* 63(1):152-153.
- Mayhew M (2006) Anemia of chronic disease in the elderly. *The Journal for Nurse Practitioners* 2(4): 261-267.
- Means RT (2004) Hcpidin and anaemia. *Blood reviews* 18: 219-225.
- Mekky M, Jasuja M, Parkin PC (2009) Moderate and severe microcytic anemia in emergency department: Indicators of care. *Clinical Pediatrics* 48(9): 902-903.
- Melo MR, *et al.* (2002) Uso de índices hematimétricos no diagnóstico diferencial de anemias microcíticas: uma abordagem a ser adotada? *Rev Assoc Med Bras* 48(3): 222-224.
- Menéndez P, *et al.* (2007) Anemia microcítica e hipocroma como consecuencia de un sarcoma pleomorfo indiferenciado de alto grado. *Gastroenterol Hepatol* 30(7): 391-394.
- Nascimento NL (2010) Anemias microcíticas hipocrômicas, metabolismo do ferro e zinco protoporfirina eritrocitária - Revisão de Literatura. *NewsLab* 102: 146-152.
- Munõz M, Villar I, García-Erce JA (2009) An update on iron physiology. *World J Gastroenterol* 15(37): 4617-4626.

- Ntaios G, Chatzinikolaou A (2009) M/H ratio for the differential diagnosis of microcytic anemia. *Int J Lab Hematol* 31(2): 248-249.
- Papadopoulos A, *et tal.* (2008) Increased incidence of iron deficiency anemia secondary to inadequate iron intake in institutionalized, young patients with cerebral palsy. *Int J Hematol.* 88(5): 495-497.
- Petrak J, Vyoral D (2004) Hephaestin - a ferroxidase of cellular iron export. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 37(6): 1173-1178.
- Priwitzerova M, *et tal.* (2004) Severe hypochromic anemia caused by a congenital defect of iron transport pathway in erythroid cells. *Blood* 103(10): 3991-3992.
- Priwitzerova M, *et tal.* (2005) Functional consequences of the human DMT1 (SLC11A2) mutation on protein expression and iron uptake. *Blood* 106(12): 3985-3987.
- Rahim F (2009) Microcytic hypochromic anemia patients with thalassemia: genotyping approach. 63(3): 101-108.
- Richardson M (2007) Microcytic anemia. *Pediatr Rev* 28(1): 5-14.
- Shamsian BS, *et al.* (2009) Severe Hypochromic microcytic anemia in a patient with congenital atransferrinemia. *Pediatr Hematol Oncol* 26(5): 356-362.
- Shoho AR, Go RS, Tefferi A (2000) 22-year-old woman with severe microcytic anemia. *Mayo Clin Proc* 75(8):861-864.
- Tiwari AK, Chandola I, Ahuja A (2009) Approach to blood donors with microcytosis. *Transfusion Medicine* 20(2): 88-94.
- Urrechaga E (2008) Discriminant value of % microcytic/% hypochromic ratio in the differential diagnosis of microcytic anemia. *Clin Chem Lab Med* 46(12):1752-1758.
- Urrechaga E (2009) Red blood cell microcytosis and hipochromia in the differential diagnosis of iron deficiency and beta-thalassemia trait. *Int Jnl Lab Hem* 31(5): 528-534.
- Urrechaga E, Borque L, Escanero JF (2011) The role of automated measurement of RBC subpopulations in differential diagnosis of microcytic anemia and β -Thalassemia screening. *Am J Clin Pathol* 135(3): 374-379.
- Urrechaga E, Borque L, Escanero JF (2011) The role of automated measurement of red cell subpopulations on the Sysmex XE 5000 analyzer in the differential diagnosis of microcytic anemia. *Int Jnl Lab Hem* 33(1):30-36.
- Weiss G (1999) Iron and anemia of chronic disease. *Kidney International* 55: s12-17.
- Weiss G, Goodnough LT (2005) Anemia of chronic disease. *N Engl J Med* 352:1011-1023.
- Weiss G, Gasche C (2010) Pathogenesis and treatment of anemia in inflammatory bowel disease. *Haematologica* 95(2): 175-178.

Wians FH, *et tal.* (2001) Discriminating between iron deficiency anemia and anemia of chronic disease using traditional indices of iron status vs transferrin receptor concentration. *Am J Clin Pathol* 115(1):112-118.

Ye CC, *et al.* (2005) A 16-year-old girl with hypochromic microcytic anemia. *Arch Pathol Lab Med* 129(11):e199-201.