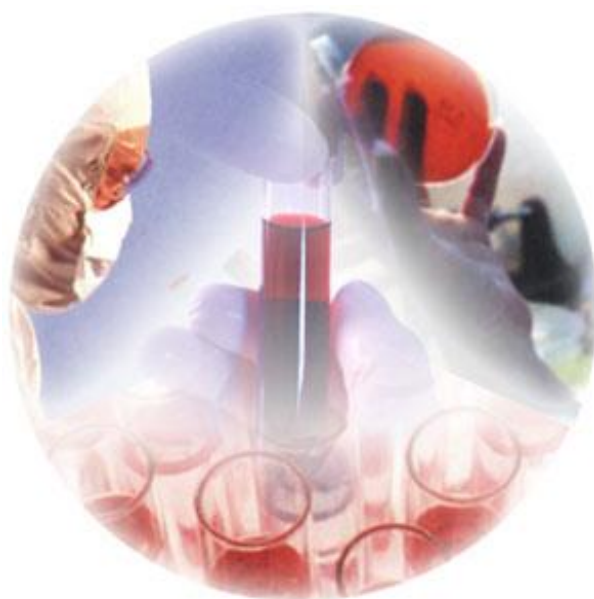




## *Análises clínicas associadas a anemia*



Relatório de estágio do curso de licenciatura em Bioquímica

Ana Patrícia Fernandes Fidalgo

*Orientadores:* Dr. Henrique dos Santos Silva  
Prof. Dr. Aureliano Alves

*2007/2008*

## Declaração

Declaro, por minha honra, que este relatório foi totalmente elaborado pela autora, sendo de sua exclusiva responsabilidade.

A autora:

---

## *Agradecimentos*

Aos meus pais pelo esforço que fizeram para me concederem a oportunidade de fazer crescer os meus conhecimentos. Obrigado por estarem sempre comigo e por me apoiarem nesta caminhada tão complicada.

A toda a minha família pelo apoio que me deram, e pelas palavras de força que foram tão importantes para que conseguisse sempre seguir em frente.

A todos os amigos que partilharam esta caminhada comigo e que me proporcionaram o bom ambiente necessário para que tudo se tornasse mais fácil.

A todos os professores, que me transmitiram os seus conhecimentos e uma maior capacidade de raciocínio. E também pela disponibilidade que revelaram em ajudar-me sempre que precisei.

Ao Dr. Henrique dos Santos Silva pelo seu empenho como orientador oficial do presente trabalho. Obrigada pela sua vontade de ensinar, pela cultura que me incutiu e pela preocupação que revelou sempre em apoiar-me e ensinar-me.

À Dra. M<sup>a</sup> Inês Costa pela disponibilidade que revelou sempre em explicar-me o seu trabalho e ensinar-me as técnicas por si usadas no laboratório e também pela sua genuinidade enquanto pessoa.

À Zita, pela companhia, por tudo o que me ensinou, pela disponibilidade em ajudar-me sempre no meu trabalho de estágio, pela atenção e pela bondade que a caracteriza.

Obrigada a todos!

## *Abreviaturas*

VCM- Volume corpuscular médio

CCMH- Concentração de hemoglobina corpuscular média

HCM- Hemoglobina corpuscular média

Hb- Hemoglobina

HbF- Hemoglobina fetal

HbA<sub>2</sub>- Hemoglobina do tipo A<sub>2</sub>

RDW – red distribution width

Trf- Transferrina

Fe- Ferro

Fer- Ferritina

RBC- eritrócitos

WBC-leucócitos

Ret- reticulócitos

HCT- hematócrito

B.total- bilirrubina total

Vit.- vitamina

Ác.- ácido

SD- standard deviation

mg- miligramas

pg- picogramas

rpm- rotação por minuto

µg- microgramas

L- litros

nm- nanómetros

mL- mililitro

EDTA- ácido etilenodiaminotetraacético

g- gramas

fl-fentolitros

## *Resumo*

A anemia é uma doença causada pela diminuição de hemoglobina no organismo . A hemoglobina é uma proteína localizada dentro dos glóbulos vermelhos, que possui o ferro responsável por levar o oxigénio aos tecidos. Existem vários tipos de anemia, causados por uma enorme variedade de factores.

À diminuição da hemoglobina estão acopladas características morfológicas dos glóbulos vermelhos que ajudam a distinguir os vários tipos de anemia. Outras características celulares para além destas, bem como dados bioquímicos, auxiliam a divisão de cada tipo de anemia nos seus subtipos

Neste trabalho procedeu-se à quantificação automática de parâmetros hematológicos e bioquímicos em 99 pacientes (59 mulheres e 40 homens), com idade média de  $57 \pm 25$  anos e fez-se o diagnóstico dos tipos e subtipos de anemia presentes nesta população..

A média da concentração de hemoglobina destes pacientes, teve um valor mais baixo nos homens do que nas mulheres representando anemias maioritariamente leves nas mulheres e moderadas nos homens.

A população é essencialmente caracterizada por anemia microcítica-hipocrómica. Neste grupo verificou-se que a maioria da população era portadora de uma concentração de ferro e de ferritina diminuídas, sugerindo que a maioria dos pacientes deste grupo sofram de anemia ferropénica. No grupo de anemias normocítico-normocrómicas foi mais abundante a anemia ferropénica nas mulheres e as anemias de doenças crónicas nos homens. As anemias macrocíticas foram bastante raras.

A população é então maioritariamente composta por anemias ferropénicas (49,5% dos pacientes), onde se obteve concentrações de ferro e ferritina mais baixos,  $19,79 \pm 7,64$  µg/dl e  $6,75 \pm 3,48$  µg/dl respectivamente, talassémias em 16,2% dos pacientes e doenças crónicas (12,1% dos pacientes), onde a ferritina apresentou valores mais elevados (  $413,14 \pm 218,99$  µg/dl).

## *Abstract*

Anemia is a disease caused by the decrease of hemoglobin in the body. Hemoglobin is a protein inside the red blood cells, which has the iron responsible for bringing oxygen to tissues. There are several types of anemia, caused by a variety factors

With the decrease of haemoglobin are coupled morphological characteristics of red blood cells that help distinguish the various types of anemia. Other features in addition to these cellular and biochemical data, helping the division of each type of anemia in their subtypes.

In this work, proceeded to the automatic quantification of biochemical and haematological parameters in 99 patients (59 women and 40 men) with an average age of  $57 \pm 25$  years and gave up the diagnosis of type and subtypes of anemia in these population.

The average concentration of haemoglobin in these patients had a lower worth in men than in women, representing mostly mild anemia in women and moderate in men.

The population is mainly characterized by microcitic-hipochromic anemia. In this group found that the majority of population was carrying an iron and ferritin decreased, suggesting that the majority of this group of patients suffering from ferropenic anemia. In the group normocitic-normochromic, ferropenic anemia was the most abundant in women and chronic disease anemia in men. The macrocitic anemia were very rare.

The population is now mostly composed of ferropenic anemia (49,5% of patients), which presented concentrations of iron and ferritin lowest,  $19,79 \pm 7,64$   $\mu\text{g}/\text{dl}$  and  $6,75 \pm 3,48$   $\mu\text{g}/\text{dl}$  respectively, thalasseмии in 16,2% of patients and chronic diseases (12,1% of patients), which has the highest ferritin ( $413,14 \pm 218,99$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ ).

## *Índice*

1. Introdução	pág.11
1.1. Sangue	pág.11
1.2. O glóbulo vermelho	pág.12
1.3. A hemoglobina	pág.13
1.4. Classificação de anemias	pág. 15
1.4.1. Classificação fisiopatológica	pág.16
1.4.2. Classificação morfológica	pág.16
1.5. Subtipos de anemias	pág.17
1.5.1. Anemia megaloblástica	pág.17
1.5.2. Anemia ferropénica	pág.20
1.5.2.1. Ciclo do ferro	pág.21
1.5.3. Anemia de doenças crónicas	pág.22
1.5.4. Anemia sideroblástica	pág.23
1.5.5. Anemia hemolítica	pág. 24
1.5.6. Talassémia	pág. 25
1.5.7. Anemia por perda sanguínea	pág. 26
1.5.8. Anemia falciforme	pág.27
1.5.9. Anemia na gravidez	pág.28
1.5.10. Anemia Aplástica	pág. 29
1.6. Algumas doenças mieloproliferativas que causam anemia	pág.30
1.6.1. Poliglobulia ou policitemia	pág.30
1.6.2. Leucemia	pág.31
2. Objectivos	pág.34
3. Metodologia	pág.35
3.1. Amostra biológica	pág.35
3.2. Grupo de pacientes controlo	pág.35
3.3. Grupo de pacientes anémicos	pág.36
3.3.1. Grupo de pacientes com anemias microcíticas (VCM<80fl)	pág.36

3.3.2. Grupo de pacientes com anemias microcíticas (80<VCM<100fl)-----	pág.36
3.3.3. Grupo de pacientes com anemias macrocíticas (VCM>100fl)-----	pág.37
3.4. Hemograma -----	pág.37
3.4.1. Equipamento-----	pág.37
3.4.2. Método-----	pág.38
3.4.3. Valores de referência-----	pág.39
3.5. Ferro-----	pág.39
3.5.1. Equipamento-----	pág. 39
3.5.2. Método-----	pág.40
3.5.3. Valores de referência-----	pág.41
3.6. Transferrina-----	pág.41
3.6.1. Equipamento-----	pág.41
3.6.2. Método-----	pág.41
3.6.3. Valores de referência-----	pág.42
3.7. Ferritina-----	pág.42
3.7.1. Equipamento-----	pág.42
3.7.2. Método-----	pág.43
3.7.3. Valores de referência-----	pág.43
3.8. Vitamina B12-----	pág.44
3.8.1. Equipamento-----	pág.44
3.8.2. Método-----	pág.44
3.8.3. Valores de referência-----	pág.44
3.9. Ácido fólico-----	pág.45
3.6.1. Equipamento-----	pág.45
3.6.2. Método-----	pág.45
3.6.3. Valores de referência-----	pág.45
3.10. HbA <sub>2</sub> e HbF-----	pág.45
3.10.1. Equipamento-----	pág.46
3.10.2. Método-----	pág.46

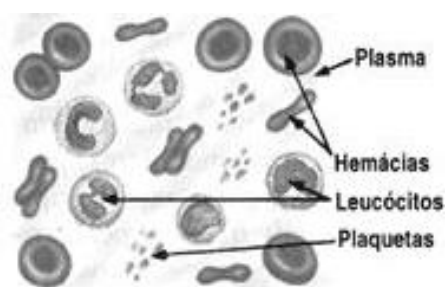
3.10.3. Valores de referência-----	pág.46
3.11. Bilirrubina Total-----	pág.47
3.11.1. Equipamento-----	pág.47
3.11.2. Método-----	pág.47
3.11.3. Valores de referência-----	pág.47
3.12. Análise microscópica-----	pág.48
3.13. Outras técnicas-----	pág.48
4. Resultados e discussão-----	pág.49
4.1. Sexo-----	pág.49
4.2. Idade-----	pág.50
4.3. Hemoglobina-----	pág.51
4.3.1. Grupo de pacientes anêmicos-----	pág.51
4.3.2. Grupo de pacientes controle-----	pág.53
4.3.3. Comparação da concentração de Hb em pacientes anêmicos e pacientes do grupo controle-----	pág.54
4.3.4. Classificação de anemias como leves, moderadas ou graves-----	pág.55
4.4. Classificação das anemias diagnosticadas quanto ao tipo-----	pág.56
4.5. Diagnóstico de subtipos de anemia-----	pág.57
4.5.1. Grupo de pacientes com anemias microcíticas (VCM<80fl)-----	pág.58
4.5.2. Grupo de pacientes com anemias normocíticas (80<VCM<100fl)-----	pág.60
4.5.2.1. Grupo de pacientes com numero de reticulócitos normais ou diminuídos-----	pág.60
4.5.2.2. Grupo de pacientes com numero de reticulócitos aumentados---	pág.61
4.5.3. Grupo de pacientes com anemias macrocíticas (VCM>100fl)-----	pág.62
4.6. Classificação das anemias diagnosticadas quanto ao subtipo-----	pág.62
4.7. Análise dos resultados relativos a cada subtipo de anemia diagnosticado--	pág.64
4.7.1. Grupo de pacientes com anemias ferropénicas-----	pág.64
4.7.1.1. Incidência de anemia ferropénica em vários intervalos etários---	pág.67
4.7.2. Grupo de pacientes com talassémia-----	pág.68

4.7.3. Grupo de pacientes com anemias de doenças crónicas-----	pág.70
4.7.4. Grupo de pacientes com anemias secundárias-----	pág.72
4.7.5. Grupo de pacientes com anemia causada por gravidez-----	pág.73
4.7.6. Grupo de pacientes com anemia aplástica-----	pág.74
4.7.7. Grupo de pacientes com anemia hemolítica-----	pág.74
4.7.8. Grupo de pacientes com perdas sanguíneas-----	pág.76
4.7.9. Grupo de pacientes com anemias megaloblásticas-----	pág.78
4.7.10. Algumas doenças mieloproliferativas encontradas-----	pág.79
4.7.10.1. Leucemias-----	pág.79
4.7.10.2. Poliglobulias ou policitemias-----	pág.80
5. Conclusão-----	pág.81
6. Bibliografia-----	pág.83

# 1. Introdução

## 1.1. Sangue

O sangue é um líquido distribuído por todo o corpo, constituído por uma porção celular suspensa num meio aquoso, o plasma (Berbard et al, 1998). A produção das células que constituem a parte celular deste líquido dá-se na medula óssea, e visa manter os níveis homeostáticos de leucócitos, eritrócitos (ou hemácias) e plaquetas. Estas células encontram-se completamente diferenciadas no sangue, com funções específicas, sendo incapazes de se dividir e estão representadas na figura 1.



**Figura 1:** Células sanguíneas completamente diferenciadas ([www.iped.com.br](http://www.iped.com.br))

Ao processo de formação das células sanguíneas chama-se hematopoese. As suas principais funções são a renovação das células sanguíneas, a manutenção dos seus níveis circulantes e a adaptação às necessidades fisiológicas e fisiopatológicas. Assim, indivíduos com anemia tendem a aumentar a produção de eritrócitos, indivíduos com infeções tendem a aumentar o número de leucócitos e indivíduos com sangramentos tendem a aumentar o número de plaquetas. O processo ontogénico ocorre a partir das células hematopoéticas pluripotentes (células estaminais) que podem seguir a linhagem linfóide ou a linhagem mielóide. Na linhagem mielóide formam-se eritrócitos, granulócitos, monócitos e plaquetas. Na linhagem linfóide originam-se células B, células T e células NK (natural killer)



diferenciação e amadurecimento dos precursores eritróides e formação de todos os seus constituintes, principalmente da hemoglobina. Entre estes factores nutricionais podem citar-se o ferro, o ácido fólico, a vitamina B12, proteínas e piridoxina (Oliveira et al, 2004).

A forma do glóbulo vermelho na circulação é de um disco bicôncavo, com espessura maior na parte mais externa e espessura menor na parte central. Quando analisados ao microscópio óptico comum, os eritrócitos, distendidos e corados sobre uma lâmina, apresentam uma forma circular plana e uniforme, com uma discreta região central de tonalidade mais clara. Este facto deve-se à menor espessura central, normal em qualquer eritrócito, o que permite uma certa passagem de luz. Uma população de eritrócitos num indivíduo normal, apresenta-se aparentemente com a mesma forma, tamanho uniforme e com a mesma coloração.

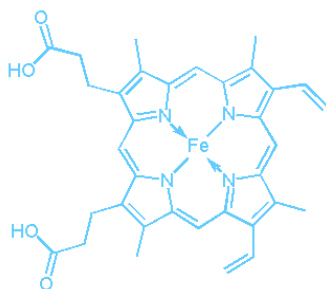
Por outro lado, em estados alterados, (nas anemias) dependendo do seu mecanismo fisiopatológico, pode haver alterações na forma, denominada por poiquilocitose, no tamanho, denominada geralmente por anisocitose, podendo ainda sofrer alterações na cor, caracterizadas laboratorialmente por anisocromias.

Estes aspectos podem ser analisados por índices hematimétricos e pela análise da morfologia eritrocitária, na extensão sanguínea corada. Além da microscopia convencional, a anisocitose é também caracterizada percentualmente como RDW (red distribution width) e a anisocromia como HDW (hemoglobin distribution width), por meio de contadores automáticos. As alterações na forma, entretanto continuam a ser um dado morfológico obtido exclusivamente pela microscopia.

### **1.3. A hemoglobina**

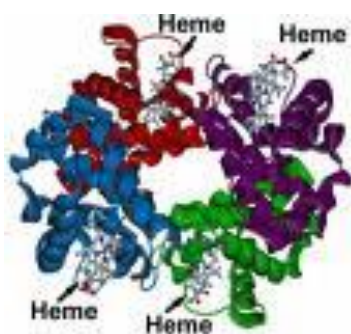
A hemoglobina é a proteína respiratória dos vertebrados, que reage com o oxigénio molecular, transportando-o por meio dos eritrócitos, dos pulmões para todos os tecidos. É uma proteína conjugada, composta por quatro grupos heme, que são sintetizados a partir do ácido glucorónico e da glicina nas mitocôndrias. Simultaneamente são também sintetizadas as cadeias globínicas alfa, beta, gama e

delta. É de grande importância a distinção entre grupo heme e grupo hemo. O grupo hemo é constituído por um anel de porfirina com um átomo de ferro acomodado no seu centro (fig.3), enquanto que o grupo heme trata-se do anel porfirínico sem o átomo de ferro contido no seu centro.



**Figura 3:** Estrutura química do grupo hemo ([www.ucs.br](http://www.ucs.br))

A hemoglobina é formada por quatro cadeias globinicas. A hemoglobina A, a principal dos adultos, é constituída por duas cadeias alfa ( $\alpha$ ) e duas beta ( $\beta$ ).



**Figura 4:** Estrutura da molécula de

Hemoglobina ([www.ucs.br](http://www.ucs.br))

Um outro tipo hemoglobina presente nos adultos (cerca de 2% da hemoglobina total) é a hemoglobina A<sub>2</sub>, na qual as cadeias  $\beta$  são substituídas por cadeias delta ( $\delta$ ). Sendo assim, a composição da hemoglobina A é  $\alpha_2\beta_2$  e da hemoglobina A<sub>2</sub> é  $\alpha_2\delta_2$ . Os embriões e fetos apresentam hemoglobinas diferentes. Logo após a concepção, os embriões sintetizam cadeias zeta ( $\zeta$ ), que são cadeias do

tipo  $\alpha$ ; e cadeias epsilon ( $\epsilon$ ), que são do tipo  $\beta$ . No decurso do desenvolvimento, as cadeias  $\xi$  são trocadas por cadeias  $\alpha$ , e as cadeias  $\epsilon$  são trocadas por cadeias  $\gamma$  e depois por cadeias  $\beta$ . A principal hemoglobina durante os dois terços terminais da vida fetal é a hemoglobina F, cuja composição em sub-unidades é  $\alpha_2\gamma_2$ . As cadeias  $\alpha$  e  $\xi$  contém 141 aminoácidos e as cadeias  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$  contém 146. Logo, a hemoglobina consiste em vários polipéptidos que diferem entre si. As interações das subunidades determinam a capacidade da hemoglobina de transportar  $O_2$ ,  $CO_2$  e  $H^+$ , atendendo às condições fisiológicas. Quando esta proteína está em falta no organismo, estamos perante uma anemia. Sabe-se que estados que levam a uma real diminuição do nível de hemoglobina circulante, independentemente do número de eritrócitos, traduzem o conceito de anemia (Oliveira, Raimundo: 2004).

#### **1.4. Classificação das anemias**

As anemias podem classificar-se fisiopatologicamente, ou seja tendo em conta as causas que levam a este estado, ou então morfológicamente, com base nos efeitos produzidos pelas referidas alterações fisiopatológicas. Assim fisiopatologicamente as anemias podem ocorrer por falta de produção de eritrócitos, por aumento de destruição dos mesmos, ou ainda por perda sanguínea. Morfológicamente as anemias podem ser classificadas tendo em conta principalmente o tamanho e o conteúdo de hemoglobina dos eritrócitos.

##### **1.4.1. Classificação fisiopatológica**

As anemias por diminuição de produção, são consequência ou de algum problema na medula óssea, ou da indisponibilidade de nutrientes para uma eritropoese ótima, ou por defeitos genéticos ou adquiridos, que impedem a formação do grupo heme, ou da falta de eritropoetina. As anemias por excesso de destruição, são caracterizadas pela diminuição do tempo de vida média do eritrócito na circulação, e são designadas como anemias hemolíticas. Estas formam dois grandes grupos: hemólise causada por mecanismos hereditários e hemólise causada por mecanismos adquiridos (Gualandro, 2001).

#### **1.4.2. Classificação morfológica**

As anemias são divididas em três grandes grupos (Gualandro, 2001). O primeiro é constituído pelas anemias microcítico-hipocromicas em que os eritrócitos são de tamanho pequeno e contém baixa concentração de hemoglobina, não tendo obrigatoriamente baixo numero de eritrócitos circulantes. Este grupo engloba as anemias hipossiderémicas, em que o valor de ferro sérico é baixo, seja por carência de ferro, como no caso das anemias ferropénicas, ou então quando há desvio do ferro para os macrófagos medulares, como no caso de doenças crónicas, e engloba ainda as anemias hiperssiderémicas, em que há defeito na fabricação da hemoglobina por causas congénitas, como no caso das talassémias, ou adquiridas, como no caso das anemias sideroblásticas.

O segundo grande grupo diz respeito às anemias normocítico-normocrómicas, nas quais o tamanho dos eritrócitos encontra-se dentro do que é considerado normal, bem como a concentração e conteúdo em hemoglobina, sendo, por vezes, o numero de eritrócitos circulantes reduzido. Neste grupo inserem-se as anemias hemolíticas (em alguns casos podem ser macrocíticas), que podem ser congénitas ou adquiridas, as anemias por insuficiência medular primária, como no caso das aplasias ou das leucemias, as anemias por insuficiência medular secundária, que podem ser provocadas por drogas que inibam a hematopoese, como no caso dos

quimioterápicos, e ainda as anemias por hemorragias agudas, falta de eritropoietina (no caso da insuficiência renal crônica) ou por inflamações ou infecções crônicas (doenças crônicas).

Por fim existe ainda o grupo das anemias macrocíticas, nas quais existem eritrócitos de grandes dimensões e com concentração interna de hemoglobina normal, possuindo porém o conteúdo interno (peso) de hemoglobina aumentado e baixo número de glóbulos circulantes. Neste grupo inserem-se apenas as anemias megaloblásticas, que são consequentes ao baixo número de mitoses nos eritroblastos, em decorrência da síntese diminuída do DNA. São também derivadas da carência de vitamina B12 e ácido fólico. Podem também inserir-se neste grupo as anemias hemolíticas, que por vezes são macrocíticas.

## **1.5. Subtipos de anemia**

As anemias dividem-se em três tipos, segundo a classificação morfológica. Cada tipo divide-se ainda em vários subtipos de anemias contendo características morfológicas dos eritrócitos semelhantes, mas causas diferentes bem como outras características hematológicas e bioquímicas diferentes.

### **1.5.1 Anemia megaloblástica**

É uma anemia do tipo macrocítica, apresentando um volume corpuscular médio elevado, bem como a concentração de hemoglobina média dos eritrócitos.

São resultantes da diminuição na síntese do DNA. Caracterizam-se por um defeito maturativo e anormalidades morfológicas, manifestadas pela presença de megaloblastos na medula óssea. São causadas pela deficiência de ácido fólico e vitamina B12. Algumas drogas usadas em quimioterapia, e que interferem na síntese do DNA também podem induzir a alterações megaloblásticas.

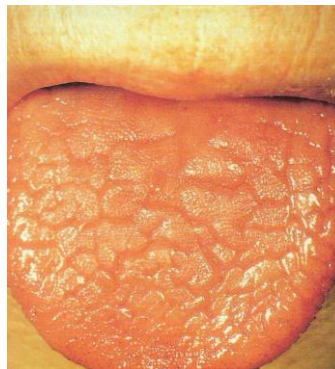
Para haver divisão celular, a célula duplica o seu material genético. Em tecidos como a medula óssea que tem grande proliferação celular, há ainda maior necessidade de duplicar o material genético. Nestes tecidos, nucleotídeos oriundos do DNA senil são insuficientes. O folato ingerido precisa de ser metabolicamente activo, para doar radicais metil para a formação de novos nucleotídeos. A vitamina B12 tem um papel redutor, útil na activação do folato. Assim, havendo falta de folato e/ou vitamina B12 há diminuição de síntese de DNA. Sintetiza-se apenas parcialmente o DNA nuclear e consequentemente a mitose não se realiza. Aumentam-se as células e perde-se o núcleo, e esta célula amadurece e forma o macrócito (Oliveira et al, 2004).

Esta anemia evolui lentamente, sendo que o organismo do paciente se habitua a esta condição. Assim quando o paciente procura o médico aquando desta doença, esta poderá já se encontrar num estado muito avançado e grave, a menos que lhe tenha sido diagnosticada acidentalmente, em exames feitos por outras razões.

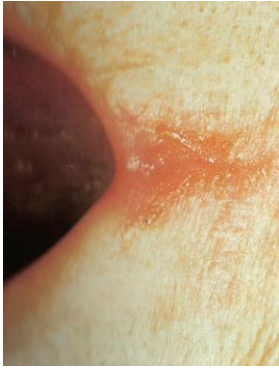
A nível de sintomas, esta anemia manifesta-se com icterícia de grau variável, o que confere ao paciente uma cor amarelada. Como há elevada morte intramedular dos precursores eritrocitários nucleados com degradação de hemoglobina, produz-se um alto nível de bilirrubina não conjugada que confere esta cor amarelada no paciente.



**Figura 5:** Paciente apresentando uma cor amarelada.  
(Hoffbrand et al, 2000)



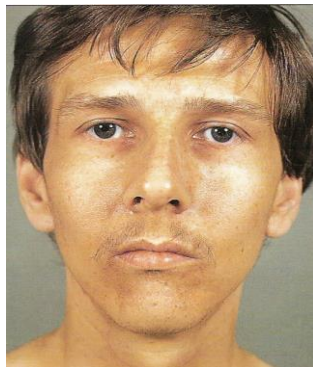
**Figura 6:** Paciente com glossite  
(Hoffbrand et al, 2000)



**Figura 7:** Paciente com queilose angular

(Hoffbrand et al, 2000)

Esta anemia causa também glossite e queilose angular, devido à proliferação descontrolada das superfícies epiteliais. Pode-se também observar hematomas espontâneos e a proliferação descontrolada das superfícies epiteliais nas mucosas da boca, brônquios, bexiga e cérvix. Numa pequena proporção dos casos, a pigmentação da pele por melanina também é evidente, ocorrendo também nos leitos das unhas (Hoffbrand et al, 2000) .



**Figura 8:** Pele com pigmentação por melanina (Hoffbrand et al, 2000)

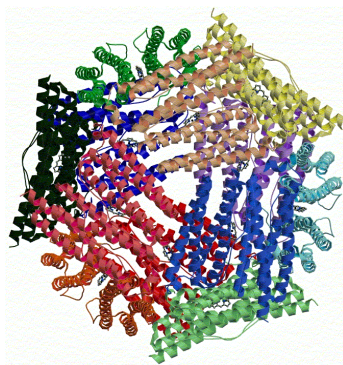
O paciente apresenta sintomas mais notáveis nos membros inferiores, que são geralmente formigueiros, desequilíbrio no andar, quedas no escuro, alteração das

sensações e força reduzida. Os distúrbios visuais e psiquiátricos também acontecem, sendo no entanto menos frequentes.

### 1.5.2. Anemia ferropénica

O ferro é um elemento essencial em todas as células humanas, embora a quantidade de ferro necessária aos diferentes tecidos isolados varie durante o desenvolvimento.

No corpo humano, o transporte e armazenamento do ferro são mediados por três proteínas principais, que são a transferrina, o receptor da transferrina e a ferritina. A transferrina é a proteína de transporte do ferro no soro (Roche, 2004), que transporta no plasma o ferro absorvido da dieta e libertado a partir das reservas do organismo de forma a responder às necessidades dos tecidos. O receptor da transferrina é uma glicoproteína existente nas membranas celulares, que capta o complexo transferrina/ferro e interioriza-o numa vesícula onde o ferro é libertado intracelularmente e o complexo transferrina/receptor da transferrina retorna para a superfície celular, libertando-se novamente para o plasma a transferrina (<http://lusomed.sapo.pt/>). A ferritina é a proteína de armazenamento do ferro, captando-o numa forma não tóxica, formando assim uma reserva mobilizável de ferro para a síntese de compostos que necessitem deste elemento. É abundante nas células especializadas na síntese de compostos com ferro e precursores eritróides e no metabolismo e armazenamento do ferro (<http://lusomed.sapo.pt/>). A sua catabolização pode levar à reutilização do ferro.



**Figura 9:** Molécula de ferritina ([www.itqb.unl.pt](http://www.itqb.unl.pt))

### 1.5.2.1.Ciclo do ferro

O ferro sérico (+3) ingerido liga-se à mucina, é carregado até ao intestino, onde é reduzido a ferroso (+2) e absorvido no duodeno. É captado pela transferrina, que faz o seu transporte no sangue para os tecidos de utilização, como a medula óssea por exemplo, e depósito através da ferritina. O ferro resultante da degradação da hemoglobina dos eritrócitos senis é recaptado pela transferrina e levado de volta aos eritroblastos medulares seguindo assim um metabolismo fechado e justificando o nome “ciclo do ferro”. Este metabolismo fechado é então regulado pela absorção e não pela excreção, logo não há um aumento da necessidade diária da sua absorção, a não ser quando quantidades acima do normal são perdidas ou requeridas. Assim sabemos então que as maiores causas de anemias ferropénicas estão associadas a perdas sanguíneas crónicas em que há uma perda de ferro acentuada aumentando assim a necessidade de absorção, estão também associadas a crianças em crescimento, mulheres grávidas ou anemias hemolíticas crónicas, por fim há anemia ferropénica quando há deficiência de ferro na alimentação, sendo esta a causa mais abundante deste tipo de anemia (Oliveira et al, 2004) .

Quando há deficiência de ferro na eritropoese, há uma diminuição absoluta da hemoglobina. O aumento do numero de mitoses dos eritroblastos medulares, em função de uma menor saturação da hemoglobina nos precursores eritróides resulta em formação de eritrócitos pequenos. Como o hematócrito também é diminuído para um volume pequeno de eritrócitos, o numero de eritrócitos é mais elevado do que o de um paciente com eritrócitos de tamanho normal. Este tipo de anemia é portadora de poiquilocitose e anisocitose e geralmente é microcítica e hipocrómica, tão intensamente quanto maior for a queda de hemoglobina.

A nível de sintomas, o paciente pode apresentar uma perversão do apetite. Pode haver palidez da conjuntiva, das pregas palmares e dos leitos das unhas.



**Figura 10:** Palidez da conjuntiva  
(Hoffbrand et al, 2000)

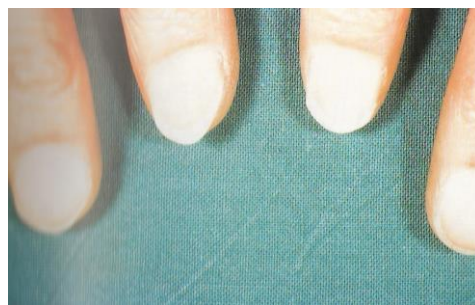


**Figura 11:** Palidez das pregas palmares  
(Hoffbrand et al, 2000)

A cor da pele não é um sinal confiável de anemia, pois depende das condições de circulação da pele, bem como do conteúdo de hemoglobina no sangue. As unhas do paciente, frequentemente apresentam-se quebradiças e encrespadas, ou podem apresentar-se em forma de colher ou coiloniquia. Pode haver ainda queilose angular, especialmente em casos de próteses dentárias mal fixadas (Hoffbrand et al, 2000).



**Figura 12:** Coiloniquia  
(Hoffbrand et al, 2000)



**Figura 13:** Unhas encrespadas e quebradiças  
(Hoffbrand et al, 2000)

As causas desta anemia podem ser a hemossiderinúria, que se refere a hemólise intravascular crónica, má absorção, e ainda tem como causa a dieta deficiente em ferro, especialmente se esta for vegetariana ou no caso dos lactentes.

### 1.5.3. Anemia de doença crónica

Estas anemias não fazem parte de um distúrbio sanguíneo primário, mas são decorrentes de estados infecciosos crónicos, doenças inflamatórias ou neoplásicas,

que interferem no metabolismo do ferro, na produção de eritropoietina e na resposta medular a esta hormona.

Caracteriza-se por produzir baixa quantidade de eritropoietina, menor resposta dos precursores eritróides medulares à eritropoietina e desvio do ferro que fica retido nos macrófagos com conseqüente diminuição do ferro sérico e da saturação de transferrina. Em oposição encontra-se a ferritina com um valor elevado. É uma anemia geralmente normocítica e normocrômica. A queda da hemoglobina não chega a níveis tão baixos como os da anemia ferropénica e apresenta valores baixos de reticulócitos. Pode estar associada a processos cancerosos. Esta pode desenvolver a produção de citocinas inflamatórias, que vão inibir a eritropoese, pela redução da produção de eritropoietina (Vanbelle, 2004).

Para estas anemias contribuem inúmeros factores tais como a deficiência de ferro, deficiência de folato, hemólise ou infiltração da medula óssea. A sua gravidade está relacionada com a gravidade da doença base. Na maioria dos casos, o sinal morfológico encontrado é apenas a hipocromia moderada. No entanto noutros casos, como nas hepatopatias é frequente a macrocitose.

#### **1.5.4. Anemia sideroblástica**

São desordens caracterizadas pela formação inadequada do grupo heme. Decorrem de diversos tipos de desordens intramitocondriais, que acarretam a presença de numerosos sideroblastos em anel na medula óssea. Uma vez que a eritropoese é ineficaz, o número de reticulócitos pode ser diminuído podendo também ser normal. Uma vez que há incapacidade de utilização do ferro, os seus níveis séricos encontram-se elevados, e a transferrina saturada. No sangue periférico, exibe um grau elevado de anisocitose.

Esta anemia pode classificar-se em dois tipos: o primeiro tipo contém alterações apenas na síntese no grupo heme. Em geral são microcíticas e hipocrômicas com elevada anisocitose. O segundo tipo refere-se a alterações

citoplasmáticas e nucleares nos seus precursores. São geralmente micro ou normocíticas. Quando é hereditária, esta doença pode transformar-se em leucemia ao longo dos anos. Em muitos casos revela anormalidades leucocitárias e plaquetárias no sangue periférico ou nos seus precursores na medula óssea. Estes casos têm uma incidência muito mais elevada na transformação em leucemia.

Como consequências esta anemia pode causar surdez neurosensorial, diabetes mellitus e ainda acarretar anemia megaloblástica (Hoffbrand et al, 2000).

### 1.5.5. Anemia hemolítica

A anemia hemolítica geralmente é causada por um aumento na taxa de destruição das hemácias. Essa destruição normalmente é extravascular, embora possa, nalguns casos de hemólise crónica e aguda, ocorrer no espaço intravascular. As características clínicas e laboratoriais diferem conforme o local de maior destruição, ou seja, se esta se dá no espaço intravascular ou extravascular (Oliveira et al, 2004).

As anemias hemolíticas podem ser hereditárias ou adquiridas. As hereditárias, normalmente resultam de defeitos intrínsecos das hemácias, as anemias adquiridas, na sua maioria, são causadas por alterações extracorpúsculares ou ambientais (Moss et al, 2004) .

A nível de sinais ou sintomas, esta anemia pode apresentar o sinal clínico de palidez. Muitos pacientes apresentam uma icterícia branda, por exemplo icterícia da esclerótica (fig.14) ou icterícia palmar (fig.15) e esplenomegalia , isto é, aumento do volume do baço (Hoffbrand et al, 2000) .



**Figura 14:** Icterícia da esclerótica.



**Figura 15:** Icterícia palmar

(Hoffbrand et al, 2000)

(Hoffbrand et al, 2000)

Neste tipo de anemia há um aumento dos níveis de bilirrubina não-conjugada, aumento de estercobilinogénio nas fezes e urobilinogénio na urina, em decorrência da intensa hemólise (Valent et al., 2008). Por outro lado, há um aumento do número de reticulócitos, que resulta do aumento da produção das hemácias, a fim de compensar a destruição.

Podem-se observar microscopicamente alterações na morfologia das hemácias. Nas formas mais graves, o esfregaço apresenta policromasia eritrocitária, causada pelo aumento de reticulócitos e eritroblastos ocasionais como resultado da eritropoiese extramedular. Estas anemias podem dar-se por um dano oxidativo na hemoglobina e noutras proteínas eritrocitárias (Moss et al, 2004) .

#### **1.5.6. Talassémia**

São anomalias hereditárias, caracterizadas pela diminuição ou ausência de produção de cadeias globínicas. Se o defeito for em genes ligados á produção de cadeias  $\alpha$ -globínicas trata-se de uma talassémia  $\alpha$ , no entanto se o defeito estiver relacionado com a cadeia  $\beta$  então trata-se de uma talassémia  $\beta$ . A produção das cadeias globínicas é regulada por genes especificamente localizados em cromossomas distintos, mais especificamente por dois conjuntos génicos localizados no cromossoma 11 e 16 (Bento et al, 2007). Os genes responsáveis pela síntese das cadeias tipo  $\alpha$  encontram-se no cromossoma 16, enquanto os genes responsáveis pela síntese das cadeias  $\beta$  encontram-se no cromossoma 11. Como o ser humano é diplóide, herda dois genes  $\alpha$  maternos e dois paternos. E da mesma maneira herda um gene  $\beta$  da mãe e outro do pai. Nos genes  $\alpha$  pode haver uma deleção em que o paciente não é anémico mas é portador assintomático, e pode haver duas deleções em que o paciente sofre de talassémia  $\alpha$ .

Para que a hemoglobina no adulto seja considerada normal, o total de cadeias  $\alpha$  deve ser equivalente ao somatório das cadeias  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$  de modo a termos cerca de

98% de HbA; entre 2,5 a 3,7% de HbA<sub>2</sub> e 0 a 1% de HbF. Havendo redução no ritmo ou ausência total de síntese de certas cadeias polipeptídicas de hemoglobina, a hemoglobinação é deficiente e, conseqüentemente há microcitose e hipocromia, que são características dessas síndromes. Como a síntese de cadeias não afectadas permanece inalterada, há acumulação de agregados instáveis das cadeias despareadas (Oliveira et al, 2004).

O diagnóstico da talassémia pode partir apenas do eritrograma, que apresenta um volume globular médio e concentração de hemoglobina globular média muito baixos, seguido da contagem de reticulócitos que deve ser elevada e por ultimo, realizando uma electroforese de hemoglobina, que deve apresentar valores de HbF e HbA<sub>2</sub> muito acima do normal (Giordano, 2005).

#### **1.5.7. Anemia por perda sanguínea**

Estas anemias podem dar-se por perda aguda ou perda crónica. Na perda aguda de sangue, imediatamente após uma perda aguda ocorre hipovolemia, isto é, diminuição do volume sanguíneo. Como a reserva de reticulócitos medulares mais imaturos é pequena e há necessidade de pelo menos uma semana para formação de novos eritrócitos, durante os primeiros dias após a normovolemização, a anemia revela-se normocítica e normocrómica. Passado uma semana ocorre um pico reticulocítico, o que eleva o volume globular médio e diminui a concentração de hemoglobina globular média. Visto ao microscópio, o sangue periférico apresenta intensa policromasia e anisocitose. Se o paciente não tiver reservas suficientes de ferro ou folato, poderá desenvolver anemia ferropénica ou megaloblástica (Oliveira et al, 2004) .

As anemias por perda crónica de sangue são decorrentes de pequenos sangramentos que promovem a queda lenta das reservas dos factores nutricionais essenciais para a eritropoiese, principalmente o ferro. Com a perda de sangue gera-se hipoxia de intensidade proporcional e aumenta a necessidade de formar novos

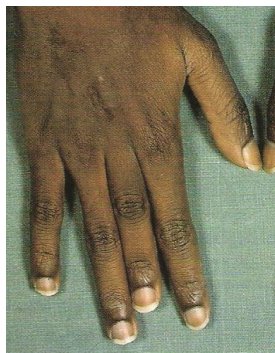
glóbulos. Assim há aumento das necessidades de folato, ferro, vitamina B12, etc. Uma vez que o ciclo do ferro é fechado, não há grandes necessidades de absorção diária. No entanto a perda de sangue quebra esse ciclo, e aumenta a necessidade do aporte de ferro alimentar, o que na maioria dos casos não é obtido, levando a um estado de anemia ferropénica. Além do quadro clínico típico de cada doença, trata-se de uma anemia microcítica-hipocrômica para o caso de haver carência de ferro, se houver apenas falta de folato trata-se de anemia megaloblástica (Oliveira et al, 2004).

### **1.5.8. Anemia falciforme**

É uma anemia hemolítica crónica grave, decorrente do encurtamento da vida do eritrócito. Caracteriza-se pela presença de hemoglobina S no interior dos glóbulos vermelhos independentemente da sua quantidade ou da sua herança genética. A presença da hemoglobina S em homozigose induz os eritrócitos a transformar-se em células em forma de foice, que são destruídas pelo sistema monocítico-macrofágico. A nível molecular a hemoglobina S possui uma substituição do resíduo de ácido glutâmico pela valina na sexta posição da cadeia de  $\beta$ -globina. Essa alteração decorre da base adenina por timina no sexto codão. Resumindo, substitui-se o codão GAG (ácido glutâmico) por GTG (valina) no gene da  $\beta$ -globina. Esta troca de aminoácidos, faz com que quando as moléculas de hemoglobina S são desoxigenadas, polimerizam no interior do glóbulo vermelho e transformam este da forma bicôncava para a forma de foice (drepanócito). Em órgãos onde a circulação é mais lenta, ocorre com mais facilidade, causando trombose e enfarte das áreas adjacentes. O diagnóstico inicia-se com um hemograma apresentando uma acentuada anemia normocítica-normocrômica. Posteriormente, observando-se ao microscópio detectam-se os típicos drepanócitos e ainda fazendo a contagem de reticulócitos, que deve ser elevada.

A nível de sintomas, os pacientes apresentam uma constituição asténica, icterícia moderada e são ainda comuns úlceras em redor dos tornozelos. Podem ainda

estar presentes deformidades ósseas, podendo haver um crescimento desigual dos ossos pequenos das mãos e dos pés.



**Figura 16:** Paciente com crescimento desigual dos dedos da mão (Hoffbrand et al, 2000)



**Figura 17:** Paciente com crescimento desigual dos dedos do pé (Hoffbrand et al, 2000)

Também pode ser danificado o sistema nervoso como consequência do enfarte, e pode ainda ocorrer oclusão dos vasos sanguíneos da retina.

#### **1.5.9. Anemia na gravidez**

A ferropenia é a causa mais comum de anemia na grávida. A gravidez constitui um estado de alteração geral da mulher com um feto em crescimento progressivo, assim sendo as necessidades nutricionais também sofrem alterações. Em consequência da ausência de perdas menstruais, nos primeiros meses de gestação, as necessidades de ferro são menores e a absorção intestinal está diminuída, enquanto no último trimestre a compensação destas necessidades exigiria uma absorção diária superior a 7 mg, o que é fisiologicamente impossível de atingir. Na prática uma mulher sem boas reservas anteriores, vai terminar a gravidez com carência significativa de ferro (Guimarães et al, 2007) .

A anemia não causa malformações no bebê, portanto no início o bebê não sofre de anemia, a não ser que as reservas de ferro da mãe sejam muito reduzidas levando a necessidade de suplementação com composto de ferro.

Durante uma gravidez, o volume plasmático materno aumenta 50%, enquanto a massa eritrocitária aumenta apenas cerca de 20%, o que leva a uma diminuição da concentração de hemoglobina. Assim observa-se então a presença de anemia. Numa grávida considera-se normal um valor de hemoglobina superior a 11 g/dl, embora se encontrem valores mais baixos (cerca de 10,5 g/dl) entre a 28<sup>a</sup> e a 30<sup>a</sup> semana de gestação. Se o valor de hemoglobina é superior a 10,5 g/dl não há grandes riscos para a grávida, nem para o feto.

As causas mais frequentes de anemia nas grávidas são dependentes de uma alimentação não equilibrada e de uma suplementação não adequada de ferro. Se não for muito grave esta anemia pode ser assintomática, ou pode ser mascarada por outros sintomas que a grávida apresente nomeadamente a sensação de sono ou o cansaço fácil (Guimarães e tal, 2007).

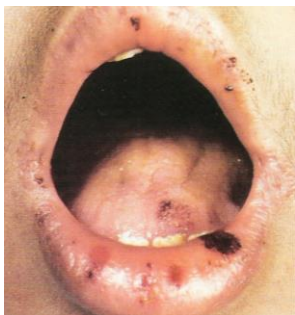
#### **1.5.10. Anemia aplástica**

As anemias aplásticas compreendem uma pancitopenia, isto é, diminuição de todas as linhagens de células no hemograma, causadas por hipoplasia da medula óssea, ou seja, diminuição da produção por parte da medula (Moss et al, 2004).

Em 50% dos casos não há causa definida. Em aproximadamente 1/3 dos casos, a causa parece ser o dano infligido por uma droga ou toxina às células-tronco hematopoéticas, que se encontram reduzidas em numero em decorrência da perda da capacidade de auto-renovação e proliferação. Também pode ser causada por radiação ou infecção, e neste caso, particularmente as hepatites virais.

A anemia é moderadamente macrocítica ou normocítica, mas os sinais clínicos são de anemia, hemorragia, trombocitopenia ou infecções decorrentes de neutropenia. O sangramento dá-se a nível da pele na forma de equimoses ou então nas superfícies internas, ou a partir delas, podendo também ocorrer nos órgãos internos, tendo a hemorragia cerebral como principal risco. Podem ainda ocorrer a disceratose congénita como consequência desta anemia e ainda a baixa estatura do

paciente, que também se apresenta como consequência desta situação clínica (Hoffbrand et al, 2000).



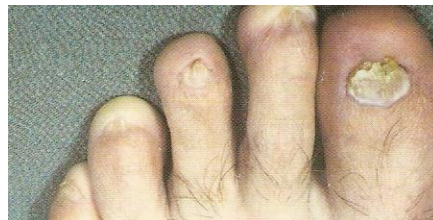
**Figura 18:** Sangramento decorrente de anemia aplástica.

(Hoffbrand et al, 2000)



**Figura 19:** Disceratose congênita.

(Hoffbrand et al, 2000)



**Figura 20:** Disceratose congênita.

(Hoffbrand et al, 2000)

A anemia aplástica, no geral, pode surgir em qualquer idade, com pico de incidência em torno dos 30 anos e uma leve predominância no sexo masculino. São comuns as infecções, particularmente da boca e da garganta, e as infecções generalizadas com frequência colocam a vida em risco. O quadro clínico mais comum são as manifestações hemorrágicas sob a forma de hematomas, sangramento gengival, epistaxe e menorragia, quase sempre com sintomas de anemia. É uma anemia normocítica e normocrômica ou levemente macrocítica em que a contagem de reticulócitos é muito baixa em relação ao grau de anemia. Possuem leucopenia, daí serem frequentes as infecções. Não são notáveis células anormais no sangue periférico.

## 1.6. Doenças mieloproliferativas que causam anemia

### 1.6.1. Poliglobulia ou policitemia

A poliglobulia é definida como o aumento da concentração de hemoglobina acima do limite normal para a idade e sexo do paciente. Pode ser classificada

conforme a sua fisiopatologia, mas a principal subdivisão é em poliglobulia ou policitemia absoluta, na qual há aumento da massa de eritrócitos, e policitemia relativa, na qual o volume de eritrócitos é normal, mas o volume do plasma está diminuído.

A policitemia absoluta pode ser subdividida em dois tipos distintos. Pode ser desencadeada a partir de uma doença própria do glóbulo vermelho, um tipo de processo canceroso a que se chama *policitemia vera*. Esta é uma doença em que todos os sectores do sistema hematopoiético fogem ao mecanismo de regulação. No hemograma observam-se então principalmente aumento de hemoglobina, hematócrito e eritrócitos, sendo que em cerca de metade dos casos se observa neutrofilia e contagem de plaquetas elevada. Cerca de 5% dos casos de policitemia vera progredem para leucemia. Aparece especialmente em idosos com incidência igual em ambos os sexos.

Mas pode também desenvolver-se a partir de outras doenças, como as cardiopatias ou enfisema pulmonar por exemplo. Nestes casos chamamos-lhe *policitemia secundária*. As cardiopatias provocam a mistura de sangue venoso com o sangue arterial, o que leva o organismo a produzir mais glóbulos vermelhos ou hemácias. O enfisema pulmonar, mais comum nos fumadores, dificulta a oxigenação do sangue pelo pulmão, o que também leva o organismo a produzir mais glóbulos vermelhos. Neste caso o risco de transformação em leucemia é muito baixo. Ocorre particularmente em homens jovens ou de meia idade. Muitos casos são assintomáticos e diagnosticados em hemograma de rotina. Um sintoma característico é a sensação de queimação nas mãos e nos pés que é prontamente aliviada pela aspirina (Ernest, 2001).

#### **1.5.12. Leucemia**

A leucemia é uma neoplasia maligna que atinge o sangue. Tem origem na medula óssea e as suas causas são desconhecidas, mas envolvem alterações genicas

como translocações e deleções. É sua característica a proliferação desregulada de um dos tipos de leucócitos na medula óssea e no tecido linfóide.

As leucemias classificam-se em quatro tipos, leucemias agudas e crônicas, que por sua vez se subdividem em linfóides e mielóides. As leucemias agudas são caracterizadas pelo crescimento rápido de células imaturas no sangue. Usualmente são doenças agressivas, que têm uma rápida progressão. São resultantes da acumulação de percursoros mielóides ou linfóides, na medula óssea, no sangue ou noutros tecidos. Presumivelmente surgem por mutações somática de uma única célula da população de células tronco. Se não forem tratadas, estas doenças são fatais, no entanto se forem tratadas a tempo são mais fáceis de tratar do que as leucemias crônicas. Subdivide-se em leucemia mielóide aguda e leucemia linfóide aguda, conforme a linhagem progenitora dos blastos. A leucemia linfóide aguda destaca-se como a doença maligna mais comum na infância. Tem como características clínicas anemia, neutropenia, trombocitopenia e infiltração de órgãos, tendo como consequência destas características a palidez, febre, infecções na boca, na garganta e na pele, sangramento gengival, dor óssea, linfonodos, etc. podem apresentar uma anemia normocítica e normocrômica. A contagem de leucócitos pode ser baixa, normal ou alta. A leucemia mielóide aguda ocorre em todas as faixas etárias. É a forma mais comum de leucemia em adultos e a sua incidência aumenta com a idade, constituindo apenas uma pequena fração das leucemias na infância. São proliferações neoplásicas, que resultam no aumento dos mieloblastos e outras células imaturas da linhagem mielóide. As características clínicas são semelhantes às da leucemia linfóide aguda. No entanto, neste caso a anemia e trombocitopenia são profundas (Hoffbrand et al, 2000).

As leucemias crônicas são patologias de curso lento e progressivo, que têm uma proliferação anormal de uma célula neoplásica que mantém a sua capacidade de maturação e resulta num grande numero de células maduras na circulação. Defeitos na apoptose, dificultando o mecanismo natural de morte celular programada, também contribuem para acumulação de células no processo fisiopatológico dessas

entidades. Podem ser divididas em linfóides e mielóides. Nas leucemias mielóides crônicas há uma evidente proliferação de células maduras, Granulócitos, nas leucemias linfóides crônicas a proliferação é de linfócitos maduros, havendo raras ou ausentes formas blásticas na circulação periférica ou medula óssea. As células demonstram aparente morfologia normal, no entanto as células maduras descendentes do clone neoplásico possuem funções alteradas.

A doença ocorre em ambos os sexos e em qualquer idade, mas mais frequentemente entre os 40 e os 60 anos. Os sintomas passam por perda de peso, anorexia, em alguns pacientes aumenta o volume do baço, causando desconforto, dor e indigestão, palidez, hemorragia, devido à formação anormal das plaquetas, insuficiência renal causada por hiperuricemia pelo catabolismo excessivo de purina. Os pacientes apresentam leucocitose, havendo um espectro completo de células mielóides no sangue periférico. Os níveis de neutrófilos e mielócitos excedem os de células blásticas e promielócitos. Aumentam os basófilos circulantes e é comum a anemia normocítica e normocrômica.

A leucemia linfóide crônica é a mais comum das leucemias linfóides, insidindo mais entre os 60 e os 80 anos de idade. Não há insidência maior com radioterapia e quimioterapia prévias. A célula tumoral aparentemente é uma célula B relativamente madura com expressão fraca de IgM e IgD monoclonais. As células acumulam-se no sangue, na medula óssea, no fígado, no baço e nos linfonodos como resultado de sobrevida prolongada com diminuição da apoptose normal. No sangue periférico encontram-se em excesso os linfócitos, bem definidos.

É uma doença que atinge indivíduos mais velhos, ocorrendo mais frequentemente nos homens. Uma característica desta doença é o aumento simétrico dos linfonodos superficiais. Podem apresentar sintomas de anemia ( palidez, etc.), esplenomegalia e hepatomegalia, que são característicos em estados mais avançados. A característica laboratorial é a linfocitose entre 70 a 99% nos leucócitos no sangue têm aspecto de pequenos linfócitos, encontrando-se também células esmagadas na

distensão sanguínea. Está presente anemia normocítica e normocrômica na fase tardia (Moss et al, 2004)

## **2.Objectivos**

O objectivo deste trabalho dividiu-se em duas partes. A primeira parte do objectivo, foi conhecer e testar as técnicas através das quais se diagnostica a anemia em laboratórios clínicos. Ainda dentro da primeira parte, o objectivo foi a identificação de anemias e a sua classificação quanto ao tipo e subtipo.

A segunda parte do objectivo, foi realçar a importância da bioquímica nos estudos anteriores.

O tema foi escolhido em função da segunda parte do objectivo. Sendo o presente estudo fundamentalmente hematológico, seria de esperar que a anemia nada tivesse que ver com bioquímica, no entanto há uma relação directa entre estas.

## **3. Metodologia**

### **3.1. Amostra biológica**

Foram avaliados 99 pacientes consecutivos, apresentando anemia, no período de Setembro de 2007 a Abril de 2008, com idades compreendidas entre os 0 e 98 anos. Houve predominância do sexo feminino de 59,6% enquanto que o sexo masculino chegou apenas aos 40,4%. Do estudo foram excluídos pacientes do sexo feminino apresentando concentrações de hemoglobina acima de 11,5 g/dl e pacientes do sexo masculino apresentando concentrações de hemoglobina superiores a 13,5 g/dl (ambos apresentando valores normais para os restantes parâmetros do hemograma), uma vez que estes valores, embora abaixo do considerado normal não revelam nenhuma patologia significativa. Foram ainda excluídos os pacientes que não apresentaram solicitação médica suficiente para diagnosticar o subtipo de anemia presente, uma vez que sem esta seria muito dispendioso para o laboratório efectuar todos os doseamentos necessários ao diagnóstico do subtipo de anemia.

As amostras a serem utilizadas para quantificação de Hb total, HbF e HbA2 foram colhidas através de punção venosa, para tubos com anticoagulante, K<sub>3</sub>EDTA. Para quantificação dos restantes parâmetros o sangue foi colhido para tubos contendo gel que facilita a separação entre o soro e os seus restantes componentes através de centrifugação. A centrifugação foi feita sempre a uma velocidade de 3000 rpm, durante 10 minutos, à temperatura ambiente.

### **3.2. Grupo de pacientes controlo**

Foram recolhidas amostras de sangue de pacientes do sexo feminino, com valores de hemoglobina entre 12 g/dl e 14 g/dl e simultaneamente foram recolhidas

amostras de sangue de pacientes do sexo masculino com valores de hemoglobina contidos entre 14 g/dl e 16 g/dl. Em ambos os sexos estas amostras deveriam ter valores de VCM entre 80 e 100, CCMH entre 32 e 36 e HCM entre 27 e 32.

### **3.3. Grupo de pacientes anémicos**

Foram recolhidas amostras de sangue de pacientes do sexo feminino, com valores de hemoglobina abaixo de 11,5 g/dl e simultaneamente foram recolhidas amostras de sangue de pacientes do sexo masculino com valores de hemoglobina abaixo de 13,5 g/dl.

Foram também recolhidas amostras de sangue de pacientes cujo valor de hemoglobina não estava dentro dos limites normais, mas os parâmetros VCM, CCMH e HCM estavam muito alterados.

Desta maneira, o procedimento adoptado foi dividir os pacientes anémicos em três grupos distintos. O primeiro grupo foi constituído por pacientes com VCM inferior a 80, o segundo grupo foi constituído por pacientes com VCM contido entre 80 e 100, e por ultimo o terceiro grupo de pacientes constituído por indivíduos com VCM superior a 100.

#### **3.3.1. Grupo de pacientes com $VCM < 80$ fl**

Neste grupo de pacientes analisou-se a concentração de ferro, ferritina e transferrina, a fim de identificar anemias ferropénicas ou causadas por doenças crónicas. E ainda foi medida a concentração de hemoglobina do tipo A2 e do tipo fetal para diagnóstico de talassémias.

#### **3.3.2. Grupo de pacientes com $80 < VCM < 100$ fl**

Este grupo foi dividido em dois. O primeiro com numero de reticulócitos normal ou diminuído, onde foram analisados os parâmetros ferro, ferritina, para identificação de anemias ferropénicas e de doenças crónicas. Foi também analisado o numero de eritrócitos e leucócitos para verificar a presença ou não de doenças como leucemias, anemias aplásticas e sideroblásticas. No segundo grupo formado por pacientes com numero elevado de reticulócitos, foi ainda analisada a concentração de bilirrubina indirecta a fim de diagnosticar anemias hemolíticas, com concentração elevada de bilirrubina, e perdas de sangue, em pacientes com concentração de bilirrubina normal.

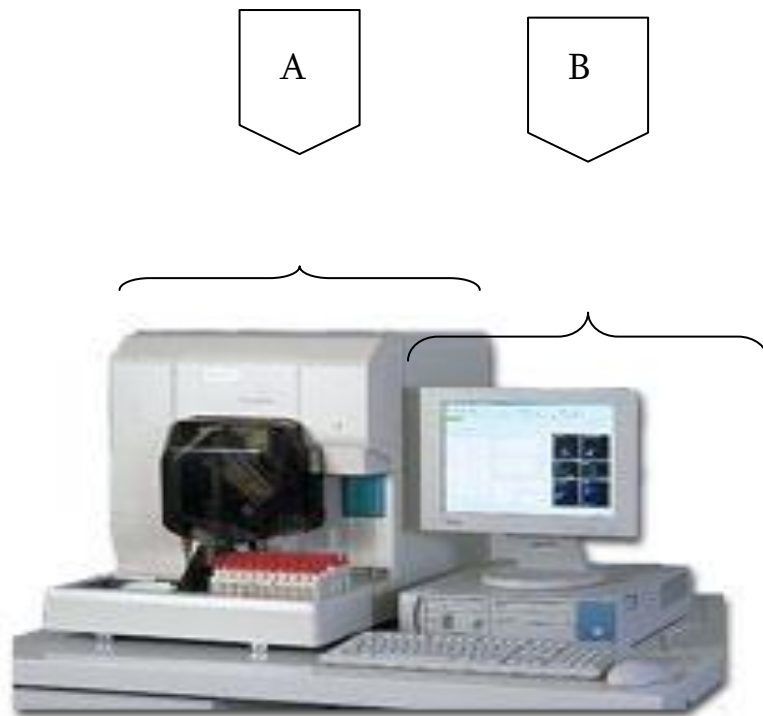
### **3.3.3. Grupo de pacientes com VCM>100**

Neste grupo de pacientes foi realizada a detecção da quantidade de reticulócitos, bem como de ácido fólico e vitamina B12 para diagnóstico de anemias megaloblásticas. Ainda neste grupo foi detectada a concentração de bilirrubina indirecta para diagnóstico de possíveis anemias hemolíticas.

## **3.4. Hemograma**

### **3.4.1. Equipamento**

Para identificação da presença de uma anemia, baseámo-nos principalmente no hemograma (análise que nos fornece as quantidades dos vários tipos de células, tais como leucócitos, eritrócitos e plaquetas, e as respectivas concentrações e volumes de hemoglobina contida nos eritrócitos e na totalidade do sangue). Os hemogramas foram obtidos pelo aparelho *Sysmex-XT2000i* (fig.21).



**Figura 21:** Sysmex XT

2000i. A) Aparelho de quantificação dos dados hematológicos. B) Computador para o qual são enviados os resultados da análise feita no aparelho de quantificação ([www.global-impex.org](http://www.global-impex.org)).

### 3.4.2. Métodos

Este aparelho utiliza três métodos para obter os resultados dos diversos parâmetros:

- *Método de focagem hidrodinâmica*, em que se dá a selecção das células óptimas que prosseguirão para a posterior análise.

- *Método de citometria de fluxo*, que nos fornece as características físicas e químicas das células óptimas.

- *Método SLS* (sodium-lauril-sulfate) em que se mede o sangue que contém methemoglobina. O lauril sulfato de sódio, induz a conversão da hemoglobina do estado ferroso para o estado férrico formando methemoglobina que combina com o lauril sulfato de sódio para formar a molécula SLS-hemoglobina (Roche, 2003) .

### 3.4.3. Valores de referência

**Tabela 1:** Valores dos parâmetros hematológicos em indivíduos saudáveis, calculados a partir do aparelho Sysmex XT-2000i

Parâmetros	Intervalos de valores
WBC ( $\times 10^3 \mu\text{l}$ )	5.0-10.0
RBC ( $\times 10^6 \mu\text{l}$ )	3,8-4,8
HGB (g/dl)	12-14 (mulheres) 14-16 (homens)
HCT (%)	36-46
VCM (fl)	80-100
HCM (pg)	27-32
CCMH (g/dl)	32-36
RDW-CV(%)	11-15
RET( $\times 10^6 \mu\text{l}$ )	50-100
PLT ( $\times 10^3 \mu\text{l}$ )	150-400

### 3.5. Ferro

### 3.5.1. Equipamento

A quantificação do ferro, foi feita no aparelho ultramoderno *Olympus AU-400* (fig.22), através de um ensaio fotométrico.



Figura 22: Olympus AU-400 ([www.olympus-diagnostica.com](http://www.olympus-diagnostica.com))

### 3.5.2. Método

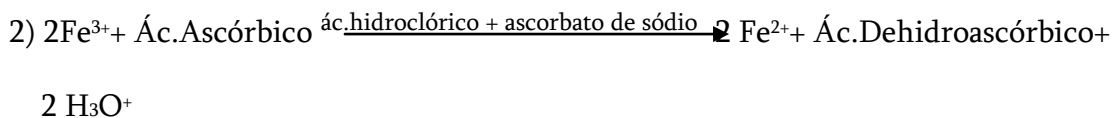
O método utilizado é um ensaio fotométrico, utilizado um cromogénio. É feito em soro humano ou em plasma heparinizado, não utilizando EDTA, oxalato ou plasma citrato.

A concentração de ferro que é medida no soro é a respeitante ao ferro ligado à transferrina e não o ferro existente no soro como hemoglobina livre (Olympus, 2007).

O ferro ligado à transferrina é decomposto em iões de ferro livres e apotransferrina, em meio ácido, através do tampão glicina (pH 1,7) 215 mmol/L (1).

Para reagirem com o cromogénio TPTZ ( 2,4,6-tri-(2-pyridyl)-5-triazina), os iões de ferro férrico têm que ser convertidos no seu estado ferroso ( $Fe^{2+}$ ). Neste

ensaio essa conversão é feita pelo ácido hidrolórico e pelo ascorbato de sódio (2). Por ultimo o ferro, já no estado ferroso reage com o cromogénio TPTZ, formando um complexo colorido (3) (Olympus, 2007).



Por fim é medida a absorvância do complexo formado a 600/800nm , que vai ser directamente proporcional à quantidade de ferro ligado à transferrina.

### 3.5.3. Valores de referência

As quantidades de ferro consideradas normais neste método, estão entre 53 e 167 µg/dl de sangue nos homens e estão entre 49 e 151 µg/dl nas mulheres.

## 3.6. Transferrina

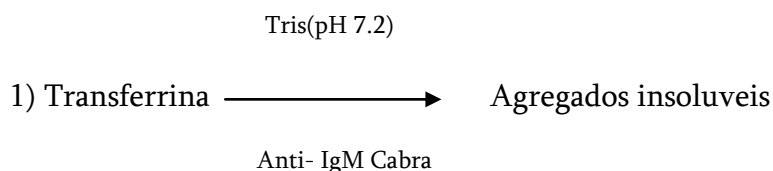
### 3.6.1. Equipamento

A transferrina foi também quantificada no aparelho Olympus AU-400 (fig.22).

### 3.6.2. Método

A quantificação de transferrina foi feita através de um ensaio imunoturbidimétrico. Este ensaio é feito em soro e EDTA ou em plasma heparinizado.

A amostra de soro humano é misturada com o reagente fornecido. A transferrina vai então reagir especificamente com os anticorpos anti-IgM de cabra (1), formando agregados insolúveis ( Olympus, 2006).



Por fim determina-se a absorvância dos agregados turbidimetricamente a 340 nm, que é proporcional à concentração de transferrina na amostra.

### 3.6.3. Valores de referência

As quantidades normais de transferrina no soro humano variam entre 200 e 360 mg/dl em adultos, em crianças entre os 3 meses e os 10 anos os valores normais oscilam entre 203 e 360 mg/dl, enquanto que em crianças entre 0 e 4 meses de idade estes variam entre 130 e 275 mg/dl.

## 3.7. Ferritina

### 3.7.1. Equipamento

A quantificação da ferritina foi feita no aparelho *Immulate 2000* (fig. 23).



**Figura 23:** Immulinite 2000 ([www.medcompare.com](http://www.medcompare.com))

### **3.7.2. Método**

Neste aparelho, a ferritina é quantificada por imunometria. A amostra de soro do paciente é tratada num tubo com uma esfera de poliestireno revestida com um anticorpo monoclonal de rato anti-ferritina e um anticorpo policlonal de cabra marcado com fosfatase alcalina específica para a ferritina. Segue-se um ciclo de incubação de 30 minutos, durante o qual ocorre imunometria. Posteriormente o aparelho quantifica automaticamente a ferritina (EURO/DPC, 2002).

### **3.7.3. Valores de referência**

Os pacientes apresentam valores normais de ferritina quando estes se encontram entre 20 e 300  $\mu\text{g/dl}$  no caso dos homens e entre 10 e 120  $\mu\text{g/dl}$  no caso das mulheres.

## **3.8. Vitamina B12**

### **3.8.1. Equipamento**

Este parâmetro foi quantificado no aparelho *Immulite 2000* (figura 23), através de imunoenaios competitivos.

### **3.8.2. Método**

Neste aparelho, a vitamina B12 é tratada com ditioneitol (DTT) e NaOH/KCN num tubo de reacção sem esfera. Após uma incubação de 30 minutos a amostra tratada é transferida para um segundo tubo com uma esfera de poliestireno revestida com vitamina B12, factor intrínseco de porco (HIF) e um anticorpo marcado com fosfatase alcalina específica para HIF. Durante uma incubação de 60 minutos a vitamina B12 que é libertada das proteínas de ligação endógenas compete com a vitamina B12 imobilizada por ligação com o HIF. O anticorpo anti-HIF marcado com fosfatase alcalina liga-se a HIF e é imobilizado apenas se HIF estiver ligado à esfera revestida com vitamina B12. Procede-se então à quantificação através do factor intrínseco que se liga à vitamina B12 liberta pelas proteínas de ligação endógenas. (EURO/DPC, 2002)

### **3.8.3. Valores de referência**

O intervalo considerado normal para os valores da concentração de vitamina B12 estão entre os 200 e 950 pg/ml, em ambos os sexos.

## **3.9. Ácido fólico**

### **3.9.1. Equipamento**

O ácido fólico é, tal como a vitamina B12, quantificado no aparelho Immulite 2000 (fig. 23)

### **3.9.2. Método**

O procedimento para quantificar o ácido fólico é muito semelhante ao da vitamina B12, sendo o primeiro ciclo de incubação totalmente igual, em que a amostra de soro é tratada com DTT e NaOH/KCN. Posteriormente a amostra é tratada e transferida para um tubo de reacção contendo uma esfera de poliestireno revestida com uma proteína de ligação com anti-ácido fólico monoclonal de rato, uma proteína de ligação de folato e um anticorpo marcado com fosfatase alcalina específica para o ligante. Através de uma imunoreacção semelhante à citada para a vitamina B12, o aparelho procede então à quantificação do ácido fólico com a ajuda a proteína de ligação que se vai ligar ao folato (EURO/DPC, 2002).

### **3.9.3. Valores de referência**

As concentrações de ácido fólico consideradas normais, neste laboratório, oscilam entre 3,7 e 14,4 ng/ml, para ambos os sexos.

## **3.10. Hemoglobina A<sub>2</sub> e Hemoglobina fetal**

Para confirmar a presença da talassémia, foi necessário realizar a técnica de electroforese de hemoglobina.

### 3.10.1. Equipamento

A electroforese de hemoglobinas foi feita no aparelho *HA-8160* (fig.24).



**Figura 24:** HA-8160 ([www.arkray.co.jp](http://www.arkray.co.jp))

### 3.10.2. Método

Este aparelho faz a separação das várias fracções da hemoglobina (HbF, HbA<sub>2</sub>, HbA<sub>1</sub>, HbA<sub>1c</sub>), recorrendo a *cromatografia de troca catiónica*, em que cada fracção da hemoglobina adere á coluna separadamente aquando da troca do eluente. As fracções de hemoglobina separadas são monitorizadas por meio de absorção de luz a 415nm, sendo assim possível obter um cromatograma e portanto a percentagem de cada fracção presente no sangue total do paciente (Menarini Diagnostics, 2001).

### 3.10.3. Valores de referencia

Os pacientes saudáveis devem apresentar valores entre 2,2% e 3,2% para a fracção A<sub>2</sub> da hemoglobina, e deve ser portador de um valor de HbF inferior a 1,0%.

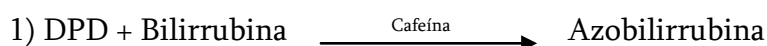
### 3.11. Bilirrubina total

#### 3.11.1. Equipamento

A bilirrubina total ou indirecta foram quantificadas pelo aparelho *Olympus AU-400* (figura 22).

#### 3.11.2. Método

O método utilizado é um ensaio fotométrico. O sal de diazónio estabilizado 3,5-diclorofenil-diazónio-tetrafluorborato (DPD), reage com a bilirrubina directa e indirecta na presença de um catalisador, a cafeína a 2,1mmol/L para formar a azobilirrubina (1).



A absorvância da azobilirrubina a 540 nm é proporcional à concentração de bilirrubina total, e deste modo esta pode ser quantificada. Neste ensaio é efectuado adicionalmente um branco da amostra separadamente para reduzir a própria interferência no soro (Olympus, 2007).

#### 3.11.3. Valores de referencia

As concentrações de bilirrubina indirecta, consideradas normais em adultos encontram-se entre 0,3 e 1,2 mg/dl, em crianças até 1 dia de idade encontram-se entre 1,4 e 8,7 mg/dl, até 2 dias de idade os valores oscilam entre 3,4 e 11,5 mg/dl, e finalmente em crianças dos 3 aos 5 dias de idade os valores normais vão desde 1,5 a 12 mg/dl.

### 3.12. Análise microscópica

Este tipo de análise foi utilizado para verificar as características dos eritrócitos.



**Figura 25:** Microscópio óptico ([www.icb.ufmg.br/mor/biocelch/tools.html](http://www.icb.ufmg.br/mor/biocelch/tools.html))

Na técnica microscópica, fez-se o esfregaço do sangue total do paciente numa lamina, corando-o através da coloração de Papenheim. Para tal foi utilizado o reagente May-Grunwalds para corar , tampão de Weiser pH 7.2 para lavagem da lâmina e por fim o soluto de Giemsa diluído no mesmo tampão (diluição 2:100). Posteriormente faz-se a análise ao microscópio óptico, podendo observar os eritrócitos de cor rosa e os leucócitos de cor azul.

### **3.13. Outras técnicas**

Existem ainda dois tipos de anemia que não se puderam confirmar neste laboratório, assim podemos apenas supor de que os pacientes sofrem destas doenças através do hemograma. Estou a realçar o caso das anemias aplásticas e sideroblásticas. Nestas anemias existe um valor muito baixo de eritrócitos e leucócitos, no entanto para a sua confirmação seria necessária uma análise directa da medula óssea, que não é feita por este tipo de laboratório de análises clínicas.

## 4. Resultados e discussão

### 4.1. Sexo

Foram avaliados 96 pacientes consecutivamente, que apresentaram hemogramas com valores fora do normal, correspondendo a anemia. Simultaneamente foi avaliado ainda um grupo controlo, composto por 100 pessoas, sem sinais de anemia. A tabela seguinte (tabela 1) mostra a frequência de anemia em ambos os sexos.

**Tabela 2:** Percentagens de pacientes estudados

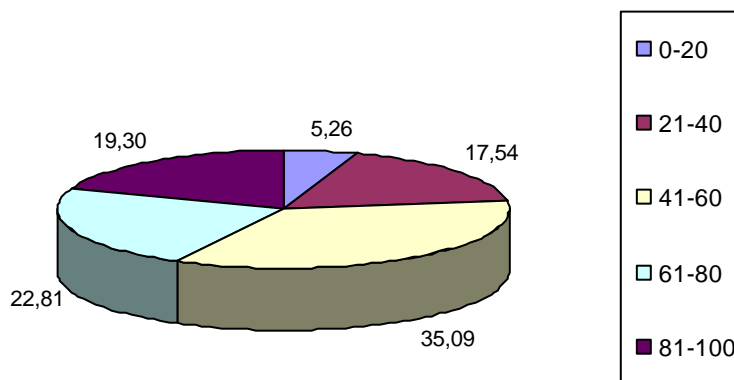
	Homens	Mulheres
% de anémicos	40,63	59,38
% controlo	50	50

O grupo controlo foi propositadamente constituído por 50 pessoas do sexo masculino e 50 do sexo feminino. O grupo de pacientes anémicos foi então formado ao acaso, estudando consecutivamente 96 pacientes, independentemente do seu sexo, para que se pudesse estimar a predominância de anemia em cada um. Repara-se então, pela tabela, que em 96 pacientes anémicos, 59,38% são do sexo feminino, enquanto que apenas 40,63% pertencem ao sexo masculino. Evidencia-se assim a maior predominância da patologia nas mulheres.

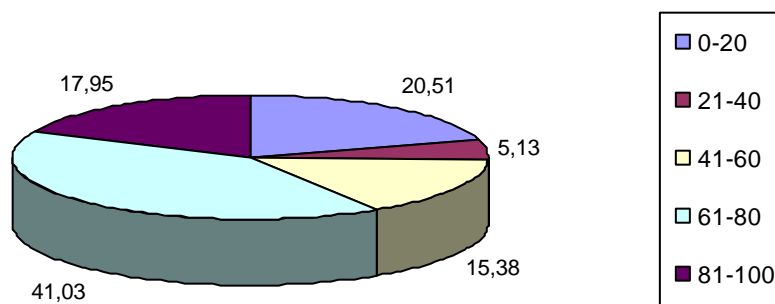
A explicação para isto deve-se possivelmente ao facto de as mulheres terem uma alimentação mais desequilibrada e mais pobre do que os homens.

Estes resultados coincidem com outros estudos feitos na Europa e também com resultados obtidos para a Ásia, África e América, em que as mulheres são o sexo predominante em anemias (Roche, 2005)

## 4.2. Idade



**Gráfico 1:** Percentagens de pacientes anémicos do sexo feminino em cada faixa etária.



**Gráfico 2:** Percentagens de pacientes anémicos do sexo masculino em cada faixa etária.

Verifica-se uma maior intensidade de anemia em idades mais elevadas, sendo que no sexo masculino a maior percentagem de pacientes encontra-se a partir dos 61 anos de idade, enquanto que no sexo feminino, a faixa etária com mais pacientes encontra-se entre os 41 e os 60 anos de idade. Estes resultados confirmam outros estudos realizados em que os sujeitos idosos estão sujeitos a diversos factores de risco, como institucionalização, más condições sócio-económicas e condições co-mórbidas (Levy et al, 2007), o que significa a presença destes factores de risco nesta população.

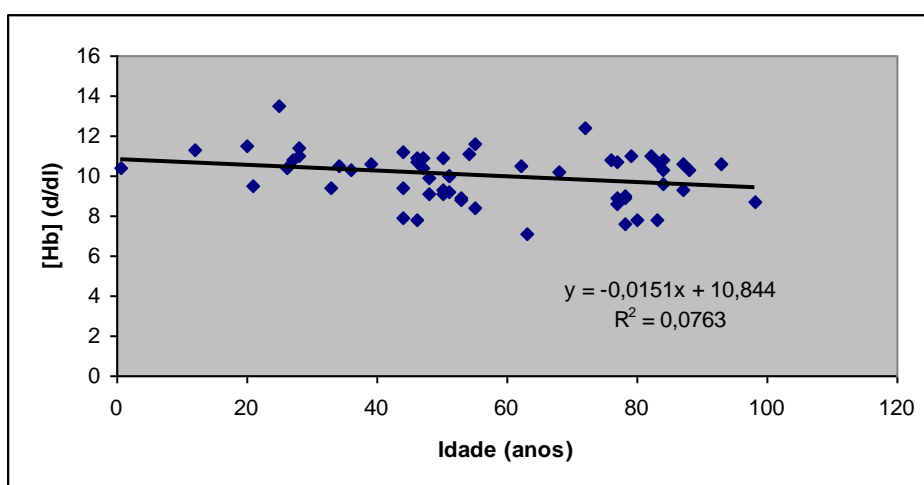
### 4.3.Hemoglobina

#### 4.3.1. Grupo de pacientes anémicos

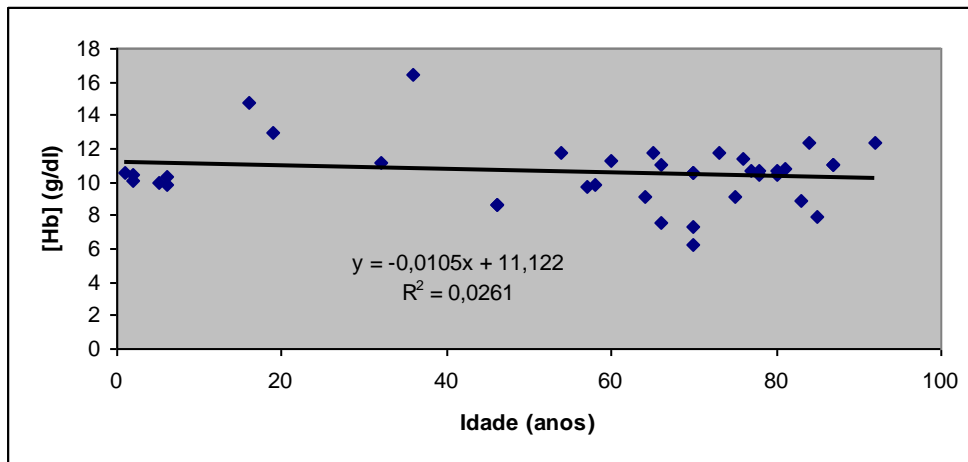
**Tabela 3:** Variação das concentrações de hemoglobina com variação da faixa etária.

<i>Idade (anos)</i>	<i>mulheres</i>				<i>homens</i>				<i>N</i>
	<i>[Hb]media (g/dl)</i>	<i>mediana</i>	<i>Sd</i>	<i>n</i>	<i>[Hb]media (g/dl)</i>	<i>mediana</i>	<i>Sd</i>		
0-20	11,07	11,30	0,59	3	11,13	10,4	1,78	8	
21-40	10,74	10,55	1,15	10	12,65	12,35	2,99	4	
41-60	9,78	9,65	1,14	20	9,66	9,55	1,33	8	
61-80	9,50	9,00	1,56	13	9,98	10,6	1,64	18	
81-100	9,97	10,3	1,01	11	10,23	10,6	1,31	18	

Os resultados em ambos os sexos são aproximados para cada intervalo etário. Verifica-se no caso dos pacientes do sexo feminino, uma ligeira diminuição da média das concentrações de hemoglobina à medida que a idade aumenta. No sexo masculino esta diminuição não é tão evidente. Para comprovar se a concentração diminui ao longo do aumento da idade foram esboçados gráficos, representados pelas idades e as concentrações de de hemoglobina em cada paciente (gráficos 3 e 4).



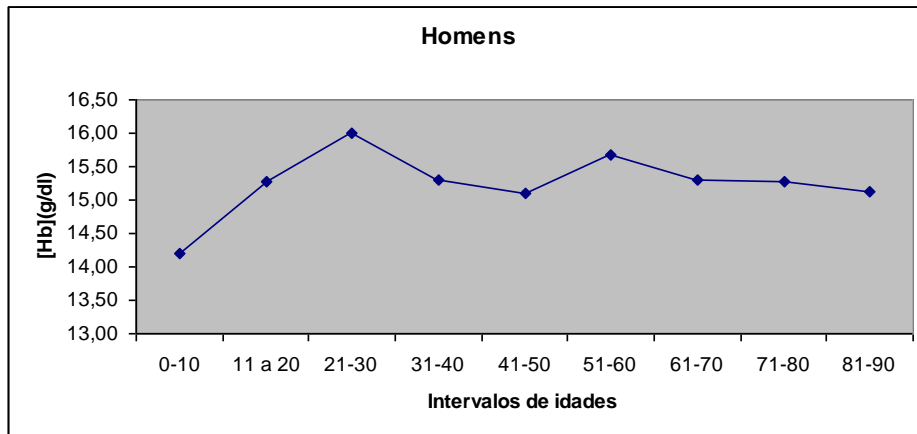
**Gráfico 3:** Variação da concentração de hemoglobina dos pacientes do sexo feminino em função das suas idades



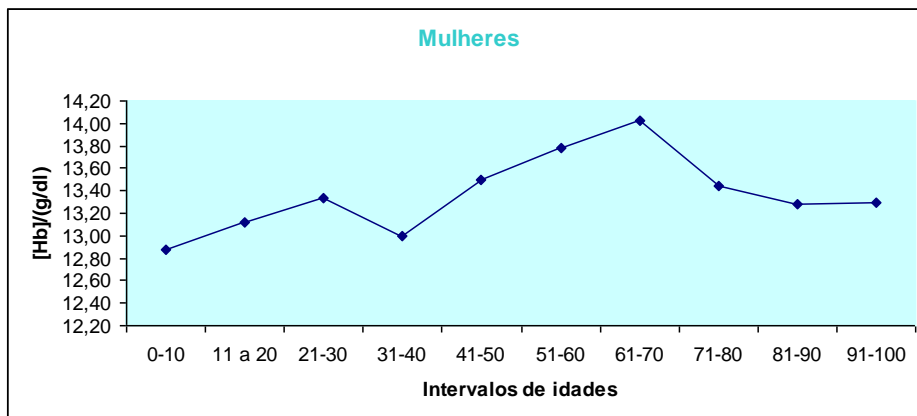
**Gráfico 4:** Variação da concentração de hemoglobina dos pacientes do sexo masculino em função das suas idades

Nos gráficos 3 e 4 observamos que ambas as rectas apresentam uma correlação ligeiramente negativa entre as concentrações de hemoglobina e a idade dos pacientes, o que indica que a concentração de hemoglobina possa diminuir com o aumento da idade, em ambos os sexos. Observam-se alguns picos de hemoglobina em ambos os gráficos devido á presença de anemias como talassémias em que a concentração de hemoglobina pode encontrar-se com valores normais e devido a anemias megaloblásticas que em alguns casos também apresentam concentrações normais.

#### 4.3.2. Grupo de pacientes controlo



**Gráfico 5:** Representação dos níveis de hemoglobina do grupo controlo, para as diferentes faixas etárias.



**Gráfico 6:** Representação dos níveis de hemoglobina no grupo controlo, para as diferentes faixas etárias.

Para cada sexo foi estimada a média da concentração de hemoglobina em cada faixa etária. Podemos então observar que os resultados são diferentes em ambos os sexos, sendo que o sexo masculino apresenta o pico de hemoglobina mais elevado na faixa dos 21 aos 30 anos. No caso das mulheres, este pico está presente entre os 61 e os 70 anos. No entanto, os gráficos assemelham-se de alguma forma, pois ambos apresentam dois picos de concentração de hemoglobina, e curiosamente por volta das mesmas idades. Existindo apenas a diferença de que no sexo masculino o pico de maior concentração de hemoglobina dá-se entre os 21 e os 30 anos e o pico de menor concentração de hemoglobina dá-se entre os 51 e os 60 anos. No sexo

feminino o resultado é oposto, uma vez que o pico de maior concentração se dá entre os 61 e os 70 anos e o outro pico encontra-se entre os 21 e os 30 anos sendo este de uma intensidade menor.

Estes resultados são verdadeiros, mas não os podemos tomar como definitivos, uma vez que o estudo foi feito apenas com 100 pessoas, um grupo relativamente pequeno para podermos generalizar, no entanto pode-se à partida concluir que a concentração de hemoglobina no sangue depende da idade dos pacientes.

#### 4.3.3.Comparação de valores de hemoglobina em pacientes anémicos e pacientes do grupo controlo

Foi feita a média das concentrações de hemoglobina em homens e mulheres anémicos e comparei com a mesma média feita para o grupo controlo. Estes resultados estão representados na tabela seguinte (tab.2).

**Tabela 4:** Comparação dos valores médios de hemoglobina normais com valores referentes a anemias.

	<i>[hemoglobina](g/dl) ±desvio padrão</i>	
	<i>Mulheres</i>	<i>Homens</i>
<i>Anémicos</i>	9,95 ± 1,27	10,27 ± 1,84
<i>Controlo</i>	13,38 ± 0,72	15,27 ± 0,77

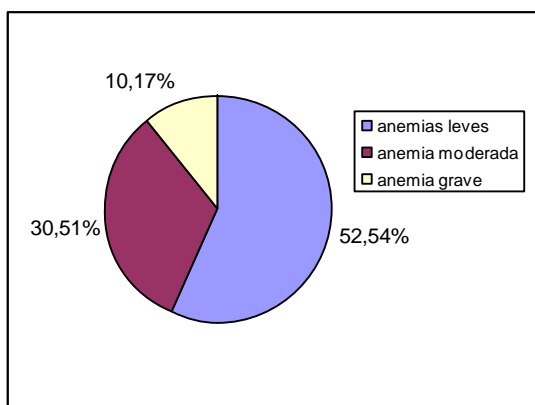
Os resultados anteriores mostram-nos então que os homens não anémicos, no geral têm uma concentração de hemoglobina mais elevada, o que seria de esperar já que os limites normais também são mais elevados do que nas mulheres. O grupo controlo apresentou em ambos os sexos, uma média de hemoglobina dentro dos limites normais. No grupo de pacientes anémicos verifica-se que a média da concentração de hemoglobina é ligeiramente mais elevada nos homens do que nas mulheres, mas são ambas muito próximas. Uma vez mais se evidencia que os homens

anémicos possuem concentrações de hemoglobina mais baixas, sofrendo assim de anemias mais graves, já que os seus limites normais são mais elevados do que nas mulheres.

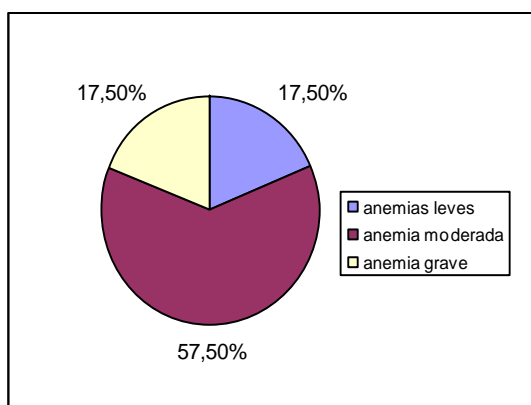
Posto isto, podemos concluir que esta patologia se relaciona com o sexo, sendo o sexo masculino mais debilitado quando atingido pela doença.

Nesta altura está então provado que a intensidade da anemia depende do sexo e da idade dos pacientes.

#### 4.3.4. Classificação das anemias como leves, moderadas ou graves, conforme o valor de concentração de hemoglobina



**Gráfico 7:** Percentagens de pacientes do sexo feminino com anemia leve (10,0<Hb <11,9mg/dl), com anemia moderada (8<Hb <9.9mg/dl) e com anemia grave (Hb<8mg/dl).



**Gráfico 8:** Percentagens de pacientes do sexo masculino com anemia leve(11,5<Hb <13,9mg/dl), com anemia moderada (9,0<Hb<11,4 mg/dl)e com anemia grave (Hb<9,0mg/dl).

Verifica-se que no sexo feminino predominam as anemias leves, constituindo a maioria dos casos (52,54%). As anemias moderadas constituem também um grupo considerável (30,51%) da totalidade dos pacientes, sendo menos frequentes as anemias graves, que constituem um grupo pequeno de pacientes deste sexo (10,17%).

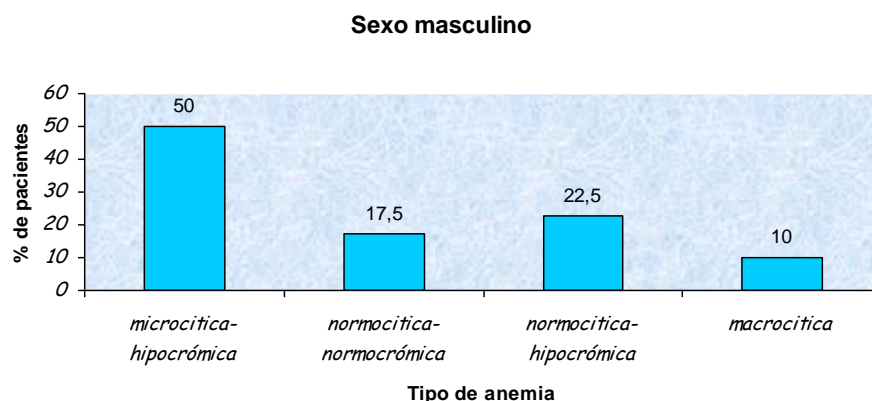
No sexo masculino o grupo predominante de anemias é o correspondente a anemia moderada (57,50%), no entanto as anemias graves pedominam tanto neste sexo quanto as anemias leves, constituindo dois grupos de igual percentagem.

Desta maneira, verifica-se então que apesar do sexo feminino ser mais afectado por esta doença do que o sexo masculino, a patologia é menos grave no sexo feminino do que no seo masculino.

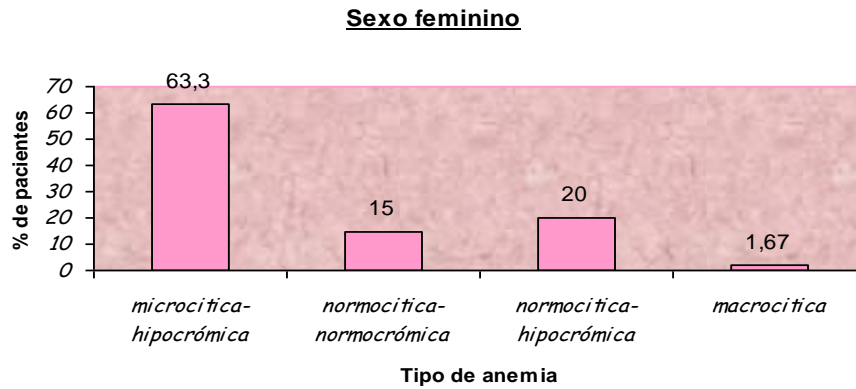
A soma das percentagens de pacientes não resulta em 100% uma vez que não se consideraram as anemias cujo valor de concentração de hemoglobina foi superior a estes limites. Isto porque em alguns desses casos, apesar da concentração de hemoglobina ser elevada, trata-se de anemias graves, como é o caso das Talassémias.

#### 4.4. Classificação das anemias diagnosticadas quanto ao tipo

Para esta análise desenhei novamente dois gráficos, um para cada sexo demonstrando a percentagem de pacientes caracterizados por cada tipo de anemia. Os gráficos apresentam-se nas figuras seguintes.



**Gráfico 9:** Percentagens de pacientes do sexo masculino para cada tipo de anemia



**Gráfico 10:** Percentagens de pacientes do sexo feminino para cada tipo de anemia

Os gráficos 9 e 10 mostram grande coerência nos resultados de ambos os sexos visto que as anemias mais predominantes em ambos são as microcíticas-hipocrômicas sendo menos predominantes as macrocíticas. Pode-se mesmo dizer que estas são bastante raras nas mulheres, aparecendo mais frequentemente nos homens. As anemias microcíticas-hipocrômicas são mais frequentes visto que as anemias ferropénicas fazem parte deste grupo e são as mais comuns (Bernard et al,1998). As anemias normocíticas-hipocrômicas são seguidamente as mais frequentes, isto porque estas na sua grande maioria estão numa fase inicial e irão tornar-se em microcíticas-hipocrômicas (Oliveira et al, 2004).

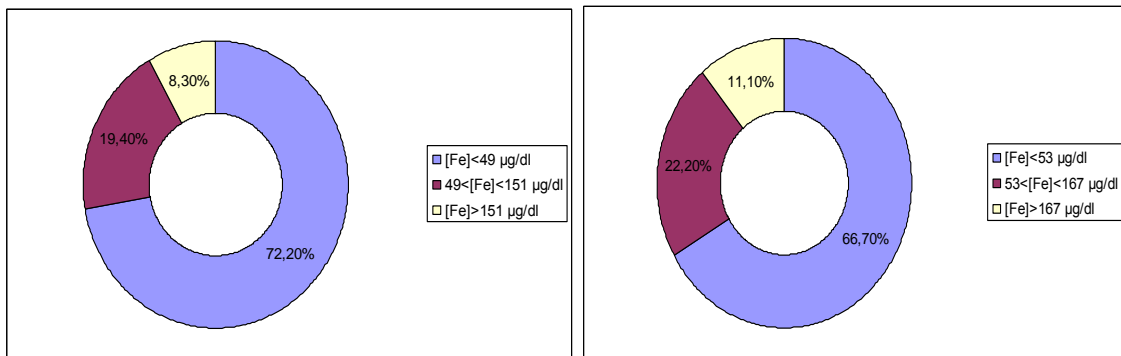
#### 4.5. Diagnóstico de subtipos de anemia

Em cada tipo de anemia há várias formas da doença. Várias anemias do mesmo tipo, com características morfológicas semelhantes podem apresentar outras características hematológicas ou bioquímicas diferentes e desta maneira manifestam-se de formas diferentes.

Para cada tipo de anemia foram então diagnosticados os diversos subtipos.

#### 4.5.1. Grupo de pacientes com anemias microcíticas (VCM<80fl)

Neste grupo de pacientes foram determinadas as concentrações de ferro, a partir das quais se obtiveram os gráficos seguintes. Estes foram desenhados segundo três intervalos de concentração de ferro, que correspondem respectivamente a concentração de ferro abaixo do limite mínimo considerado normal ( $[Fe]<49 \mu\text{g/dl}$  no caso das mulheres e  $[Fe]<53 \mu\text{g/dl}$  no caso dos homens), a concentração de ferro contida nos limites normais e a concentração de ferro acima do limite máximo de referencia ( $>167 \mu\text{g/dl}$  no sexo masculino e  $> 151 \mu\text{g/dl}$  no sexo feminino).



**Gráfico 11:** Percentagem de pacientes do sexo feminino, para cada intervalo de concentração de ferro.

**Gráfico 12:** Percentagem de pacientes do sexo masculino, para cada intervalo de concentração de ferro.

A maioria dos pacientes, tanto do sexo feminino (72,2%), como do sexo masculino (66,7%) são portadores de uma concentração de ferro abaixo do limite de referência, apresentando um valor médio de  $20,20 \pm 6,30 \mu\text{g/dl}$  nos homens e  $19,06 \pm 8,39 \mu\text{g/dl}$  nas mulheres o que sugere que este grupo seja caracterizado sobretudo por anemias ferropénicas, ou anemias de doenças crónicas.

Aos pacientes com concentração de ferro abaixo do normal, foi analisada a concentração de ferritina a fim de distinguir os pacientes com anemias ferropénicas dos pacientes com anemias de doenças crónicas. Para o sexo feminino, verificou-se que 100% dos pacientes com concentrações de ferro baixas, continham

concentrações de ferritina igualmente baixas ( $5,73 \pm 2,46 \mu\text{g/L}$ ) e concentrações de transferrina elevadas ( $417,25 \pm 93,81 \text{ mg/dl}$ ). Desta maneira todas as mulheres pertencentes a este grupo eram portadoras de anemia ferropénica (Olympus, 2006).

Para o sexo masculino, os resultados foram um pouco diferentes, visto que apenas em 76,92% dos pacientes com concentrações de ferro baixas, foram observadas concentrações de ferritina igualmente baixas ( $8,13 \pm 6,11 \mu\text{g/L}$ ) e concentrações de transferrina elevadas ( $392,67 \pm 23,69 \text{ mg/dl}$ ). Os restantes pacientes do sexo masculino com concentrações de ferro diminuídas, dividiram-se em 15,38% de pacientes com ferritina normal ( $98,7 \pm 16,12 \mu\text{g/dl}$ ) e transferrina normal ( $278,5 \pm 62,93 \text{ mg/dl}$ ) e 7,69% com concentrações de ferritina aumentadas ( $587 \mu\text{g/dl}$ ) e concentrações de transferrina diminuídas ( $123 \text{ mg/dl}$ ). O que sugere que apenas 23,07% dos pacientes com concentrações de ferro diminuídas sofram de anemias causadas por doenças crónicas (Oliveira et al, 2004). Verifica-se portanto que a anemia ferropénica é a mais predominante em ambos os sexos.

O grupo de pacientes com concentrações de ferro normais é constituído por 19,4% das mulheres ( $80,0 \pm 28,54 \mu\text{g/dl}$ ) e por 22,2% dos homens ( $98,25 \pm 22,17 \mu\text{g/dl}$ ). O grupo de pacientes com valores de ferro aumentados é constituído por 8,3% das mulheres ( $161,5 \pm 9,19 \mu\text{g/dl}$ ) e 11,1% dos homens ( $184,50 \pm 17,68 \mu\text{g/dl}$ ).

Desta maneira 33,3% dos homens deste grupo e 27,7% das mulheres constituem uma possibilidade de diagnóstico de talassémias e apenas 8,3% das mulheres e 11,1% dos homens constituem uma possibilidade de anemia sideroblástica (Oliveira et al, 2004).

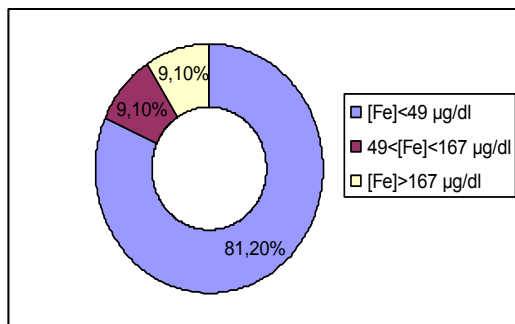
Para os pacientes com concentrações de ferro normais ou elevadas foram então calculadas as percentagens de cada fracção de hemoglobina, para os quais se obteve uma média de concentração de HbA<sub>2</sub> de  $4,99 \pm 0,71 \%$  e a média da concentração de HbF foi de  $0,68 \pm 0,36 \%$ , confirmando portanto que todos os pacientes destes grupos eram portadores de talassémia, visto terem uma percentagem elevada de HbA<sub>2</sub>.

#### 4.5.2. Grupo de pacientes com anemias normociticas ( $80 < VCM < 100$ )

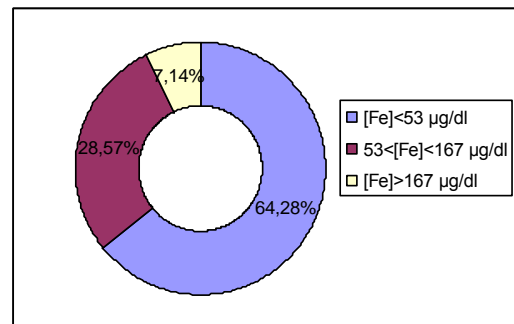
Neste grupo calculou-se inicialmente a concentração de reticulócitos dividindo este grupo em dois novos, um contendo valores normais ou diminuídos de reticulócitos e outro com valores aumentados de reticulócitos. Os pacientes do sexo masculino dividiram-se em 77,7% contendo valores normais ou diminuídos de reticulócitos ( $56,62 \pm 11,43 \times 10^9/L$ ) e 22,3% contendo valores elevados ( $111,13 \pm 9,23 \times 10^9/L$ ). Os pacientes do sexo feminino por sua vez dividiram-se em 28,57% de pacientes com elevado numero de reticulócitos ( $129,6 \pm 20,08 \times 10^9/L$ ) e 71,43% com numero diminuído ou normal de reticulócitos ( $51,30 \pm 26,00 \times 10^9/L$ ).

##### 4.5.2.1. Grupo de pacientes com numero de reticulócitos normais ou diminuídos

Para o grupo de pacientes com valores normais ou diminuídos de reticulócitos, foi analisada a concentração de ferro presente no soro (gráficos 11 e 12).



**Gráfico 13:** Percentagem de pacientes do sexo feminino, para cada intervalo de concentração de ferro.



**Gráfico 14:** Percentagem de pacientes do sexo masculino, para cada intervalo de concentração de ferro.

Este grupo de pacientes é caracterizado por concentrações de ferro diminuídas em ambos os sexos. O grupo de pacientes do sexo feminino, é constituído por 81,20% de pacientes com deficiência de ferro ( $32,29 \pm 8,79 \mu g/dl$ ), já no sexo

masculino, 64,28% dos pacientes sofrem de carência de ferro ( $25,00 \pm 15,19 \mu\text{g/dl}$ ). Estes dados indicam mais uma vez a prevalência de anemia ferropénica ou anemias de doenças crónicas.

Ao grupo de pacientes com concentração de ferro diminuída foi detectada a concentração de ferritina. No grupo pertencente ao sexo feminino 58,3% dos pacientes apresentaram valores de ferritina diminuídos ( $8,83 \pm 1,34 \mu\text{g/L}$ ) sugerindo a presença de anemia ferropénica (EURO/DPC, 2002), enquanto que 41,7% dos pacientes apresentaram valores de ferritina elevados ( $524,00 \pm 103,76 \mu\text{g/L}$ ), sugerindo a presença de doenças crónicas. Já no sexo masculino com concentração de ferro diminuída, 54,5% dos pacientes apresentaram concentração de ferritina aumentada ( $415,75 \pm 80,39 \mu\text{g/dl}$ ), enquanto enquanto apenas 45,5% apresentaram concentrações de ferritina diminuídas ( $11,50 \pm 3,04 \mu\text{g/dl}$ ), sugerindo anemias ferropénicas (Oliveira et al, 2004).

Com concentrações de ferro normais encontraram-se 9,1% das mulheres, apresentando uma média de  $71,00 \pm 21,21 \mu\text{g/dl}$ , e 28,57% dos homens, apresentando uma média de  $95,33 \pm 17,50 \mu\text{g/dl}$ .

Com concentrações de ferro elevadas encontraram-se 9,1% dos pacientes do sexo feminino ( $163,00 \pm 2,83 \mu\text{g/dl}$ ) e 7,14% dos pacientes do sexo masculino com ( $173,00 \pm 5,66 \mu\text{g/dl}$ ).

Os pacientes com concentrações de ferro normais ou elevadas sugeriram possíveis anemias secundárias, ou doenças medulares.

#### **4.5.2.2. Grupo de pacientes com valores de reticulócitos aumentados**

Neste grupo foram então determinadas as concentrações de bilirrubina indirecta, para auxílio de diagnóstico de anemias hemolíticas ou perdas sanguíneas. Desta maneira 25% dos homens apresentaram concentrações de bilirrubina indirecta dentro dos valores de referência ( $0,5 \text{ mg/dl}$ ) tratando-se de anemias causadas por perdas sanguíneas, enquanto 75% apresentaram valores elevados de bilirrubina

indirecta ( $1,9 \pm 0,79$  mg/dl) demonstrando a presença de anemias hemolíticas. No sexo feminino 50% das pacientes apresentaram concentrações normais ( $0,67 \pm 0,35$  mg/dl) de bilirrubina indirecta e 50% apresentaram concentrações elevadas ( $2,97 \pm 0,61$  mg/dl), remetendo para que metade das mulheres deste grupo apresentassem perdas sanguíneas e a outra metade anemias hemolíticas.

#### **4.5.3. Grupo de pacientes com anemias macrocíticas ( VCM>100fl )**

Este grupo de pacientes constitui 5,1% do total dos pacientes em estudo, dos quais 80% são homens e apenas 20% são mulheres.

Neste grupo 40% dos pacientes apresentaram valores de reticulócitos elevados ( $132,50 \pm 17,68 \times 10^9/L$ ) sugerindo o diagnóstico de anemias hemolíticas. No entanto 60% dos pacientes apresentaram um nível de reticulócitos normal ( $64,67 \pm 12,01 \times 10^9/L$ ) sugerindo o diagnóstico de anemias megaloblásticas, aplásticas ou sideroblásticas. No grupo de pacientes com valores normais de reticulócitos, o RDW apresentou um valor médio de  $18,56 \pm 1,07$  %, sendo este um valor aumentado. Desta maneira os pacientes com percentagem de reticulócitos normal sugerem a presença de anemias megaloblásticas (Oliveira et al, 2004).

#### **4.6. Classificação das anemias diagnosticadas quanto ao subtipo**

Dentro de cada tipo de anemia existem ainda os vários subtipos. Assim obtidos os resultados em relação aos parâmetros bioquímicos necessários ao diagnóstico de cada subtipo presente, obteve-se a classificação da população do Cartaxo.

Foi então desenhada a tabelas 5, contendo os resultados do diagnóstico das anemias presentes na totalidade dos pacientes.

**Tabela 5** : Percentagens de pacientes do sexo feminino para cada tipo de anemia. Classificação geral da população relativamente a cada grupo de anemias.

Subtipos de anemia	Sexo feminino (n=57)		Sexo masculino (n=39)	
	Nº pacientes	% pacientes	Nº pacientes	% pacientes
<i>Ferropénica</i>	34	59,65	15	38,46
<i>Talassémia</i>	10	17,54	6	15,38
<i>Perda sanguínea</i>	3	5,26	1	2,56
<i>Doença crónica</i>	5	8,77	7	17,95
<i>Secundária</i>	2	3,51	4	10,26
<i>Megaloblástica</i>	1	1,75	2	5,13
<i>Hemolítica</i>	2	3,51	3	7,69
<i>Aplástica</i>	0	0,00	1	2,56

A anemia ferropénica é a mais abundante em ambos os sexos, o que é concordante com a literatura, uma vez que esta é a anemia mais frequentemente encontrada ( Bernard et al, 1998).

A talassémia é também um subtipo de anemia muito frequente. Nas mulheres este é o segundo subtipo de anemia mais frequente seguindo a anemia ferropénica. Embora com menos intensidade do que nas mulheres, este é um subtipo de anemia também frequente nos homens. Estes resultados são concordantes com a literatura (Hoffbrand et al, 2000). Este tipo de anemia é muito frequente nos países banhados pelo mar mediterrâneo ([www.geocities.com/amiph2000/talassemia.htm](http://www.geocities.com/amiph2000/talassemia.htm)).

As doenças crónicas são outro motivo fortemente causador de anemia, sendo no caso do sexo masculino o segundo tipo de anemia mais predominante. Nas mulheres é também evidente esta causa de anemia no entanto é mais notável nos homens.

Todos os outros subtipos de anemia são muito raros, acontecendo com muito menos frequência. Alguns subtipos de anemia existentes não se encontram nas

tabelas anteriores pois são muito raras, não tendo sido encontrado nenhum caso que pudesse entrar para a estatística.

#### 4.7. Análise dos resultados relativos a cada subtipo de anemia diagnosticado

Cada subtipo de anemia apresenta diferentes valores para os respectivos dados bioquímicos e hematológicos. Nesta secção faz-se a análise de cada parâmetro em cada grupo de anemias.

##### 4.7.1. Anemias ferropénicas

Este subtipo de anemia está presente num total de 51,04% dos pacientes estudados. Destes, 30,61% são do sexo masculino enquanto 69,39% são do sexo feminino.

**Tabela 6:** Parâmetros estatísticos calculados para os dados hematológicos em pacientes portadores de anemia ferropénica.

	Ret( $\times 10^9/L$ )	Rdw (%)	WBC ( $\times 10^3/\mu L$ )	RBC( $\times 10^6/\mu L$ )	Hct (%)	VCM (fl)	CCMH (g/dl)	HCM (pg)
<i>Média</i>	58,60	17,69	6,34	4,28	31,72	75,53	30,23	22,90
<i>Mediana</i>	41,00	17,15	5,73	4,29	32,50	74,30	30,10	22,30
<i>SD</i>	28,69	2,85	1,86	0,53	4,61	6,94	1,64	3,01

A média do VCM para os diversos pacientes com anemias ferropénicas é inferior a 80 fl, valor mínimo considerado normal, alguns pacientes possuem valor de VCM normal no entanto a média de todos os valores indica que a maioria das anemias ferropénicas são nitidamente microcíticas. O valor da média de HCM dos

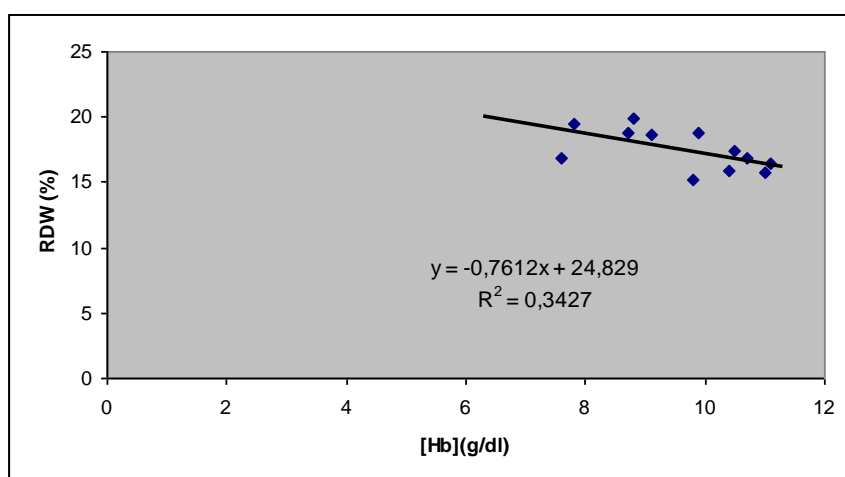
pacientes deste grupo é inferior ao limite mínimo de referência, o que caracteriza este tipo de anemia como maioritariamente hipocrômica.

**Tabela 7:** Parâmetros estatísticos calculados para os dados bioquímicos Fe, Fer, Trf e Hb em pacientes portadores de anemia ferropénica.

	Fe (µg/dl)	Fer (µg/dl)	Trf (mg/dl)	Hb (g/dl)
<i>Média</i>	19,79	6,75	379,00	9,74
<i>Mediana</i>	18,00	7,00	380,00	9,90
<i>SD</i>	7,64	3,48	105,22	1,25

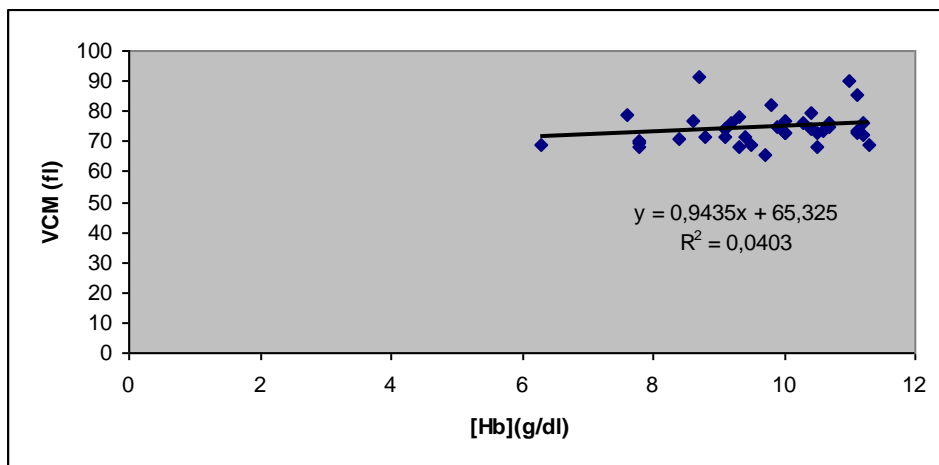
A média da concentração de ferro e ferritina encontra-se muito inferior ao limite mínimo de referencia, e a transferrina apresenta um valor elevado, característico de anemia ferropénica (Olympus, 2006).

A média das concentrações de hemoglobina apresentam um valor muito inferior ao intervalo de referência, designando este tipo de anemia como leve no caso das mulheres e moderada no caso dos homens. Trata-se do subtipo de anemia que apresenta menor concentração de hemoglobina, bem como de ferro e ferritina. Já a transferrina apresenta o valor mais elevado nesta anemia.



**Gráfico 15:** Relação entre o RDW e a concentração de hemoglobina em pacientes com anemia ferropénica

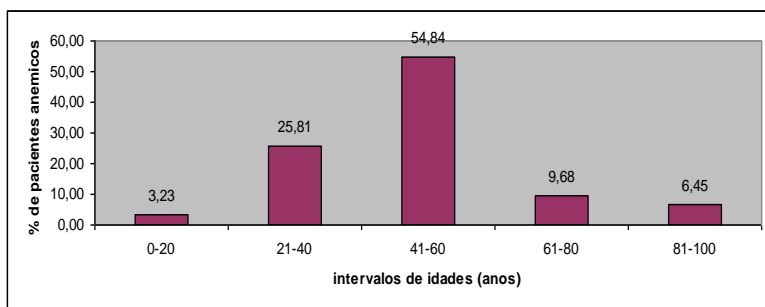
Verifica-se uma correlação negativa entre o RDW e a concentração de hemoglobina em pacientes deste grupo, o que indica que o RDW é tanto maior quanto menor for a concentração de hemoglobina neste grupo de pacientes (Oliveira et al, 2004).



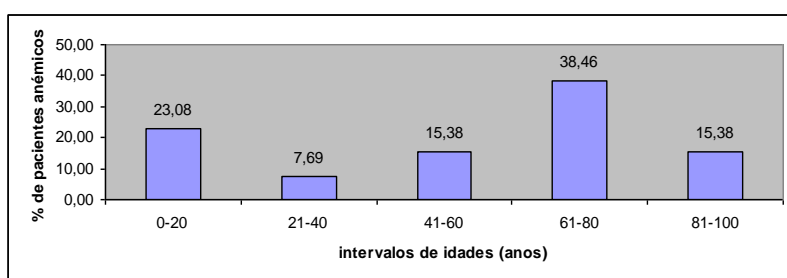
**Gráfico 16:** Relação entre o volume globular médio dos eritrócitos e a concentração de hemoglobina em pacientes com anemia ferropénica

Neste gráfico verifica-se uma correlação positiva entre o volume globular médio dos eritrócitos e a concentração de hemoglobina, o que corresponde ao esperado, indicando que no grupo de pacientes com anemia ferropénica o volume globular médio diminui com a diminuição da concentração da hemoglobina (Oliveira et al, 2004).

#### 4.7.1.1. Incidência de anemia ferropénica em diversos intervalos de idades



**Gráfico 17:** Representação das percentagens de pacientes anémicos do sexo feminino, em cada faixa etária.



**Gráfico 18:** Representação das percentagens de pacientes anémicos do sexo masculino, em cada faixa etária.

Verifica-se que este subtipo de anemia é abundante em todas as faixas etárias, observando-se uma maior incidência no intervalo dos 41 aos 60 anos no sexo feminino e no sexo masculino no intervalo dos 61 aos 80 anos de idade, sendo este o intervalo etário com maior número de pacientes em estudo. Estes resultados são coincidentes com o número total de pacientes em cada faixa etária. Desta forma comprova-se que este subtipo de anemia é igualmente abundante em todas as faixas etárias.

#### 4.7.2. Talassémias

Este subtipo de anemia está presente em 16,7% do total dos pacientes. Deste grupo, 37,5% são do sexo masculino e 62,5% são do sexo feminino.

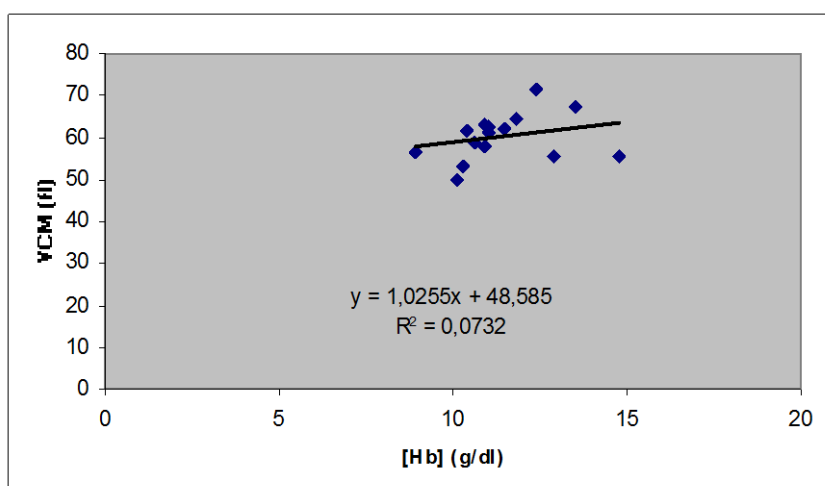
As idades dos pacientes oscilam entre os 2 e os 82 anos de idade, sendo a idade média de  $37 \pm 26$  anos.

**Tabela 8:** Parâmetros estatísticos calculados para os dados hematológicos de pacientes portadores de talassémia.

	Ret ( $\times 10^9/L$ )	Rdw (%)	RBC ( $\times 10^6/\mu L$ )	WBC ( $\times 10^3/\mu L$ )	HCT (%)	VCM (fl)	CCMH (g/dl)	HCM (pg)
<i>Média</i>	121,50	17,2	5,92	6,59	36,27	60,24	32,09	19,33
<i>Mediana</i>	117,00	17,4	5,74	6,13	35,3	61,45	32,20	19,60
<i>SD</i>	40,45	1,40	0,73	1,84	5,11	5,47	0,83	1,76

Neste grupo de pacientes tanto o VCM como o HCM encontram-se muito abaixo do limites mínimos normais (80 fl e 27pg respectivamente), sendo muito mais diminuídos do que nas anemias ferropénicas, o que torna esta anemia acentuadamente microcítica-hipocrômica. O RDW por sua vez encontra-se acima do limite máximo normal, o que é concordante com o diagnóstico de talassémias do tipo  $\beta$  (Oliveira et al, 2004).

A quantidade de eritrócitos encontra-se aumentada relativamente ao limite máximo de referência ( $4,8 \times 10^{12}/L$ ), este resultado é também uma consequência de um quadro talassémico uma vez que este proporciona um aumento na eritropoese, principalmente a ineficaz com excessiva actividade da medula óssea e hematopoese extramedular (Hoffbrand et al, 2000). Os reticulócitos também têm aqui um valor aumentado.



**Gráfico 19:** Representação gráfica da variação do volume corpuscular médio com a variação da concentração de hemoglobina em pacientes com talassémia.

Existe uma correlação positiva entre o volume corpuscular médio e a concentração de hemoglobina nas talassémias, o que indica que há uma diminuição do VCM quando da diminuição da concentração de hemoglobina, no entanto comparando com o que acontece nas anemias ferropénicas, o volume globular diminui muito com uma diminuição menor da hemoglobina. Estes resultados estão de acordo com a literatura (Oliveira et al, 2004).

**Tabela 9:** Parâmetros estatísticos calculados para os dados bioquímicos Fe, Fer, Trf e Hb, bem como para as variantes A<sub>2</sub> e F da hemoglobina total, em pacientes portadores de talassémia.

	HbF (%)	HbA <sub>2</sub> (%)	Hb (g/dl)	Fe (µg/dl)	Fer (µg/dl)	Trf (mg/dl)
<i>Média</i>	0,68	4,99	11,37	123,00	94,40	172,80
<i>Mediana</i>	0,75	4,90	10,95	116,00	90,2	165,00
<i>SD</i>	0,36	0,71	1,44	69,21	44,45	54,60

Neste grupo de pacientes, a média da variante F da hemoglobina pode oscilar para valores acima do limite normal, no entanto, a média dos valores deste parâmetro nos pacientes deste grupo de anemias encontrou-se dentro dos limites considerados normais. A variante A<sub>2</sub> da hemoglobina, no entanto apresenta um valor médio acima do limite considerado normal (3,2%). Estes parâmetros estão de acordo com o diagnóstico de talassémia do tipo β (Almeida, 2007).

A concentração de hemoglobina total, apresenta um valor médio diminuído mas não muito inferior ao limite mínimo de referência. Esta característica é típica em quadros talassémicos, excepto em talassémias-β maior (Oliveira et al, 2004).

Os valores médios do ferro, da ferritina e da transferrina encontram-se dentro dos limites normais, sendo que a concentração de ferro pode oscilar até valores acima do limite normal, e a concentração de transferrina oscilar até valores inferiores ao limite normal, o que também caracteriza um quadro talassémico, (Oliveira et al, 2004). No entanto é a anemia que tem maior concentração de ferro e menor concentração de transferrina.

#### 4.7.3. Anemias de doenças crónicas

Este grupo de pacientes representa 12,5% do total dos pacientes analisados, dos quais 58,3% são pacientes do sexo masculino enquanto apenas 41,7% são do sexo feminino, o que significa que o sexo masculino é mais afectado pela doença.

A idade média dos pacientes é de 68 ± 24 anos, o que indica que é um grupo essencialmente constituído por pacientes de idade elevada.

**Tabela 10:** Parâmetros estatísticos calculados para os dados hematológicos de pacientes portadores de doenças crónicas.

	Ret	Rdw	RBC	WBC	Hct (%)	VCM	CCMH	HCM (pg)
--	-----	-----	-----	-----	---------	-----	------	----------

	(x 10 <sup>9</sup> /L)	(%)	(x10 <sup>6</sup> µl)	(x10 <sup>3</sup> µl)		(fl)	(g/dl)	
<i>Média</i>	60,25	15,00	3,67	7,22	32,53	85,25	31,39	26,74
<i>Mediana</i>	61,00	14,00	3,56	6,37	32,65	85,05	31,15	26,45
<i>SD</i>	12,55	2,00	0,46	3,13	2,19	5,06	1,40	1,61

Todos os dados hematológicos se encontram dentro dos limites de referência excepto a CCMH ( $31,31 \pm 1,39$  g/dl) e a HCM ( $26,69 \pm 1,54$  pg) que se encontram um ligeiramente diminuídas, o que é característico de anemias deste tipo uma vez que estas começam por ser normocitico-normocrómicas mas podem tornar-se nos casos mais arrastados em anemias microcitico-hipocrómicas (Oliveira et al, 2004).

**Tabela 11:** Parâmetros estatísticos calculados para os dados bioquímicos de pacientes portadores de doenças crónicas

	Fe (µg/dl)	Fer (µg/dl)	Trf (mg/dl)	Hb (g/dl)
<i>Média</i>	48,45	413,14	200,75	9,82
<i>Mediana</i>	37,00	433,00	177,5	10,35
<i>SD</i>	34,67	218,99	83,57	1,19

A média da concentração de hemoglobina nos vários pacientes é de  $9,82 \pm 1,19$  mg/dl, sendo portanto uma concentração mais elevada do que a concentração média dos pacientes com anemia ferropénica e perdas sanguíneas e mais baixa do que nas restantes anemias. A média da concentração de ferro para este grupo de pacientes é também mais baixa do que o limite mínimo de referência, no entanto é mais elevado do que nos pacientes com anemia ferropénica e perdas sanguíneas, tal como acontece com o valor médio da concentração de hemoglobina. A média da

concentração de ferritina neste grupo de pacientes é muito superior ao limite máximo, apresentando a concentração maior nesta anemia.

A concentração de transferrina encontra-se dentro dos limites normais, sendo mais elevada do que nas talassémias e inferior às concentrações médias das restantes anemias nas quais este parâmetro foi avaliado.

Estes dados, são segundo a literatura aspectos relevantes no diagnóstico de anemias causadas por doenças crónicas (Moss et al, 2004)

#### 4.7.4. Anemias secundárias

Este grupo de pacientes representa 6,3% do total dos pacientes anémicos, sendo que a idade média dos pacientes é de  $77 \pm 15$  anos. Desta maneira este grupo é então caracterizado por uma população maioritariamente idosa.

É um grupo constituído principalmente por homens, sendo 66,7% dos pacientes do sexo masculino enquanto que apenas 33,3% pertencem ao sexo feminino. Tal como nas anemias de doenças crónicas esta é uma doença que afecta mais os homens do que as mulheres.

**Tabela 12** Parâmetros estatísticos calculados para os dados hematológicos de pacientes portadores de anemias secundárias.

	Ret ( $\times 10^9/L$ )	Rdw (%)	RBC ( $\times 10^6/\mu l$ )	WBC ( $\times 10^3/\mu l$ )	Hct (%)	VCM (fl)	CCMH (g/dl)	HCM (pg)
<i>Média</i>	44,00	14,73	3,72	5,87	34,9	89,24	32,22	28,78
<i>Mediana</i>	47,00	14,50	3,61	5,26	36,2	90,70	32,50	29,50
<i>SD</i>	9,19	1,37	0,52	1,20	2,43	3,35	0,58	1,30

Todos os parâmetros hematológicos se encontram dentro dos limites normais, excepto os reticulócitos, cuja contagem média para os pacientes em estudo, se encontra um pouco abaixo do limite mínimo de referência ( $50 \times 10^9/L$ ).

**Tabela 13:** Parâmetros estatísticos calculados para os dados bioquímicos de pacientes portadores de anemias secundárias.

	Fe ( $\mu\text{g/dl}$ )	Fer ( $\mu\text{g/dl}$ )	Trf ( $\text{mg/dl}$ )	Hb ( $\text{g/dl}$ )
<i>Média</i>	77,40	241,25	228,67	10,66
<i>Mediana</i>	78,00	125,00	238,00	10,70
<i>SD</i>	14,76	245,36	22,50	1,11

O valor médio da concentração de hemoglobina ( $10,66 \pm 1,11$  mg/dl) é mais elevada do que nas anemias ferropénicas, de doenças crónicas e nas perdas sanguíneas. A média da concentração de ferro, encontra-se entre valores normais, sendo também, tal como a hemoglobina, mais elevado do que nas anemias citadas anteriormente. A concentração de ferritina encontra-se entre os valores de referência, sendo mais baixa do que nas anemias de doenças crónicas e hemolíticas e mais elevada do que nas restantes. A concentração de transferrina encontra-se dentro dos valores considerados normais e a média da sua concentração é inferior ao que acontece nas anemias ferropénicas e perdas sanguíneas.

#### **4.7.5. Anemia em mulheres grávidas**

Este grupo representa 10,2% das anemias ferropénicas diagnosticadas e 14,7% das anemias diagnosticadas em pacientes do sexo feminino. As idades das pacientes oscilam entre os 27 e os 44 anos, sendo a média obtida para as idades das pacientes de  $33 \pm 7$  anos.

A média da concentração de hemoglobina nestas pacientes foi de  $10,0 \pm 1,4$  mg/dl, o que é vulgar na gravidez. Isto porque, durante a gravidez o volume plasmático materno aumenta cerca de 50% e a massa eritrocitária apenas aumenta 20% (Guimarães et al, 2007).

Os valores médios para a concentração de ferro e ferritina nestas pacientes foi de  $28,0 \pm 2,6 \mu\text{g/dl}$  e  $9,8 \pm 2,9 \mu\text{g/dl}$  respectivamente. Estes resultados também são comuns nas mulheres grávidas, já que as estas cedem grande quantidade de ferro para o feto (Guimarães et al, 2007).

#### 4.7.6. Anemia Aplástica

Foi encontrado um paciente do sexo masculino, (representando 1,04% dos pacientes em estudo) com 85 anos de idade, o qual representa uma possível anemia aplástica. Este paciente apresenta 95,4 fl de VCM, e HCM de 28,1 pg. A concentração de hemoglobina foi 7,9 g/dl, muito abaixo do intervalo de referência. As plaquetas,  $99 \times 10^9/\text{L}$ , eritrócitos,  $2,50 \times 10^6/\mu\text{l}$  e leucócitos,  $2,98 \times 10^3/\mu\text{l}$  apresentaram valores muito diminuídos. Estas características permitem prever que se trata de uma anemia aplástica, já que todas as linhagens de células se encontram diminuídas, no entanto não foi possível confirmar tal suposição, pois para isso seria necessária uma análise da medula óssea.

#### 4.7.7. Anemias hemolíticas

Representam 5,2% do total da população estudada, sendo 60% do sexo masculino e 40% do sexo feminino. As suas idades variam entre  $81 \pm 10$  anos, o que caracteriza este grupo como extremamente idoso.

**Tabela 14:** Parâmetros estatísticos calculados para os dados hematológicos de pacientes portadores de anemia hemolítica.

	Ret ( $\times 10^9/\text{L}$ )	Rdw (%)	RBC ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )	WBC ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	Hct (%)	VCM (fl)	CCMH (g/dl)	HCM (pg)
<i>Média</i>	115,4	13,87	3,61	10,64	36,1	96,02	32,03	30,78

<i>Mediana</i>	110,00	13,8	3,62	10,33	36,5	97,25	31,90	31,20
<i>SD</i>	28,24	0,90	0,17	4,62	1,44	6,19	0,73	2,17

A contagem de reticulócitos apresenta um valor médio elevado de  $115,4 \pm 28,24 \times 10^9/L$  e a contagem média de leucócitos também aparece ligeiramente elevada  $10,64 \pm 4,62 \times 10^3/\mu L$ , podendo representar sinais infecciosos.

Os restantes parâmetros hematológicos apresentam valores normais, e portanto esta anemia é do tipo normocítica-normocrômica.

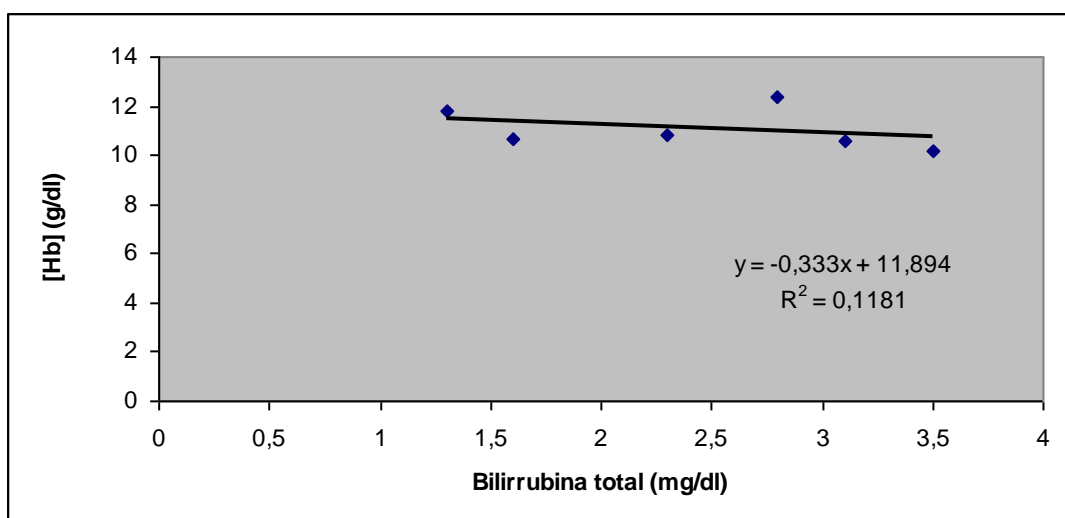
**Tabela 15:** Parâmetros estatísticos calculados para os dados bioquímicos de pacientes portadores de anemia hemolítica.

	Fe ( $\mu g/dl$ )	Fer ( $\mu g/dl$ )	B.total (mg/dl)	Hb (g/dl)
<i>Média</i>	112,33	147,15	2,43	11,08
<i>Mediana</i>	96,00	132,5	2,55	10,75
<i>SD</i>	50,52	134,06	0,86	0,84

A média da concentração de hemoglobina neste grupo de pacientes não se encontra muito abaixo do limite mínimo de referência, sendo inferior ao seu valor nas talassémias e anemias megaloblásticas, e superior ao seu valor nas restantes anemias.

A concentração média de bilirrubina total ou indirecta está de acordo com o diagnóstico de anemia hemolítica segundo a literatura, uma vez que o seu valor médio ( $2,34 \pm 0,86$  mg/dl) se encontra acima do limite máximo considerado normal (Valent et al., 2008).

A concentração de ferro e ferritina também se encontram dentro dos limites normais. Estes parâmetros não mostram portanto uma relação com a anemia hemolítica quando quantificados no soro.



**Gráfico 20:** Variação de concentração de hemoglobina em função da concentração de bilirrubina total no organismo.

Observa-se uma correlação negativa na variação do valor da concentração de hemoglobina em função da concentração de bilirrubina total no organismo o que significa que à medida que decresce a quantidade de hemoglobina aumenta a concentração de bilirrubina indirecta. Estes dados estão de acordo com a literatura, uma vez que a bilirrubina indirecta é sintetizada no fígado a partir da hemoglobina resultante da degradação de eritrócitos senis ( Olympus, 2007).

#### 4.7.8. Perdas sanguíneas

Este grupo é constituído por um total de 4,2% dos pacientes em estudo. Destes 25% são do sexo masculino, enquanto que 75% são do sexo feminino. As idades dos pacientes oscilam entre os 75 e os 88 anos, sendo a idade média de  $80,75 \pm 5,91$  anos, o que representa uma população extremamente idosa neste subtipo de anemia

**Tabela 16:** Parâmetros estatísticos calculados para os dados hematológicos de pacientes portadores de perdas sanguíneas.

	Ret (x10 <sup>9</sup> /L)	Rdw (%)	RBC (x10 <sup>6</sup> µl)	WBC (x10 <sup>3</sup> µl)	Hct (%)	VCM (fl)	CCMH (g/dl)	HCM (pg)
<i>Média</i>	104,60	13,72	3,37	4,39	29,33	92,73	31,35	29,1
<i>Mediana</i>	104,00	13,70	3,35	4,25	29,20	91,7	31,25	28,7
<i>SD</i>	13,05	0,18	0,44	0,89	1,11	3,46	0,64	1,63

Nos dados hematológicos observa-se um aumento de reticulócitos. A média dos valores de CCMH é ligeiramente inferior ao limite mínimo, não se relevando significativo, sendo que os restantes parâmetros se encontram entre os valores normais.

**Tabela 17:** Parâmetros estatísticos calculados para os dados bioquímicos de pacientes portadores de perdas sanguíneas.

	B.total (mg/dl)	Fe (µg/dl)	Fer (µg/dl)	Trf (mg/dl)	Hb (g/dl)
<i>Média</i>	0,63	31,00	67,00	295,67	9,75
<i>Mediana</i>	0,60	30,00	40,6	300,00	9,70
<i>SD</i>	0,30	4,58	74,4	36,69	0,89

A média da concentração de hemoglobina neste grupo de pacientes é de 9,75 ± 0,89 mg/dl, revelando-se próxima dos valores médios para os casos de anemias ferropénicas e inferior à sua concentração nas restantes anemias diagnosticadas.

O valor médio para a concentração de ferro neste grupo de pacientes revela-se um pouco inferior aos limites normais (49 µg/dl nas mulheres e 53 µg/dl nos homens). Têm uma concentração de ferro mais elevada do que as anemias ferropénicas e mais baixa do que nas restantes anemias.

Foi medida a concentração de bilirrubina total, cuja média se encontra entre os valores de referência. Este parâmetro permite então a distinção entre este tipo de anemia e anemias hemolíticas. Os restantes parâmetros bioquímicos encontram-se com valores médios normais, não se mostrando significativos no diagnóstico.

#### 4.7.9. Anemias megaloblásticas

Este grupo de pacientes representa 3,1% da totalidade dos pacientes estudados. Destes 3,03%, 33,3% dos pacientes são do sexo feminino, enquanto que 66,7% são do sexo masculino, verificando-se portanto uma maior predominância desta anemia nos homens, o que é concordante com a literatura (Hoffbrand et al, 2000). A idade média dos pacientes foi  $61 \pm 24$  anos, o que indica a predominância da doença em pacientes idosos.

**Tabela 18:** Parâmetros estatísticos para os dados hematológicos e bioquímicos obtidos para pacientes portadores de anemias megaloblásticas.

	Ret ( $\times 10^9/l$ )	RDW (%)	RBC( $\times 10^6/\mu l$ )	WBC ( $\times 10^3/\mu l$ )	VCM (fl)	CCMH (g/dl)	HCM (pg)	Hb (g/dl)
<i>Média</i>	65,67	18,57	3,09	6,08	111,10	34,43	38,26	11,93
<i>Mediana</i>	54,00	18,00	3,34	6,07	111,10	33,60	37,40	12,30
<i>SD</i>	12,01	1,07	1,09	1,06	1,50	1,80	2,04	4,66

Os pacientes não apresentaram uma descida muito acentuada de hemoglobina, sendo observado num dos casos, uma concentração de hemoglobina dentro dos parâmetros normais. Os eritrócitos apresentam uma ligeira diminuição, enquanto os leucócitos apresentam a sua média dentro dos parâmetros normais.

Estes dados remetem-nos para que as anemias se encontrem no início do seu estado de desenvolvimento (Oliveira et al, 2004).

Verifica-se em 33,3% dos casos uma concentração normal de Vitamina B12 e uma concentração diminuída de ácido fólico, enquanto que em 66,7% dos casos ocorre o inverso.

Observaram-se as lâminas do sangue periférico destes pacientes ao microscópio, onde foram detectados macroovalócitos, confirmando tratar-se de anemias megaloblásticas.

#### **4.7.10. Algumas doenças mieloproliferativas encontradas**

Neste trabalho encontraram-se alguns casos de doenças mieloproliferativas. A leucemia pode ser uma causa de anemia nos pacientes, no entanto foi encontrado um caso de leucemia durante este trabalho que não apresentava sinal de anemia. Foram também encontrados dois caso de poliglobulias. Nestas doenças a anemia também é comum, no entanto neste trabalho não se verificou, uma vez que os pacientes com esta doença apresentaram concentração de hemoglobina elevada.

Estas doenças proliferativas são realçadas neste trabalho, por apresentarem normalmente uma relação com o tema em estudo, no entanto não entraram para a estatística, uma vez que não apresentaram anemia.

##### **4.7.10.1. Leucemias**

Esta doença foi encontrada em apenas um paciente, do sexo feminino, cuja idade corresponde a 77 anos. Para confirmação deste resultado seria necessário uma análise da medula óssea, o que não pôde ser realizado, no entanto a paciente apresentou a característica mais comum das leucemias, isto é , um aumento do numero de leucócitos ( $20 \times 10^9/L$ ), dos quais 67% eram linfócitos. Como este aumento não é muito acentuado, e a maioria dos leucócitos encontrados são linfócitos, pode-se prever que esta seja uma leucemia do tipo linfóide (Moss et al, 2004).

#### 4.7.10.2. Poliglobulias

Este grupo é constituído por uma paciente do sexo feminino e um paciente do sexo masculino. A idade média dos pacientes é de  $55 \pm 11$  anos, o que indica abundância em pacientes pertencentes a uma faixa etária elevada (Moss et al,2004).

**Tabela 19:** Parâmetros estatísticos para os dados hematológicos e bioquímicos obtidos para pacientes portadores de poliglobulias (ou policitemias).

	Ret ( $\times 10^9/l$ )	Rdw (%)	RBC ( $\times 10^6/\mu l$ )	WBC ( $\times 10^3/\mu l$ )	Hct (%)	VCM (fl)	CCMH (g/dl)	HCM (pg)	Hb (g/dl)
<i>Média</i> $\pm$	107,50	24,5 $\pm$ 0,	7,66 $\pm$ 0,	15,85 $\pm$ 0	44,75 $\pm$ 3	61,95 $\pm$ 1	31,4 $\pm$ 0,	19,45 $\pm$ 0	14,9 $\pm$
<i>SD</i>	$\pm$ 7,78	28	17	,74	,61	,06	71	,78	0,28

Verifica-se um aumento acentuado de eritrócitos, bem como um aumento de leucócitos, sendo estes na sua maioria neutrófilos, a média do hematócrito está também aumentada, bem como o RDW. Estes dados são característicos do diagnóstico de poliglobulias (Ernest, 2001).

Verifica-se que apresentam microcitose e hipocromia, sendo o volume corpuscular médio muito diminuído bem como a concentração de hemoglobina corpuscular média.

## 5. Conclusão

- ♦ A população anêmica, é composta majoritariamente por pacientes do sexo feminino, que correspondem a 59,4% do total dos pacientes em estudo. A anemia apresenta então relação com o sexo dos pacientes.
- ♦ Trata-se de uma população relativamente idosa, 42,11% dos pacientes do sexo feminino e 59,25% dos pacientes do sexo masculino têm idades acima dos 61 anos. Assim a anemia relaciona-se com a idade dos pacientes, sendo mais frequente em pacientes idosos.
- ♦ Verificou-se uma correlação ligeiramente negativa entre as concentrações de hemoglobina e as idades dos pacientes, o que indica que a concentração de hemoglobina em pacientes anêmicos possa diminuir com o aumento da idade.
- ♦ A população feminina pode caracterizar-se por levemente anêmicos, já que 53,54% destas apresentaram concentrações de hemoglobina entre 10,0 e 11,9 g/dl.
- ♦ A população masculina é caracterizada por anemia moderada, uma vez que 57,50% dos homens apresentaram concentrações de hemoglobina entre 9,0 e 11,4 g/dl.
- ♦ O tipo de anemia mais frequente, em ambos os sexos, foi a anemia microcítica-hipocrômica, sendo as mais raras, as anemias macrocíticas.
- ♦ Em cada tipo de anemia, foram encontrados vários subtipos. O subtipo encontrado mais frequentemente nesta população, foi a anemia ferropénica, constituindo um total de 49,5% da população.
- ♦ A talassémia, um tipo de anemia evidentemente microcítica e hipocrômica, foi diagnosticada em 16,2% da população em estudo. É o subtipo mais frequente seguindo as anemias ferropénicas, demonstrando uma importância relevante.
- ♦ As doenças crônicas revelaram por sua vez ser uma causa comum de anemia, tendo sido diagnosticadas em 12,1% dos pacientes em estudo.
- ♦ Outros subtipos de anemias foram diagnosticados, como as anemias por perdas sanguíneas, anemias megaloblásticas, anemias secundárias e anemias hemolíticas.

Todos estes subtipos foram diagnosticados numa percentagem muito baixa de pacientes, revelando-se raros.

- ♦ Encontraram-se dois tipos de doenças mieloproliferativas que geralmente são causadoras de anemia, no entanto neste trabalho os pacientes portadores destas não apresentavam anemia e por isso não entraram na estatística, e foram apenas realçadas por apresentarem uma relação directa com o tema em estudo.

- ♦ A concentração de hemoglobina mais baixa ocorreu na anemia ferropénica, enquanto a mais elevada ocorreu na anemia megaloblástica.

- ♦ As concentrações mais baixas de ferro foram encontradas na anemia ferropénica, enquanto as concentrações mais elevadas observaram-se nas talassémias.

- ♦ As concentrações mais baixas de ferritina encontraram-se nas anemias ferropénicas, e a mais elevada caracterizou as anemias causadas por doenças crónicas.

- ♦ A transferrina teve o seu valor mais elevado na anemia ferropénica, contrariando o que aconteceu com o ferro e a ferritina.

- ♦ A população revela possíveis hábitos alimentares deficientes, com carência de ferro.

- ♦ Os parâmetros bioquímicos, foram uma fonte fundamental para o diagnóstico dos subtipos de anemias.

- ♦ A bioquímica revelou uma importância elevada na medicina, sendo que sem a sua preciosa ajuda não seria possível detectar a doença, implicando assim a impossibilidade de tratamento.

- ♦ Este estudo esteve de acordo com investigações anteriores realizadas por outros investigadores, confirmando os resultados obtidos por estes. Desta forma pode juntar-se a estes revelando grande importância a nível estatístico.

## 6. Bibliografia

- ♦ Antunes, Henedina, et al ; Anemia por deficiência de ferro no lactente; Acta Med Port 2005;18; 261-266.
- ♦ Bento, Celeste; Hemoglobinopatias- Estratégia de diagnóstico e rastreio,; Actualidades da SPH, 2007, 33.
- ♦ Barbosa, Diana L. et al ; Prevalência e caracterização da anemia em idosos do programa de saúde da família; 2006;
- ♦ Bernard, J. et al ;Hématologie; 9ª edição; Masson; 1979;
- ♦ Castro, Manuel Carlos M; Diagnóstico da deficiência de ferro; J Brás Nefrol 2000; 22 (Supl 5): 15-6 ;
- ♦ Ernest; Polycythemia; Williams Hematology, 6ª edition, 2001; 61;689
- ♦ Gaw, Allan, et al ; Biochimie clinique; Elsevier; 2004 Septembre
- ♦ Gualandro, Sandra FM; Diagnóstico diferencial de anemias; J Brás Nefrol 2000; 22 (Supl 5): 7-10 ;
- ♦ Galanello, Renzo; Les thalassémies et l'hémoglobine A<sub>2</sub>, Spectra biologie, 2007,nº 162, 47.
- ♦ Giordano, P.C., et al; Estimating the attitude of immigrants toward primary prevention of the hemoglobinopathies. Prenatal diagnosis; 2005.
- ♦ Guimarães, Mariana, et al; Doenças hematológicas na grávida; 2007.
- ♦ Hoffbrand; A. Victor, et al; Atlas colorido de hematologia clinica; 3ª edição; Manole; 2000;
- ♦ Lang, Florian, et al; Color Atlas of Pathophysiology; 2000; Thieme;
- ♦ Levy, C., et al; Anaemia in the elderly: multiple etiological categories; Immuno-analyse et biologiespecialisée 22, 2007, 215-221.
- ♦ Moss, P.A.H., et al; Fundamentos em hematologia; 4ª Edição; Artmed Editora, 2004;

♦ Neto, Miguel Cendoroglo; Inflamação e eritropoietina; J Brás Nefrol 2000; 22 (Supl 5): 35;

♦ Oliveira, Raimundo António Gomes; Neto, Adelino Poli; Anemias e leucemias, Conceitos básicos e diagnóstico por técnicas laboratoriais; 1ª edição; Roca; 2004;

♦ Roche diagnostics, Anaemia testing , folheto informativo, 2004.

♦ Roche diagnostics, Anemia, questions and answers, 2004.

♦ Silva, Henrique; Diagnóstico laboratorial de leucemias (Apontamentos coligidos), 2007.

♦ Vanbelle,Simon; What is a value of hemoglobin as a prognostic and predictive factor in câncer?; EJC supplements, vol 2, nº 2, 2004; 11-19.

♦ Vendt, Neve, et al;Prevalence and causes of iron deficiency anemias in infants aged 9 to 12 months in Estónia; Medicina (Kaunas) 2007; 43(12);

;