



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
EGAS MONIZ**

**MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS**

**MECANISMOS, DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E  
TRATAMENTO DA ANEMIA MACROCÍTICA**

Trabalho submetido por  
**Maria Teresa Pereira Gonçalves**  
para a obtenção do grau de Mestre em Análises Clínicas

**Janeiro de 2018**



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
EGAS MONIZ**

**MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS**

**MECANISMOS, DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E  
TRATAMENTO DA ANEMIA MACROCÍTICA**

Trabalho submetido por  
**Maria Teresa Pereira Gonçalves**  
para a obtenção do grau de **Mestre** em Análises Clínicas

Trabalho orientado por  
**Mestre Teresa Nascimento**

e coorientado por  
**Doutora Manuela Caniça**

**Janeiro de 2018**

## **Agradecimentos**

Durante a realização desta monografia, foi fundamental o apoio e carinho incondicional transmitido pelos meus pais (Armando Gonçalves e M<sup>a</sup> José Gonçalves) e pelo meu irmão (Miguel Gonçalves), sem os quais não me seria possível realizar o Mestrado em Análises Clínicas.

Agradeço também ao meu namorado (Bruno Costa), por me ouvir incansavelmente, pelo apoio e carinho nos momentos mais difíceis, não só durante a realização deste trabalho, mas também durante todo o meu percurso académico.

Agradeço, aos meus amigos de longa data (Pedro Colaço, Gonçalo Curado, Salomé Alves, Margarida Pereira) por todos os conselhos e apoio, nomeadamente, ao Hugo Ribeiro que me ajudou com alguma da formatação do trabalho, à Marta Amorim que acompanhou e me apoiou desde sempre.

Por todo o conhecimento transmitido, agradeço à Mestre Teresa Nascimento e à Doutora Manuela Caniça, na condição de Orientadora e Co-orientadora, respetivamente.

## **Resumo**

A anemia é um problema de saúde mundial que afeta tanto países desenvolvidos como em desenvolvimento. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que dois bilhões de pessoas no mundo apresentem anemia, dos quais, cerca de 50% dos casos se devem à anemia considerada como a mais prevalente: anemia por carência nutricional de ferro.

A anemia caracteriza-se pela diminuição do nível de hemoglobina, que conduz ao compromisso da oxigenação dos tecidos. Pode ser classificada como macrocítica, normocítica ou microcítica, consoante o volume globular médio dos eritrócitos (VGM). As anemias macrocíticas podem ser diferenciadas em megaloblásticas e não megaloblásticas, sendo que as causas subjacentes à anemia divergem em cada categoria.

As anemias macrocíticas apresentam um VGM > 100 fL e têm como principal etiologia, deficiências nutricionais, nomeadamente, em vitamina B12 e/ou ácido fólico (vitamina B9), a ingestão de álcool ou de determinados fármacos, hipotireoidismo, reticulocitose ou distúrbios primários na medula óssea (p. ex., síndromes mielodisplásicas ou anemia aplásica). A determinação da causa subjacente à anemia, é essencial para o estabelecimento da terapêutica mais adequada.

O diagnóstico da anemia macrocítica assenta, essencialmente, na realização do hemograma e, se necessário, na biópsia ou aspiração medular, assim como, na observação microscópica do esfregaço de sangue periférico. Para determinar a sua etiologia e a terapêutica adequada, é necessária a obtenção de parâmetros adicionais como o doseamento da vitamina B12, ácido fólico sérico e/ou intraeritrocitário, contagem reticulocitária, entre outros.

**Palavras-chave:** Anemia; Macrocitose; Vitamina B12, Ácido Fólico.

## **Abstract**

Anemia is a global health problem that affects both developed and developing countries. The World Health Organization (WHO) estimated that two billion people worldwide present anemia, in which about 50% of cases are due to the most prevalent anemia: anemia from nutritional iron deficiency.

Anemia is characterized by the decreased of hemoglobin, which leads to impaired oxygen delivery to tissues. It can be classified as macrocytic, normocytic or microcytic, depending on the mean cell volume (VGM). Macrocytic anemia can be differentiated into megaloblastic and non-megaloblastic anemia, with the underlying causes varying in each category.

Macrocytic anemia is characterized by an VGM greater than 100 fL, and has as main etiology: deficiency of vitamin B12 and / or folic acid (vitamin B9), ingestion of alcohol or certain drugs, hypothyroidism, reticulocytosis, or primary disorders in the bone marrow (such as myelodysplastic syndromes or aplastic anemia). The determination of the underlying cause of anemia it's essential to establish the most appropriate therapy.

The diagnosis of macrocytic anemia is based essentially on the completion of the blood count and, if necessary biopsy or aspirate of bone marrow or the microscopic observation of the peripheral blood smear. To determine it's etiology and the appropriate treatment is necessary to obtain additional parameters such as vitamin B12, serum and intra-erythrocytic folic acid, reticulocyte count, among others.

**Keywords:** Anemia, Macrositosis, Vitamin B12, Folic Acid.

# Índice Geral

<b>Agradecimentos</b> .....	<b>1</b>
<b>Resumo</b> .....	<b>2</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>2</b>
<b>Índice de Figuras</b> .....	<b>6</b>
<b>Índice de Tabelas</b> .....	<b>7</b>
<b>Lista de Abreviaturas</b> .....	<b>8</b>
<b>1. Introdução</b> .....	<b>1</b>
1.1 Caraterização da Hematopoiese.....	1
1.2 Caraterização da Anemia.....	4
<b>2. Classificação das Anemias</b> .....	<b>7</b>
2.1 Classificação Fisiopatológica .....	7
2.2 Classificação Morfológica .....	8
<b>3. Caraterização e Classificação das Anemias Macroscíticas</b> .....	<b>11</b>
3.1 Anemia Megaloblástica .....	13
3.2 Anemia Não-Megaloblástica .....	15
<b>4. Sintomatologia e Manifestações Clínicas</b> .....	<b>15</b>
<b>5. Etiologia da Anemia Macroscítica</b> .....	<b>17</b>
5.1 Carência de Vitamina B12.....	17
5.1.1 Metabolismo e Transporte.....	18
5.1.2 Causas da Carência .....	20
5.1.3 Manifestações Clínicas.....	26
5.2 Carência de Folatos .....	27
5.2.1 Metabolismo e Transporte.....	28
5.2.2 Causas da Carência .....	30
5.2.3 Manifestações Clínicas.....	32
5.3 Ingestão Continuada de Álcool e Doença Hepática .....	32
5.4 Fármacos.....	33
5.5 Hipotireoidismo.....	35
5.6 Reticulocitose .....	36
5.6.1 Anemia Hemolítica .....	36
5.6.2 Hemorragia Aguda.....	39

5.7 Síndromes Mielodisplásicas (SMD).....	39
5.8 Anemia Aplásica.....	40
<b>6. Macrocitose com Ausência de Anemia .....</b>	<b>42</b>
<b>7. Diagnóstico Laboratorial da Anemia Macrofítica .....</b>	<b>42</b>
7.1 Parâmetros Realizados.....	43
7.2 Esfregaço Sanguíneo e Morfologia Eritrocitária .....	47
7.3 Biópsia e Aspiração Medular .....	48
<b>8. Terapêutica da Anemia Macrofítica.....</b>	<b>48</b>
<b>9. Conclusão e Perspetivas Futuras .....</b>	<b>50</b>
<b>10. Referências Bibliográficas .....</b>	<b>52</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>1</b>

## Índice de Figuras

Figura 1 - Esquema da eritropoiese (adaptado de Dzierzak & Philipsen, 2013).....	3
Figura 2 - Representação da síntese das diversas hemoglobinas durante o desenvolvimento individuo (adaptado de Manning et al., 2007). .....	6
Figura 3 - Representação da equação matemática para o cálculo do volume globular médio (VGM) dos eritrócitos. Hct = hematócrito; Ert = eritrócitos.....	8
Figura 4 - Representação da equação matemática para o cálculo da hemoglobina globular média (HGM). Hg = hemoglobina; Ert = eritrócitos.....	10
Figura 5 - Representação da equação matemática para o cálculo da concentração de hemoglobina globular média (CHGM). Hg = hemoglobina; Hct = hematócrito. ..	11
Figura 6 - Reações químicas dependentes de cobalamina. (Adaptado de Brescoll & Daveluy, 2014). .....	18
Figura 7 - Representação do metabolismo da Vitamina B12. (Adaptado de Andrès et al., 2004).....	20
Figura 8 - Neutrófilo hipersegmentado. ....	26
Figura 9 - Representação do metabolismo do folato e da sua intervenção no ciclo da metionina e na síntese de DNA (adaptado de Green, 2017). AHCY hidrolase= Adenosil-homocisteína hidrolase; DHFR= Dihidrofolato redutase; MS= Metionina sintetase; MTHFR= Metilenotetrahidrofolato redutase; SHMT= Serina hidroximetiltransferase; TS= Timidilato. sintetase .....	29
Figura 10 - Diagrama no diagnóstico laboratorial da anemia macrocítica. AH = anemia hemolítica, LDH = lactato desidrogenase, TAD = teste de antiglobulina.....	46

## **Índice de Tabelas**

Tabela 1 - Classificação morfológica das anemias.....	11
Tabela 2 - Representação de algumas das etiologias da macrocitose.....	13
Tabela 3 - Representação de algumas das etiologias da anemia megaloblástica. ....	14
Tabela 4 - Classificação das anemias aplásicas e etiologias associadas. AA= Anemia aplásica. ....	41

## **Lista de Abreviaturas**

**5-MTHF** 5-metil-tetrahidrofolato

**AA** Anemia Aplásica

**ACP** Anticorpos anti-células parietais

**AH** Anemia Hemolítica

**AHAI** Anemia Hemolítica Autoimune

**AP** Anemia Perniciosa

**CHGM** Concentração de hemoglobina globular média

**Cbl** Cobalamina

**DTN** Defeitos do Tubo Neural

**EDTA** Ácido etilenodiaminotetracético, anticoagulante para hematologia

**Ert** Eritrócitos, contagem de eritrócitos

**Epo** Eritropoetina

**ES** Esfregaço Sanguíneo

**FI** Fator Intrínseco de Castle

**G6PD** Glicose-6-fosfato desidrogenase

**Hb** Hemoglobina

**HC** Haptocorrinas

**HCl** Ácido Clorídrico

**Hct** Hematócrito

**HGM** Hemoglobina globular média

**HIV** Vírus da Imunodeficiência Humana

**HSC** *Stem-cell* hematopoiética

**LDH** Lactato Desidrogenase

**MM** Mieloma Múltiplo

**MMA** Ácido Metilmalónico

**MO** Medula Óssea

**OMS** Organização Mundial de Saúde

**RDW** Red Cell Distribution Width, índice de dispersão eritrocitária

**SMD** Síndrome Mielodisplásico

**SP** Sangue periférico

**TAD** Teste de Antiglobulina Direto

**THF** Tetrahydrofolato

**VGM** Volume globular médio

**VPM** Volume Plaquetar Médio



## 1. Introdução

### 1.1 Caracterização da Hematopoiese

Para a compreensão da anemia, é necessária uma breve introdução ao ciclo do eritrócito e ao mecanismo de formação e maturação celular compreendido na hematopoiese.

A hematopoiese consiste no processo contínuo de diferenciação e proliferação celular que decorre maioritariamente na medula óssea (MO), a partir de uma célula indiferenciada designada de *stem-cell*. Devido à sua capacidade de autorrenovação e pluripotência, a *stem-cell* pode dar origem a qualquer uma das linhagens celulares (mielóide ou linfóide) representantes dos elementos figurados do sangue (eritrócitos, leucócitos e plaquetas).

Após o nascimento do indivíduo, a hematopoiese é realizada quase exclusivamente na MO, no entanto, no desenvolvimento do embrião a hematopoiese tem início no saco vitelino, passando depois para o fígado e, de seguida, no baço. É entre o quarto a quinto mês de gestação que a hematopoiese medular tem início, e que se mantém durante a vida adulta, resultando na gradual inibição da hematopoiese nos restantes órgãos (Tavian, Biasch, Sinka, Vallet, & Péault, 2010; Burtis, Edward, & Bruns, 2008).

A MO é subdividida com base na sua composição, em medula óssea vermelha e amarela. A medula vermelha corresponde à medula funcionante, composta pelo componente hematopoético. Até cerca dos seis anos de idade a MO é toda funcionante, a partir daí, começa a ser progressivamente substituída por células adiposas, células endoteliais, fibroblastos e fibras que constituem o estroma referente à medula amarela, não funcionante. Esta substituição leva à restrição da hematopoiese medular à zona das vértebras, costelas, esterno, crânio, sacro, pélvis e nas extremidades metafisária e epifisária dos ossos longos (fémur, tibia e úmero) onde o osso é esponjoso (Panchbhavi, 2015).

Durante o mecanismo da hematopoiese, a *stem-cell*, sob a estimulação de fatores de crescimento, começa o processo de diferenciação para formar os elementos figurados do sangue. Consoante os fatores de crescimento presentes, a *stem-cell* irá diferenciar-se na linhagem mielóide ou linfóide (Longo, Fauci, Kasper, Hauser, Jameson & Loscalzo, 2013).

Tendo em conta o tema desta monografia, a abordagem sobre a hematopoiese irá incidir sobre a linhagem mieloide, mais concretamente, na eritropoiese e no eritrócito (figura 1).

A eritropoiese consiste na formação de eritrócitos maduros a partir de *stem-cells* hematopoiéticas (HSC), que por estimulação com eritropoietina (EPO), iniciam o processo de diferenciação e maturação até ao eritrócito maduro. A EPO é uma hormona glicoproteica produzida maioritariamente nos rins (90%). Embora reduzida, no fígado também existe produção de EPO pelos hepatócitos. A produção de EPO está inversamente correlacionada com a oxigenação dos tecidos. Quando há uma diminuição no oxigénio tecidual disponível, quer seja por diminuição do número de eritrócitos (Ert), diminuição da concentração de hemoglobina ou deficiências na ligação da hemoglobina ao oxigénio, há um aumento na produção de EPO e consequente aumento do número de eritrócitos (Longo *et al.*, 2013).

O funcionamento normal da eritropoiese permite uma taxa de reposição diária dos eritrócitos circulantes do sangue periférico, de cerca de 0,8-1% (Longo *et al.*, 2013).

O primeiro precursor eritróide, presente na MO é o pró-eritroblasto, que ao sofrer divisões celulares dá origem a eritroblastos basófilos, eritroblastos policromatófilos, eritroblastos ortocromatófilos, reticulócitos e eritrócitos maduros. À medida que a diferenciação e maturação eritrocitária decorre, é possível a observação de:

- Diminuição da basofilia celular, devido ao aumento da concentração de hemoglobina na célula e diminuição do conteúdo de RNA;
- Diminuição da relação núcleo/citoplasma;
- Diminuição do tamanho celular;
- Aumento da condensação da cromatina nuclear;
- Extrusão nuclear (no eritroblasto ortocromatófilo).

O pró-eritroblasto é o precursor eritróide de maiores dimensões, com um citoplasma de basofilia marcada, núcleo a ocupar grande parte da célula, com cromatina laxa e presença de nucléolos. Após divisão celular, surge o eritroblasto basófilo, com um

tamanho celular mais reduzido, com citoplasma ligeiramente menos basófilo, embora com uma relação núcleo/citoplasma ainda elevada, cromatina mais condensada e sem presença de nucléolos. Após nova divisão celular, forma-se o eritroblasto policromatófilo, que se caracteriza pela coloração do citoplasma de cor cinzento-arroxeadado, devido ao início da passagem do citoplasma de basófilo a acidófilo, que ganha afinidade com ambos os corantes eosina e azul-de-metileno. O eritroblasto policromatófilo apresenta, ainda, dimensões mais reduzidas, cromatina mais condensada e uma relação núcleo/citoplasma, menor. A partir deste estágio, não há mais divisões celulares apenas processos de maturação eritrocitária e de formação de hemoglobina (Hb). Após 24h, o eritroblasto policromatófilo diferencia-se em eritroblasto ortocromático, já com citoplasma totalmente acidófilo, com núcleo mais reduzido e cromatina mais condensada. Passadas cerca de 12h, ocorre extrusão nuclear convertendo o eritroblasto ortocromático em reticulócito, uma célula anucleada e ainda com fragmentos de RNA citoplasmático, que é libertado para o sangue periférico por 24h. Durante as 24h, o reticulócito matura em eritrócito (Failace & Fernandes, 2015; Longo *et al.*, 2013).

O eritrócito maduro consiste numa célula com forma de disco bicôncavo, anucleado, sem presença de organelos e com conteúdo de hemoglobina, possuindo uma membrana plasmática que lhe confere a flexibilidade necessária para a passagem em vasos sanguíneos de menor calibre.

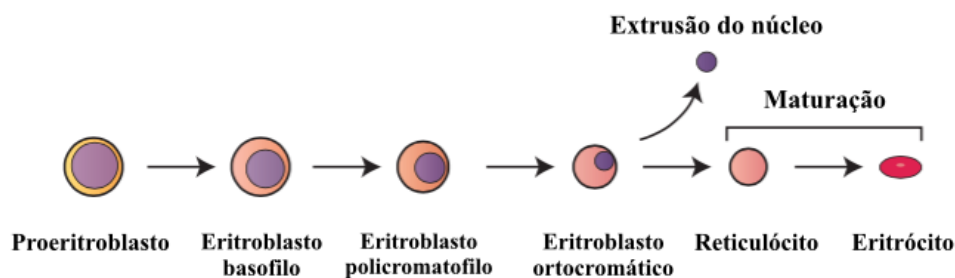


Figura 1 - Esquema da eritropoiese (adaptado de Dzierzak & Philipsen, 2013).

No esfregaço sanguíneo, na área de distensão, formam uma única camada, corada de tom rosado com a área central descorada, que representa cerca de um terço da célula. O eritrócito permanece na corrente sanguínea por cerca de 120 dias até ser destruído,

maioritariamente, no baço. A sua membrana plasmática é composta por uma bicamada fosfolipídica, proteínas (como espectrina, actina, anquirina e proteína 4.1), enzimas e antígenos de superfície.

Defeitos que afetem as proteínas presentes na membrana plasmática conduzem à alteração na forma do eritrócito, visíveis em casos de esferocitose hereditária e eliptose. Alterações na forma do eritrócito podem resultar igualmente de defeitos no citoesqueleto, polimerização, cristalização ou da precipitação de hemoglobina. O eritrócito maduro apresenta em média 7,6 µm de diâmetro e 2 µm de espessura celular, no entanto, estas medidas correspondem a eritrócitos de indivíduos adultos, sendo que nos eritrócitos fetais ou de neonatos, as medidas diferem (Bain, 2016; Failace & Fernandes, 2015).

Com o passar dos dias, os eritrócitos tendem a perder a sua flexibilidade membranar e a sofrer alterações na superfície da membrana, como desintegração da estrutura proteica, e na manutenção da integridade celular. Estas alterações, causadas pela senescência dos eritrócitos, leva ao seu processo de destruição (hemocaterese), no qual, os eritrócitos são retirados da circulação e ocorre fagocitose e degradação dos eritrócitos pelos macrófagos presentes, maioritariamente, no baço (Mcpherson & Pincus, 2011).

## **1.2 Caracterização da Anemia**

Define-se anemia como a diminuição da hemoglobina, para concentrações abaixo do limite inferior do intervalo de referência, que varia consoante o género, faixa etária, etnia e altitude. Pode estar associada uma redução no número de eritrócitos e no hematócrito (Hct), embora seja a concentração de hemoglobina que define a existência de anemia no indivíduo. Tanto a hemoglobina como o hematócrito, sofrem influência pelas variações do volume plasmático que quando aumentado, gera um efeito de hemodiluição, apresentando valores falsamente baixos de hemoglobina e Hct, como acontece em caso de gravidez (Kujovich, 2016).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a anemia apresenta uma prevalência a nível mundial de cerca de 24,8%, estimando que em Portugal seria de aproximadamente 15%, no entanto, um estudo mais recente realizado pela Anemia Working Group Portugal, demonstrou que a prevalência da anemia em Portugal é de 19,9%, superior à estimada pela OMS. Segundo o estudo desenvolvido pela Anemia

Working Group, 84% dos indivíduos com anemia não tinham sido diagnosticados anteriormente. Através do mesmo estudo foi possível concluir que a anemia é mais prevalente no sexo feminino (20,8%), idosos (21%), grávidas (54,2%) e adultos jovens com idades compreendidas entre os 18 aos 34 anos (22,8-30,5%) (Benoist, McLean & Cogswell, 2008; Fonseca et al., 2016).

A diminuição severa da concentração de Hb pode levar ao compromisso das necessidades determinadas pela concentração de oxigénio nos tecidos (os valores de referência da hemoglobina encontram-se no anexo I).

Para muitas abordagens práticas, uma diminuição do hematócrito é considerada equivalente a uma diminuição da concentração de hemoglobina, mas esta simplificação nem sempre é correta, dado que há casos com contagem de eritrócitos normal, mas que apresentam anemia devido ao baixo teor de hemoglobina ou por presença de hemoglobina não funcional (Failace & Fernandes, 2015).

A hemoglobina é uma molécula tetramérica, composta por dois pares distintos de globinas e um grupo heme, formado por um átomo de ferro (no estado ferroso) e uma protoporfirina. Durante o seu percurso no organismo, a Hb pode encontrar-se em duas conformações distintas consoante o seu estado de oxigenação. Quando não apresenta ligação com o oxigénio, está na conformação de desoxihemoglobina, quando a molécula está oxigenada designa-se como oxihemoglobina. Na forma oxigenada dos indivíduos adultos há ligação do oxigénio às globinas alfa, que provocam a alteração da conformação molecular, de forma a garantir que as moléculas de oxigénio consigam acesso às globinas beta, a fim de estabelecer ligação. Cada cadeia de globina forma ligação com uma molécula de oxigénio, como tal, cada molécula de hemoglobina tem a capacidade de transportar quatro moléculas de oxigénio (Longo *et al.*, 2013).

O tipo de globinas presente na molécula de Hb, varia consoante a idade do indivíduo, sendo que, no adulto existem três tipos de hemoglobinas distintas (figura 2): Hb A, que é mais abundante (97%), constituída por duas cadeias polipeptídicas alfa e duas cadeias beta; Hb A2 (2,5%), composta por duas cadeias polipeptídicas alfa e duas cadeias delta; por fim, apresenta também Hb F em percentagem geralmente reduzida (0,8-2%), constituída por um par de globinas alfa e um par de globinas gama (Williamson & Snyder, 2016).

A anemia, por si só, não é considerada como uma patologia, mas como uma síndrome resultante de uma causa subjacente, sendo essa a verdadeira patologia presente no indivíduo. A determinação da etiologia da anemia condiciona o tratamento subsequente e a sua eficácia.

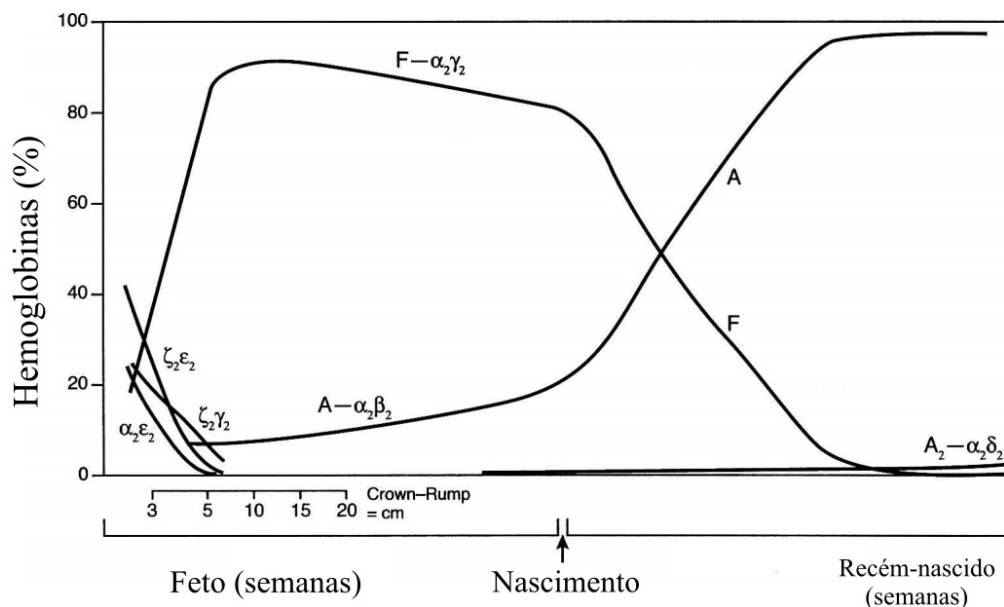


Figura 2 - Representação da síntese das diversas hemoglobinas durante o desenvolvimento indivíduo (adaptado de Manning et al., 2007).

As causas que podem conduzir à manifestação de anemia, variam entre hemorragias, aumento da destruição de eritrócitos e diminuição da produção dos eritrócitos. Cada uma destas causas inclui diversos distúrbios como hemoglobinopatias, deficiências nutricionais (especialmente de ferro, vitamina B12 ou folatos), doença hepática, neoplasias, infecções bacterianas e parasitêmias, como a malária (Maakaron, 2016).

O diagnóstico da anemia assenta na determinação do hemograma, na microscopia do esfregaço sanguíneo e na contagem de reticulócitos, sendo que em determinados casos pode ser necessário a realização de uma biópsia ou aspirado de medula óssea (Powell & Achebe, 2016).

Quando a história clínica, a análise do hemograma, esfregaço sanguíneo e a contagem de reticulócitos, não são suficientes para o esclarecimento da etiologia da anemia, torna-se necessário a realização de outros exames como o doseamento de ferritina ou ferro sérico, doseamento de vitamina B12 total e/ou dos seus metabolitos e folato sérico ou intraeritrocitário, marcadores séricos para a deteção da presença/ausência de hemólise

(p. ex., LDH, bilirrubina), testes de função hepática, renal, tiroide e se necessário, a aspiração e biópsia medular.

## 2. Classificação das Anemias

Atualmente são utilizadas, maioritariamente, duas classificações para diferenciar as anemias existentes, a classificação fisiopatológica e a classificação morfológica, sendo a primeira a mais adotada pelos clínicos e a segunda pelos laboratórios de análises clínicas.

### 2.1 Classificação Fisiopatológica

A classificação fisiopatológica engloba os mecanismos patológicos responsáveis pela anemia, quer seja por diminuição a nível da produção celular ou por aumento da destruição dos eritrócitos, dividindo as anemias em arregenerativas e regenerativas.

Relativamente à diminuição da produção celular, estão associados problemas que podem ocorrer nas etapas prévias à chegada dos eritrócitos ao sangue periférico, entre as quais (Failace & Fernandes, 2015):

- Produção insuficiente de eritropoetina (EPO) - como problemas renais, que levariam à diminuição da hormona, conduzindo a uma hipostimulação da medula óssea (MO) e conseqüente diminuição da produção de toda a linhagem eritrocitária.
- Anomalias na atividade medular – devido, por exemplo, a infeções virais ou por presença de tumor. A atividade da MO deixaria de ser eficaz, com diminuição do número de *stem-cells* ou com produção de células defeituosas, levando à insuficiência da proliferação eritróide e maturação das células precursoras.
- Alteração da síntese de DNA – comprometeria a produção e desenvolvimento celular, não apenas da série vermelha, mas também, da série branca (p. ex., devido a carências de vitamina B12 ou ácido fólico).
- Alteração da síntese de hemoglobina (Hb) – origina hemoglobina defeituosa, tornando inúteis os eritrócitos, por maior que seja o seu número, uma vez que, as necessidades de oxigénio para os tecidos não são cumpridas devido à produção de hemoglobina não-funcional.

O aumento da destruição e conseqüente diminuição da vida média eritrocitária, pode resultar de infecções virais ou bacterianas, problemas no sistema imunitário através do sequestro pelo sistema mononuclear fagocitário, hemorragias e anemias hemolíticas (Failace & Fernandes, 2015).

Em caso de anemias por aumento de destruição dos eritrócitos, tanto a MO como os rins irão aumentar a sua atividade, a fim de criar um mecanismo de compensação contra a diminuição do número de Ert, levando à produção e conseqüente liberação de células eritrocitárias imaturas (reticulócitos) para o sangue periférico, geralmente superior a 3%, denominando as anemias como regenerativas. Na situação de déficit de produção celular, os mecanismos de compensação não existem ou não são eficazes, pelo que não existe reticulocitose e as anemias são consideradas arregenerativas (Failace & Fernandes, 2015).

A contagem reticulocitária é fundamental para a diferenciação das anemias nesta classificação, uma vez que traduz a atividade medular e a presença/ausência de uma resposta compensatória perante a anemia (Failace & Fernandes, 2015).

## **2.2 Classificação Morfológica**

A classificação morfológica das anemias baseia-se em três índices eritrocitários (VGM, HGM, CHGM) e na observação direta dos GV no esfregaço sanguíneo, permitindo classificar as anemias de acordo com o volume e a concentração de Hb presente nos eritrócitos (Failace & Fernandes, 2015).

O volume globular médio (VGM) é um índice eritrocitário expresso em femtolitros (fL), foi criado e difundido por Maxwell Wintrobe ao desenvolver o hematócrito em 1934, calculado de forma automática atualmente pelo equipamento de hematologia durante a realização do hemograma, através da seguinte fórmula na figura 3 (Failace & Fernandes, 2015):

$$\text{VGM (fL)} = \frac{\text{Hct (L/L)}}{\text{Ert} (\times 10^{12} \text{L})}$$

Figura 3 - Representação da equação matemática para o cálculo do volume globular médio (VGM) dos eritrócitos. Hct = hematócrito; Ert = eritrócitos.

O diâmetro, a espessura média e o volume dos Ert são iguais em ambos os sexos, embora na infância exista alguma variação comparativamente à idade adulta.

O VGM permite inferir quanto ao volume médio dos eritrócitos, tem como valor de referência (de acordo com a norma da Direção Geral de Saúde nº 063/2011) o intervalo de 80-97 fL. Acima do limite superior considera-se que o indivíduo apresente macrocitose (embora usualmente só seja considerado acima dos 100 fL, como mencionado anteriormente). Abaixo do limite inferior do intervalo acima referido, considera-se que os eritrócitos são microcíticos e quando o VGM atinge valores dentro do intervalo falamos em eritrócitos normocíticos.

No entanto, existem fatores que contribuem para erros associados à determinação do VGM, como é o caso de:

- Crioaglutininas – são anticorpos IgM, que se manifestam devido à descida de temperatura após colheita. Esta aglutinação eritrocitária falseia a contagem do número de Ert, uma vez que, conta doublets ou triplets como um único eritrócito, criando uma falsa diminuição do número de Ert. Da mesma forma, a aglutinação conduz a valor elevado de VGM que não se confirma (Failace & Fernandes, 2015). No anexo II encontram-se representados dois hemogramas (gentilmente cedidos pelo laboratório Aqualab), referentes a uma contagem com presença de crioaglutininas e a repetição da colheita a 37 °C.

Para corrigir a contagem e o valor de VGM, a colheita deve ser realizada a 37 °C, pelo que todo o material (agulha, seringa e tubo) deve ser previamente aquecido, e a amostra deve ser imediatamente processada pelo equipamento.

- Conservação do sangue *in vitro* – com o aumento da exposição do sangue à temperatura ambiente, há um aumento no valor do VGM. No entanto, este aumento não se revela ser significativo, uma vez que apenas aumenta cerca de +0,9 e +2,5 fL num período de exposição de 6 horas (Failace & Fernandes, 2015).
- Excesso de EDTA em relação ao volume da amostra colhido - causa desidratação dos Ert e baixa significativamente o valor do VGM, no entanto, os equipamentos já possuem reagentes (usados nos contadores) que voltam a hidratar parcialmente os GV, de forma a minimizar o erro na sua determinação.

- Hiperosmolaridade do sangue - Hipernatremia e hiponatremia, quando acentuadas, causam respectivamente macrocitose e microcitose espúrias, com variações que podem superar  $\pm 5$  fL.

Os outros dois índices eritrocitários, hemoglobina globular média (HGM) e concentração hemoglobínica globular média (CHGM), de acordo com a concentração de hemoglobina presente, classificam as anemias em: hipocrômicas e normocrômicas.

A HGM diz respeito ao conteúdo médio de hemoglobina por eritrócito, com valor de referência de 26-34 pg, sendo calculado automaticamente através da fórmula na figura 4:

$$\text{HGM (Pg)} = \frac{\text{Hg (g/dL)}}{\text{Ert (x10}^{12}\text{L)}}$$

Figura 4 - Representação da equação matemática para o cálculo da hemoglobina globular média (HGM). Hg = hemoglobina; Ert = eritrócitos.

Há autores que defendem a utilização da HGM para a separação das anemias quanto ao teor de hemoglobina, uma vez que não sofre interferências por variantes pré-analíticas (como a exposição à temperatura ambiente) e pela sua correlação inversamente proporcional ao VGM.

No entanto, há opiniões contrárias, que dizem ser o CHGM o parâmetro ideal para inferir quanto à cromia do eritrócito, devido à sua estabilidade e baseado no pressuposto de que a cromia deve ser definida pelo aumento ou diminuição da concentração de Hb e não da sua quantidade, uma vez que depende do volume eritrocitário.

A concentração de hemoglobina globular média (CHGM) indica a concentração de Hb média percentual contida em cada eritrócito. Este índice é calculado automaticamente através da fórmula na figura 5:

$$\text{CHGM (g/dL)} = \frac{\text{Hg (g/dL)}}{\text{Hct (L/L)}}$$

Figura 5 - Representação da equação matemática para o cálculo da concentração de hemoglobina globular média (CHGM). Hg = hemoglobina; Hct = hematócrito.

Apresenta um valor de referência compreendido entre 32-36 g/dL.

Quando há elevação real de CHGM, para valores entre 36 e 39 g/dL, geralmente está associado a casos de esferocitose, podendo ocorrer também em situações de coma hiperosmolar, desidratação dos eritrócitos e, por vezes, em casos de hemoglobinopatias.

Na tabela 1 encontra-se resumida a classificação morfológica da população eritrocitária.

Tabela 1 - Classificação morfológica das anemias.

<b>VGM - Volume Globular Médio</b>				
		< 80,0 fL	80,0-97,0 fL	> 97,0 fL
<b>CHGM - Concentração de Hemoglobina Globular Média</b>	< 32,0 g/dL	População eritrocitária microcítica hipocrômica	-	-
	32,0-36,0 g/dL	População eritrocitária microcítica normocrômica	População eritrocitária normocítica normocrômica	População eritrocitária macrocítica normocrômica
	> 36,0 g/dL	-	-	População eritrocitária macrocítica hipercrômica

### 3. Caraterização e Classificação das Anemias Macroscíticas

A anemia macroscítica é caraterizada pela presença, no sangue periférico, de eritrócitos com aumento do tamanho superior ao normal, denominados de macróscitos, geralmente,

com valores de VGM > 100 fL e valores normais de CHGM, conjuntamente com a presença de quadro anémico. O aumento da espessura dos eritrócitos é também uma característica presente nos macrócitos, que faz com que, na microscopia, estes padeçam da típica palidez central presente nos eritrócitos normocíticos. A macrocitose pode ser geral, ou afetar apenas parte da população eritrocitária, sendo que os macrócitos podem ser redondos ou ovais. Esta diferenciação apresenta significado clínico, contribuindo para a determinação da etiologia da anemia. Uma vez que o tempo médio de vida dos eritrócitos é cerca de 120 dias, não há um aumento significativo do VGM durante alguns meses, mesmo com o início da produção de macrócitos pela MO, dado que a substituição da população normocítica pela macrofítica é gradual (Bain, 2016).

Embora a anemia macrofítica implique a presença de macrocitose, esta não depende da concentração de Hb total, isto é, a presença de macrocitose nem sempre é acompanhada por anemia.

As anemias macrofíticas podem ser subdivididas em megaloblásticas e não-megaloblásticas, consoante haja comprometimento da síntese de DNA ou não, respetivamente. Esta diferenciação nas anemias macrofíticas é possível de determinar, pela observação de esfregaços sanguíneos e com base no exame de medula óssea (Green, 1999; Herrin, 2015).

As causas da anemia macrofítica e macrocitose isolada diferem e, geralmente, é necessária a realização de mais exames complementares para as determinar, no entanto, as causas mais recorrentes consistem em deficiências nutricionais (p. ex., cobalamina e folatos), leucemias, síndrome mielodisplásico ou outras doenças crónicas. A ingestão continuada de álcool está intimamente interligada à presença de macrocitose, com ou sem doença hepática associada, sendo das principais causas de anemia não-megaloblástica (Veda, 2013).

Na tabela 2, estão representadas algumas causas de macrocitose, que serão abordadas nos capítulos posteriores.

Tabela 2 - Representação de algumas das etiologias da macroscitose.

Reticulocitose (p. ex., anemia hemolítica, hemorragia)	Deficiência em vitamina B12 e/ou folatos	Ingestão de fármacos (p. ex., anticonvulsivantes)	Doença hepática
Ingestão continuada de álcool	Síndrome mielodisplásico	Tabagismo (mecanismo incerto)	Anemia Aplásica

No anexo III, encontra-se um exemplo de um hemograma de um indivíduo com anemia macroscítica.

### 3.1 Anemia Megaloblástica

As anemias megaloblásticas têm como causas subjacentes mais recorrentes, a deficiência nutricional em vitamina B12 ou folatos que podem derivar de anomalias genéticas ou adquiridas, e a administração de determinados fármacos que afetam a síntese de DNA (Longo *et al.*, 2013).

A nível clínico, os indivíduos sintomáticos com anemia megaloblástica, apresentam sintomas comuns da anemia (como por exemplo: fadiga, palidez mucocutânea), podendo também estar associado à presença de icterícia, glossite, atrofia ótica, distúrbios neurológicos, entre outros. Consoante a causa subjacente à anemia e a sua severidade, assim varia a sintomatologia associada. No caso de indivíduos assintomáticos, o diagnóstico incide nas observações hematológicas, nomeadamente na avaliação do hemograma com presença de VGM elevado. A sintomatologia será abordada em mais pormenor, no capítulo seguinte (Bain, 2016).

Na microscopia dos esfregaços de sangue periférico, é comum a existência de macroscitose, caracterizada pela presença de macrócitos, geralmente, de contorno oval e neutrófilos com hipersegmentação, anisocitose (responsável pelo aumento do RDW) e poiquilocitose. Mais raramente, em casos severos podem ser observados corpos Howell-Jolly, megaloblastos ou percursores granulocíticos. Quanto mais severa for a anemia, mais marcada será a anisocitose e a poiquilocitose, com possível aparecimento de fragmentos eritrocitários. A contagem de reticulócitos apresenta-se diminuída, há uma

redução no número das plaquetas e desenvolvimento de linfopénia leve e neutropénia (Bain, 2016; Green & Mitra, 2016).

Em geral, a medula óssea apresenta-se como hiper celular com hiperplasia eritróide, presença de assincronismo maturativo, com núcleo mais imaturo comparativamente ao citoplasma. Podem existir ainda, megacariócitos com tamanho superior ao normal e hiperloblados (Green, 1999; Longo *et al.*, 2013).

Alterações megaloblásticas, como as referidas, também podem ser observadas em indivíduos com síndrome mielodisplásico ou infecção por HIV, em resultado da interferência gerada na síntese de DNA (Schick, 2016).

Na tabela 3, encontram-se sintetizadas algumas das causas da anemia megaloblástica.

Tabela 3 - Representação de algumas das etiologias da anemia megaloblástica.

Vitamina B 12	Folatos	Outras causas
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <u>Dieta inadequada</u></li> <li>- Vegans</li> <li>- Vegetarianismo (total)</li> <li>• <u>Distúrbios na absorção</u></li> <li>- Anemia perniciosa</li> <li>- Gastrectomia total ou parcial</li> <li>- Ressecção íleal e doença de Crohn</li> <li>- Síndrome Zollinger-Ellison</li> <li>- Deficiência em transcobalamina II</li> <li>- Insuficiência pancreática</li> <li>- Tênia do peixe</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <u>Dieta inadequada</u></li> <li>- Carência nutricional (p.ex., alcoólicos e idosos)</li> <li>• <u>Distúrbios na absorção</u></li> <li>- Sprue tropical</li> <li>- Doença celíaca</li> <li>• <u>Aumento da demanda</u></li> <li>- Gravidez</li> <li>- Anemia hemolítica</li> <li>- Hemodiálise</li> <li>- Dermatite exfoliativa</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Fármacos (p. ex., anticonvulsivantes, contraceptivos orais)</li> <li>- Exposição ao óxido nítrico</li> <li>- Idiopático</li> </ul>

Por vezes, podem coexistir com a anemia megaloblástica outras condições/patologias, que dificultam o diagnóstico laboratorial, como a anemia microscítica (p. ex., anemia ferropénica ou talassemia minor). Neste caso a população eritrocitária é dimórfica, sendo possível a observação de macrócitos e micrócitos que correspondem à anemia

megaloblástica e microcítica, respetivamente. Devido à variação do volume das células, o RDW está elevado e o VGM apresenta valor normal devido à média do volume da população eritrocitária. Existe anisocitose e poiquilocitose, bem como a presença de neutrófilos hipersegmentados. Na medula óssea, predominam células megaloblásticas (de tamanho mais reduzido, comparativamente com casos de anemia megaloblástica isolada) e metamielócitos gigantes em banda. A coexistência entre estes dois tipos de anemia surge, por exemplo, em casos de doença celíaca ou de infeção crónica por *Helicobacter pylori* (Green & Mitra, 2016).

### **3.2 Anemia Não-Megaloblástica**

Nas anemias não-megaloblásticas, geralmente, não há compromisso da síntese de DNA, ao contrário das anemias megaloblásticas. O exame da MO pode ser útil na distinção entre casos de anemias megaloblásticas, de anemias não-megaloblásticas, principalmente quando as alterações a nível do sangue periférico não são tão evidentes. A etiologia das anemias macrocíticas não-megaloblásticas, podem derivar: da ingestão continuada de álcool; doença hepática; hipotireoidismo; aumento de EPO associado a falência medular (p. ex., anemia aplásica) ou distúrbios mielodisplásicos; reticulocitose devido a perda aguda de sangue ou hemólise (Mcpherson & Pincus, 2011; Longo *et al.*, 2013).

No esfregaço de sangue periférico, é possível a observação de macrócitos de forma arredondada e, ao contrário das anemias megaloblásticas, não existe hipersegmentação dos neutrófilos (Bain, 2016).

## **4. Sintomatologia e Manifestações Clínicas**

A sintomatologia associada à anemia é variável (consoante o tipo de anemia; a causa subjacente; a idade do indivíduo; a gravidade e quaisquer problemas de saúde associados, tais como, hemorragia, úlceras ou cancro) e inespecífica, existindo casos em que os indivíduos são assintomáticos.

Em casos sintomáticos, o aparecimento dos sintomas ocorre de forma gradual e depende da rapidez da instalação da anemia, da severidade da anemia, idade do indivíduo, bem como, da curva de dissociação hemoglobina versus oxigénio.

Os principais sintomas caracterizam-se por: astenia; palidez mucocutânea; taquicardia; dispneia; cefaleia; icterícia; unhas frágeis em forma de colher (poliniquia) e, em casos

extremos, o indivíduo pode atingir o coma anémico, que por sua vez, pode levar à paragem cardíaca. Anemias severas por carência de vitamina B12 e/ou folatos, podem provocar ainda, distúrbios neurológicos (p. ex., demência, dormência, paranoia), queilose, esteatorreia, aparecimento de glossite, defeitos no tubo neural (no caso de carência de folatos). A esplenomegalia também pode ser observada, em casos de macrocitose por hemólise, infiltrações medulares ou neoplasmas (Green & Mitra, 2016; Herrin, 2015; Maakaron, 2016).

Em indivíduos com presença de hemólise intravascular, podem crescer sintomas como dor lombar aguda e insuficiência renal, devido à presença de hemoglobina livre e hemoglobinúria (Longo *et al.*, 2013; Failace & Fernandes, 2015).

A anemia devido à perda de sangue aguda, induz nestes indivíduos, uma redução do volume intravascular bem como da capacidade de transporte de oxigénio, que se manifestam através de hipóxia e hipovolemia. A hipovolemia conduz, conseqüentemente, a hipotensão (Maakaron, 2016).

Na presença de anemia, o organismo reage por diversos mecanismos compensatórios, de forma a contrariar a anemia, como (Failace & Fernandes, 2015):

- Redistribuição circulatória - ocorre vasoconstrição na área esplâncnica e nos tegumentos em favor das áreas nobres, com carência de oxigénio. Este mecanismo compensatório, é o que leva à sensação de frio nas extremidades, por parte de alguns indivíduos.
- Aumento do débito cardíaco – pela presença de taquicardia e pelo aumento do enchimento diastólico, desta forma é possível aumentar a taxa de oxigenação, embora possa trazer problemas cardíacos pela sobrecarga do miocárdio.
- Aumento de 2-3-difosfoglicerato nos eritrócitos - permite a formação de desoxihemoglobina e facilita a libertação de oxigénio, contribuindo para o aumento da oxigenação dos tecidos.
- Aumento da produção de eritropoetina - a anoxemia vai estimular as células peritubulares renais, a aumentar a síntese de eritropoetina.

- Mudança de conduta - tende a ocorrer diminuição de atividades físicas, nos indivíduos que apresentam anemia, que levem à manifestação de sintomatologia decorrente dessa condição. É comum, nos casos de anemias de progressão lenta.

As manifestações clínicas serão abordadas em maior pormenor nos seguintes capítulos.

## **5. Etiologia da Anemia Macroscítica**

A etiologia da anemia, deve ser investigada, para que seja possível a implementação da terapêutica mais adequada e eficaz ao indivíduo anêmico, pelo clínico.

### **5.1 Carência de Vitamina B12**

A vitamina B12 é também conhecida pela designação de cobalamina, uma vez que, engloba um grupo de substâncias classificadas pela sua forma química de cobalaminas que apresentam, como característica um anel tetrapirrólico com um átomo de cobalto no centro (Burtis *et al.*, 2008).

As cobalaminas existem em diversas formas quimicamente distintas, sendo a cianocobalamina considerada a substância de referência para determinação de cobalamina (Cbl) sérica devido à sua estabilidade (Burtis *et al.*, 2008).

No entanto, as formas fisiológicas mais recorrentes de cobalamina no soro e no citoplasma são, respetivamente, a metilcobalamina e a 5'-desoxiadenosilcobalamina (Burtis *et al.*, 2008).

A metilcobalamina intervém na síntese de metionina através da conversão de homocisteína. A metionina vai ser, por sua vez, necessária para a síntese de purinas e pirimidinas (Brescoll & Daveluy, 2015).

O derivado 5'-desoxiadenosilcobalamina é fundamental para a degradação dos ácidos gordos pela metilmalonil-CoA mutase (Brescoll & Daveluy, 2015).

A vitamina B12 é o cofator para a enzima metilmalonil coenzima A (CoA) mutase e intervém na síntese da metionina (fundamental no processo de síntese de purinas) e na transformação do ácido metilmalónico em ácido sucínico (Burtis, 2008).

Na figura 6, estão representadas as reações dependentes da presença de cobalamina.

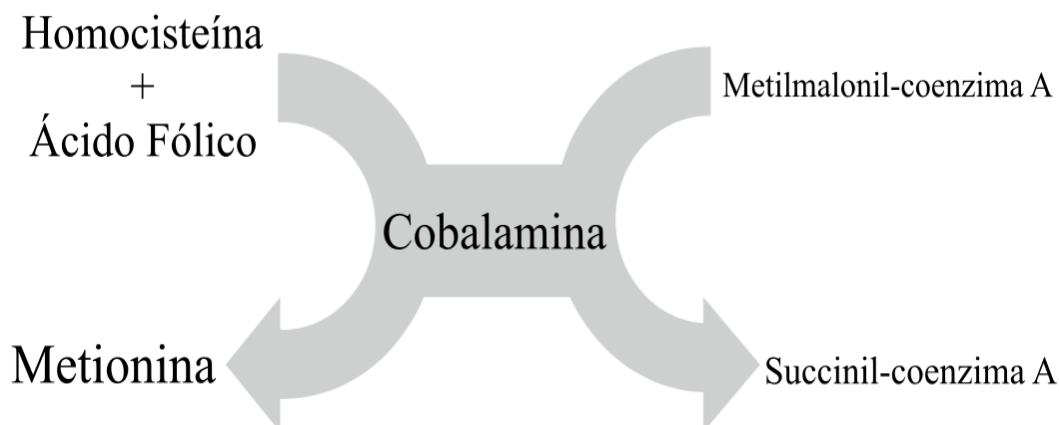


Figura 6 - Reações químicas dependentes de cobalamina. (Adaptado de Brescoll & Daveluy, 2014).

A síntese de cobalamina ocorre exclusivamente a partir de microrganismos, pelo que, os animais obtêm a vitamina pré-formada a partir de sua flora bacteriana natural ou pela ingestão de produtos alimentares de origem animal como laticínios, carne, peixe e ovos. Os produtos vegetais não apresentam a presença de cobalamina (exceto em casos de colonização bacteriana), razão pela qual, indivíduos com dieta vegetariana estrita tendem a demonstrar carência da mesma (Gowdappa, Mahesh, Murthy & Narahari, 2013; Longo *et al.*, 2013).

Tanto as necessidades diárias como as perdas de cobalamina para o organismo humano variam entre 1 a 3 µg, com reservas de durabilidade entre 3 a 4 anos, aproximadamente (em casos de total carência). A alta duração das reservas deve-se ao armazenamento da vitamina a nível hepático de 2 a 3 mg e ao ciclo enterohepático, onde a cobalamina excretada pela biliar é reabsorvida no intestino. Graças a esses mesmos mecanismos, as manifestações clínicas só são evidentes tardiamente (Longo *et al.*, 2013).

Quando a ingestão ultrapassa o limite de absorção e dos recetores dos hepatócitos, a vitamina B12 é excretada maioritariamente pelos rins através da urina (Longo *et al.*, 2013).

### 5.1.1 Metabolismo e Transporte

Após a sua ingestão, a ligação entre a Cbl e as proteínas de origem animal é quebrada pela pepsina e ácido clorídrico (HCl), presentes nas secreções gástricas. A Cbl livre estabelece nova ligação com glicoproteínas segregadas pelas células parietais e

salivares, designadas de haptocorrinas (HC), também conhecidas como proteínas R (Andrès *et al.*, 2004).

No duodeno, são introduzidos mais complexos Cbl-HC provenientes da bÍlis, que se vão juntar aos complexos formados no estÍmago (ciclo enterohepático), sendo degradados, de seguida, pela tripsina pancreática, libertando a Cbl. Simultaneamente, é segregado pelas células gástricas parietais (presentes no fundo e corpo do estÍmago) o fator intrínseco de Castle (FI), importante na proteção da cobalamina ao catabolismo pelas bactérias intestinais e no seu reconhecimento e absorção pelos recetores dos enterócitos no íleo terminal. O FI liga-se à Cbl, embora no estÍmago, a ligação seja fraca comparativamente à ligação da Cbl-HC. É perto da região do jejuno que o verdadeiro complexo Cbl-FI é formado, após a separação e destruição das HC (Andrès *et al.*, 2004).

A ligação ao FI é fundamental para o reconhecimento do complexo pelo recetor específico existente na membrana da microvilosidade dos enterócitos, designado de cubilina, na zona do íleo distal. Feita a ligação à cubilina, o complexo entra na célula ileal, onde se dissocia e é destruído o FI, deixando a Cbl livre para se ligar às proteínas de transporte (transcobalaminas). Embora existam três classes de transcobalaminas (I, II e III), a mais relevante é a transcobalamina II, sintetizada pelo fígado, devido à sua capacidade de transporte da Cbl até todas as células do organismo (Andrès *et al.*, 2004).

Após a ligação à TCII, a Cbl é transportada para a circulação portal, onde vai ser absorvida pelo fígado através dos recetores de TCII nas células endoteliais. Dentro da célula o complexo dissocia-se, a TCII é degradada e a Cbl é convertida em metilcobalamina e adenosilcobalamina (Andrès *et al.*, 2004; Longo *et al.*, 2013).

Para além do mecanismo de absorção descrito, existe também a difusão passiva ao longo do intestino, embora não seja muito eficiente, com uma absorção inferior a 1% da dose oral diária de Cbl (Longo *et al.*, 2013).

Qualquer alteração no ciclo do metabolismo da Cbl pode levar à sua carência no organismo, como representado na figura 7.

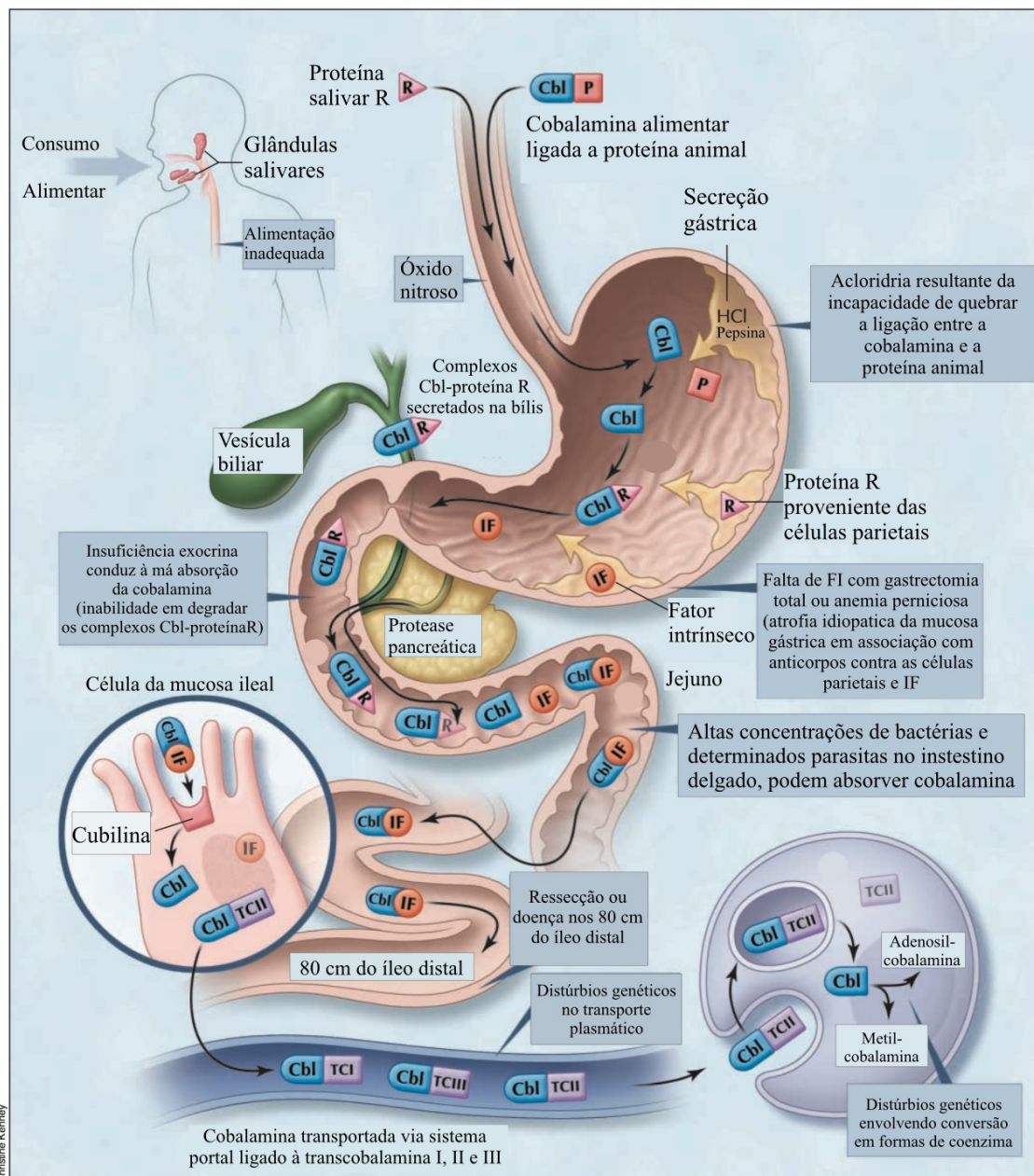


Figura 7 - Representação do metabolismo da Vitamina B12. (Adaptado de Andrés et al., 2004).

### 5.1.2 Causas da Carência

A deficiência em cobalamina pode derivar, principalmente, de uma alimentação inadequada (p.ex., vegetarianismo total), anemia perniciosa, absorção deficiente ou distúrbios congênitos, como a deficiência em transcobalamina II (Longo *et al.*, 2013; Nagao & Hirokawa, 2017).

A má absorção pode derivar quer de causas gástricas, intestinais ou pela falha na dissociação do complexo formado entre a Cbl dietética e as proteínas animais. As

principais causas para a carência de vitamina B12 são a anemia perniciosa e má absorção da cobalamina dietética (Longo *et al.*, 2013).

O déficit de Cbl de cariz nutricional, quando presente, é geralmente observado em populações subnutridas (como idosos e pacientes em instituições ou hospitais psiquiátricos) e indivíduos com uma dieta alimentar estritamente vegetariana, sem qualquer produto de origem animal ou derivados na alimentação (Dali-Youcef & Andrès, 2009).

A deficiência em cobalamina também é observada em lactantes amamentados apenas pelo leite de mães com um déficit muito acentuado de Cbl, o que se reflete no leite materno, levando ao desenvolvimento de anemia megaloblástica em idades compreendidas no intervalo de 3 a 6 meses e, também, atrasos no crescimento e desenvolvimento psicomotor, bem como outras sequelas neurológicas (Andrés *et al.*, 2004; Benoist, 2008; Longo *et al.*, 2013).

Foi também observada uma associação entre deficiência de vitamina B12 e abortos recorrentes, no entanto, essa associação parece ser apenas aplicável em casos de mulheres que apresentem anemia perniciosa (Longo *et al.*, 2013).

A má absorção de Cbl dietética, é considerado uma síndrome que corresponde à incapacidade de dissociação dos complexos formados pela cobalamina com as proteínas presentes nos alimentos ou com as proteínas de transporte. Geralmente, é utilizado o teste de Schilling modificado que utiliza Cbl marcada radioativamente ligada às proteínas, que revela a má absorção, uma vez que, o teste de Shilling padrão seria negativo, o que normalmente iria excluir a má absorção como causa da deficiência. Alguns dos fatores que contribuem para esta síndrome, incluem: atrofia gástrica (principal causa), ingestão prolongada de antiácidos, proliferação microbiana intestinal, infecção crônica por *Helicobacter pylori*, alcoolismo (crônico), cirurgia ou reconstrução gástrica (Dali-Youcef & Andrès, 2009).

Na anemia perniciosa, considerada como uma doença autoimune, existe deficiência de FI por gastrite atrófica da zona do corpo do estômago (associada ou não, a infecção por *H. pylori*) que, por sua vez, conduz à destruição das glândulas oxínticas. Com a destruição da mucosa, ocorre uma redução do número de células parietais gástricas, o que corresponde à diminuição ou ausência da secreção de FI, comprometendo a

absorção da vitamina B12 e levando à conseqüente deficiência nutricional no organismo. A gastrite atrófica do corpo do estômago associada com AP, também designada como gastrite do tipo A, é caracterizada geralmente, pela atrofia grave das glândulas oxínticas, hipocloridria e com mucosa da zona do antro normal (Lahner & Annibale, 2009; Bizzaro & Antico, 2014).

Geralmente, a AP está associada a níveis de pepsinogénio I reduzidos, uma vez que, a destruição das células parietais leva à diminuição de ácido clorídrico (HCl), responsável pela formação de pepsinogénio. Também é observável um aumento de gastrina (aumento da acidez) que por ser uma substância agonista relativamente às secreções gástricas, o seu aumento funciona como um mecanismo compensatório para estimular a produção de secreções gástricas pelas células parietais (Longo *et al.*, 2013; Andrés *et al.*, 2004).

Embora o principal mecanismo de absorção se torne ineficaz quando se instala a anemia perniciosa, o mecanismo de absorção passiva mantém-se inalterado, no entanto, a percentagem de absorção é reduzida, aproximadamente 1% (Longo *et al.*, 2013; Andrés *et al.*, 2004).

Do ponto de vista genético, foi observado que indivíduos que apresentam os genótipos HLA-DRB1\*03 ou DRB1\*04 (frequentemente associados com patologias autoimunes, como a diabetes do tipo 1 ou doença da tiroide autoimune), são mais suscetíveis de desenvolver anemia perniciosa (Bizzaro & Antico, 2014).

A prevalência da AP tende a aumentar com a idade e em indivíduos que apresentam outras doenças autoimunes adicionais, como hipotireoidismo, doença de Graves, diabetes *mellitus*, doença de Addison e vitiligo. (Andrés *et al.*, 2004; Bizzaro & Antico, 2014).

O cariz de patologia autoimune atribuído à AP, deve-se à sua associação com outros distúrbios do foro autoimune (referidos anteriormente) e devido à presença de auto-anticorpos anti-FI e/ou anti-células parietais, presentes no soro e secreções gástricas dos indivíduos (Lahner & Annibale, 2009).

Os anticorpos anti-FI dividem-se em tipo 1 e tipo 2, são considerados como marcadores específicos da anemia perniciosa presentes no sangue (ambos pertencentes à categoria das IgG's existentes no soro) e sulco gástrico. O tipo 1 está presente no soro em cerca

de 55% dos indivíduos com AP e impede a formação do complexo Cbl-FI, enquanto que os do tipo 2 ocorrem no soro em 35% dos indivíduos com AP e impede a ligação do FI à mucosa ileal. Os anticorpos presentes em mulheres grávidas, têm a capacidade de atravessar a placenta e causar, temporariamente, uma deficiência de FI no recém-nascido. Nas secreções gástricas são detetados anticorpos anti-FI (classe IgA) em 80% dos indivíduos com AP que, ao se ligarem ao FI, levam à diminuição da Cbl dietética (Longo *et al.*, 2013; Bizarro & Antico, 2014).

Os anticorpos anti-células parietais (ACP) encontram-se presentes no soro de aproximadamente 90% dos indivíduos com AP, tendo como alvo as subunidades alfa e beta da bomba gástrica de prótons, responsável pelas secreções gástricas e que constitui o canículo secretor de células parietais. Os anticorpos anti-células parietais no soro são IgG, IgA e IgM, mas no suco gástrico apenas são encontrados anticorpos IgA e IgM. Apesar da alta incidência dos anticorpos ACP em indivíduos com AP, estes não são considerados específicos da anemia perniciosa, dado que estão presentes em outras patologias autoimunes como a tiróide de Hashimoto ou diabetes tipo 1 (Longo *et al.*, 2013; Bizarro & Antico, 2014).

Em mais de 50% dos casos de AP, também podem ser encontrados anticorpos anti-tiroideus, por vezes, igualmente presentes nos familiares (Bizarro & Antico, 2014).

A presença continuada de anemia perniciosa está associada ao desenvolvimento de adenocarcinoma gástrico e carcinóide gástrico do tipo I, devido à hipergastrinemia e hipocloridria. A hipocloridria conduz, igualmente, ao crescimento de bactérias produtoras de nitrosamina que apresentam potencial atividade cancerígena (Lahner & Annibale, 2009).

A gastrectomia total também gera uma deficiência em cobalamina, devido à interrupção da produção de FI e neutralização da acidez gástrica que vai permitir a proliferação microbiana intraluminal. Na gastrectomia parcial, cerca de 10 a 15% dos indivíduos desenvolvem carência de vitamina B12 (Longo *et al.*, 2013).

Na pancreatite crónica severa, com a ausência de produção de tripsina, não há dissociação do complexo Cbl-HC, o que impede a ligação da Cbl livre ao FI e consequente absorção no íleo (Longo *et al.*, 2013).

É conhecida a relação entre a ingestão de determinados fármacos e o seu efeito sobre a ineficácia da absorção da cobalamina, embora a anemia megaloblástica seja raramente uma das consequências. Alguns exemplos são: colchicina, neomicina, anticonvulsivantes, cloreto de potássio de libertação lenta, metformina, fenformina e paraaminossalicilato (Longo *et al.*, 2013).

A “sprue” tropical, é uma síndrome que afeta tanto nativos como não-nativos de determinadas áreas tropicais, que se manifesta por diarreia crónica, esteatorreia, perda de peso e deficiências nutricionais, entre as quais, deficiência em Cbl, devido a problemas de má absorção, podendo apresentar anemia megaloblástica ou neuropatias (Longo *et al.*, 2013).

Na síndrome de Zollinger-Ellison também foram relatados casos de pacientes com deficiência na absorção de Cbl. Pensa-se que, devido à hipergastrinémia presente, haja um aumento elevado da acidez que, por sua vez, conduza à inibição da atividade da tripsina pancreática, levando ao mesmo efeito que se pensa estar presente nos casos de pancreatite crónica: a ineficácia na dissociação do complexo Cbl-HC, na ligação Cbl-FI e consequente absorção (Longo *et al.*, 2013).

Deficiências na absorção da Cbl são causadas também por lesões nos últimos 80 cm da mucosa do intestino delgado (como é exemplo a doença de Crohn’s, linfoma, tuberculose, doença celíaca); infeção por HIV; ressecção ileal (remoção de  $\geq 1,20$  m do íleo terminal); radioterapia; agamaglobulinemia e parasitismo por *Diphyllobothrium latum* (ténia do peixe, que se fixa no intestino delgado humano, provocando a acumulação de cobalamina dietética, impossibilitando a sua absorção) (Longo *et al.*, 2013).

Quando há deficiência na TC II ou esta não é funcional, também se estabelece carência de cobalamina, uma vez que, a vitamina não está a ser transportada até às células de forma eficaz. Quando presente nos lactantes, a anemia megaloblástica manifesta-se poucas semanas após o nascimento. Se o tratamento não for iniciado e a deficiência/anomalia da TC II for grave, pode haver alterações neurológicas associadas (Longo *et al.*, 2013).

A inalação de óxido nitroso, presente, por exemplo, nas anestésias, leva à oxidação da metilcobalamina num precursor inativo (Hannibal *et al.*, 2016).

Crianças com deficiência de FI ou anomalias congénitas que afetem a sua funcionalidade, tendem, na maioria dos casos, a manifestar anemia megaloblástica em idades compreendidas entre 1 a 3 anos. Geralmente, não apresentam anticorpos anti-FI ou anti células parietais e não apresentam FI, embora as secreções e mucosas gástricas estejam normais. Há casos em que há presença de FI na criança, mas em que este não é funcional, sendo incapaz de estabelecer uma ligação estável com a cobalamina (Longo *et al.*, 2013).

A presença de acidemia e acidúria congénitas em lactantes pode dever-se a defeitos na metilmalonil CoA mutase na mitocondria ou na adenosilcobalamina. A diferenciação destas causas é importante quanto à terapêutica com Cbl, uma vez que em indivíduos com defeitos na metilmalonil CoA mutase a terapêutica não é eficaz ao contrário dos indivíduos com defeitos na adenosilcobalamina. Também é possível o indivíduo apresentar defeito em ambas as coenzimas. As principais manifestações são o atraso no desenvolvimento, microcefalia, anemia megaloblástica, convulsões e dificuldade na alimentação (Longo *et al.*, 2013).

Quando a cobalamina se liga ao fator intrínseco, o complexo tem de ser reconhecido pelo receptor endocítico, cubilina, a fim que ocorra a absorção intestinal da vitamina. Mutações no gene responsável pela cubilina (*CUBN*) podem levar a anemia megaloblástica hereditária (patologia rara, autossómica recessiva caracterizada pela presença de anemia megaloblástica juvenil e sintomas neurológicos), interferindo no reconhecimento do complexo Cbl-FI. São conhecidas duas mutações no gene *CUBN*, a mutação designada como FM1 em que ocorre a troca de prolina por leucina, na posição 1297 e a mutação FM2 no intrão presente no domínio 6 do gene *CUBN*. Em indivíduos homozigóticos para a mutação FM1, é encontrado proteinúria, enquanto que na mutação FM2 há ausência de proteínas na urina. O gene *AMN* é responsável pela produção da proteína *amniotess*, que tem como função a ligação à cubilina, garantindo a sua fixação na membrana celular das células. Mutações do gene *AMN*, podem conduzir à anemia megaloblástica hereditária (também conhecida como síndrome de Imerslund-Gräsbeck) através da diminuição do número ou da funcionalidade da proteína *amniotess* que, dessa forma, não fixa a cubilina às células no intestino delgado e, assim, não há ligação do complexo Cbl-FI ao recetor e, conseqüente, absorção (Aminoff *et al.*, 1999; Dali-Youcef & Andrès, 2009).

### **5.1.3 Manifestações Clínicas**

As manifestações clínicas por déficit de cobalamina, variam consoante a gravidade da carência. Essas manifestações vão desde características subtis e inespecíficas, até distúrbios mais severos, como complicações neurológicas e neuropsiquiátricas, quando não é efetuado tratamento.

Nas situações em que há anemia megaloblástica presente, é possível a observação, no sangue periférico, de macrócitos ovais, de alguns neutrófilos com hipersegmentação lobar (figura 8), assim como sinais de anisocitose e poiquilocitose, geralmente, com um VGM superior a 100 fL no hemograma (salvo casos em que o indivíduo também apresenta causas de microcitose associadas). Pode também ser notada uma ligeira leucopenia e redução na contagem das plaquetas (Bain, 2016; Voukelatou, Vrettos & Kalliakmanis, 2016).

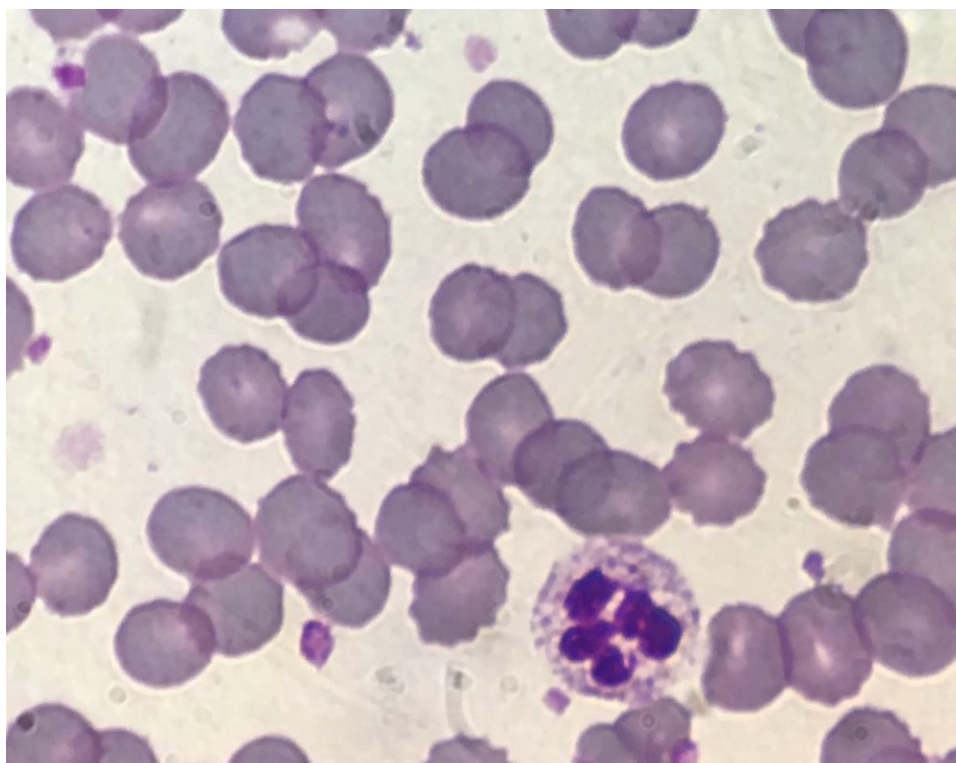


Figura 8 - Neutrófilo hipersegmentado.

Nos casos de maior gravidade a MO é hiper celular, há assincronismo celular nos eritroblastos, megacariócitos hiperdiplóides aumentados, presença de fragmentos nucleares, metamielócitos de tamanho aumentado e forma anormal. Devido à eritropoiese ineficaz, há um aumento da bilirrubina não-conjugada no plasma, da desidrogenase láctica sérica, de urobilinogénio na urina, bem como uma diminuição do

nível de haptoglobina e a presença de hemossiderina na urina (Longo *et al.*, 2013; Nagao & Hirowaka, 2017).

O deficit de Cbl também se reflete a nível do foro neurológico, podendo causar neuropatia periférica bilateral ou degeneração dos tratos piramidal e posterior da medula espinal, assim como, atrofia ótica, hipoestesia ou disestesia, ataxia, sintomas cerebrais ou incontinência urinária/fecal. Pode afetar a memória, a capacidade cognitiva do indivíduo e a função motora, com presença de fraqueza muscular (Longo *et al.*, 2013; Nabao & Hirowaka, 2017).

Adicionalmente, existe associação entre a deficiência de vitamina B12 e manifestações cutâneas, como alterações da pele e mucosa, glossite de Hunter (que provoca atrofia das papilas linguais, eritema e sensação de ardência na língua) e vitiligo (Brescoll & Daveluy, 2015).

Uma carência severa em vitamina B12, conduz a hiperhomocisteinemia que traduz uma elevação significativa no risco de trombose no indivíduo, dada a associação da hiperhomocisteinemia com o desenvolvimento da doença vascular aterosclerótica, devido às suas propriedades protrombóticas e ateroscleróticas (Green & Mitra, 2016; Longo *et al.*, 2013).

## 5.2 Carência de Folatos

Folato, também designado como vitamina B9, é uma designação generalizada que engloba um grupo de vitaminas hidrossolúveis relacionadas com o ácido pteroilglutâmico, composto por um anel de pteridina associado a um radical de ácido p-aminobenzóico. Quando o anel pteróico se conjuga com uma molécula de ácido L-glutâmico, a substância pode ser reduzida a duas formas (biologicamente ativas): o ácido dihidrofolato e o ácido tetrahydrofolato (Burtis *et al.*, 2008).

Das formas existentes de folatos presentes no soro humano, a principal é a 5-metil-tetrahydrofolato (5-MTHF). Em doses superiores a 400 µg, o ácido pteroilglutâmico é praticamente absorvido na íntegra e convertidos em folatos naturais no fígado, enquanto que doses menores são convertidas em 5-MTHF durante a absorção intestinal (Longo *et al.*, 2013).

Os folatos intervêm nas reacções da síntese de timidina (necessária à síntese de DNA), na oxidação de tetrahydrofolato em formil-tetrahydrofolato para a síntese de purinas, na metilação de homocisteína em metionina (Burtis *et al.*, 2008).

As fontes alimentares, onde é possível encontrar uma maior concentração de folatos, são o fígado e produtos de origem vegetal, nomeadamente, espinafres, nozes, feijão, entre outras verduras (Burtis *et al.*, 2008; Nagao & Hirowaka, 2017; Williamson & Snyder, 2016).

Para um indivíduo adulto, as necessidades diárias de folato são cerca de 100 µg, com uma reserva hepática de 10 mg com uma duração de, aproximadamente, 3 a 4 meses (Longo *et al.*, 2013).

### **5.2.1 Metabolismo e Transporte**

O folato dietético é consumido sob a forma de poliglutamato, no entanto, o organismo não consegue processar o folato nessa forma, sendo necessária a conversão para a forma de monoglutamato, pela enzima pteroilpoliglutamato hidrolase. Como tal, o folato sofre duas reacções de redução pela enzima dihydrofolato redutase. Na primeira redução obtém-se um composto designado por dihydrofolato, e na segunda tetrahydrofolato (THF). De seguida, o THF é convertido em 5,10-metilTHF. Após nova redução, o 5,10-metilTHF passa a 5-metilenoTHF (Blom & Smulders, 2011; Burtis *et al.*, 2008).

Feita a captação celular, a maioria do folato é reduzida e metilada, entrando na circulação sanguínea sob a forma de 5-metiltetrahydrofolato (5-MTHF), associado a uma proteína de transporte, como é exemplo a albumina. Intracelularmente, o 5-MTHF sofre desmetilação e é convertido na forma de poliglutamato pela enzima folilpoligluctamato sintase. Para retornar à circulação sanguínea, é necessária a reconversão dos poliglutamatos em monoglutamatos, através da enzima poliglutamato hidrólise (Burtis *et al.*, 2008; Blom & Smulders, 2011).

É no ciclo da metionina que a vitamina B12 intersecta com ciclo do ácido fólico, em que a metionina sintetase requer a presença de cobalamina como co-fator na metilação da homocisteína, utilizando o 5-metiltetrahydrofolato como o dador do grupo metil (figura 9). Da reacção resulta a formação de tetrahydrofolato, que pode ser convertido através da hidroximetiltransferase, em 5,10-metilenoTHF. A conversão de THF para 5,10- metilenoTHF também pode ocorrer através da catalização da enzima trifuncional,

metilenotetrahidrofolato desidrogenase, que forma 10-formilTHF (dador de um grupo de carbono para a síntese de purinas) e, conseqüentemente, o 5,10- metilenoTHF. De seguida, por acção da enzima timildato sintetase, o 5,10-metilenoTHF é convertido em dihidrofolato, sendo depois reduzido pelo dihidrofolato redutase novamente em THF. O 5,10-metilenoTHF pode ser reduzido a 5-metilTHF pela enzima metilenotetrahidrofolato redutase (Blom & Smulders, 2011).

Na deficiência de cobalamina, o 5-metilTHF acumula-se no plasma, levando à diminuição das concentrações de folato intracelular pela incapacidade de formação de THF, no entanto, o folato sérico está elevado (Burtis *et al.*, 2008; Green, 2017).

O armazenamento de ácido fólico é feito, maioritariamente, a nível hepático e a excreção de folato é feita pelos rins e pela vesícula biliar, sendo que no caso de folato livre esta é realizada por filtração glomerular, sendo grande parte reabsorvida através dos túbulos renais proximais. O folato é predominantemente excretado por catabolismo após clivagem da ligação C9-N10 para produzir p-aminobenzoilpoliglutamatos, os quais são então hidrolisados e acetilados em monoglutamatos antes da excreção biliar. Devido à circulação entero-hepática é, tal como na excreção renal, possível diminuir as perdas orgânicas de folato excretadas pela vesícula biliar (Burtis *et al.*, 2008).

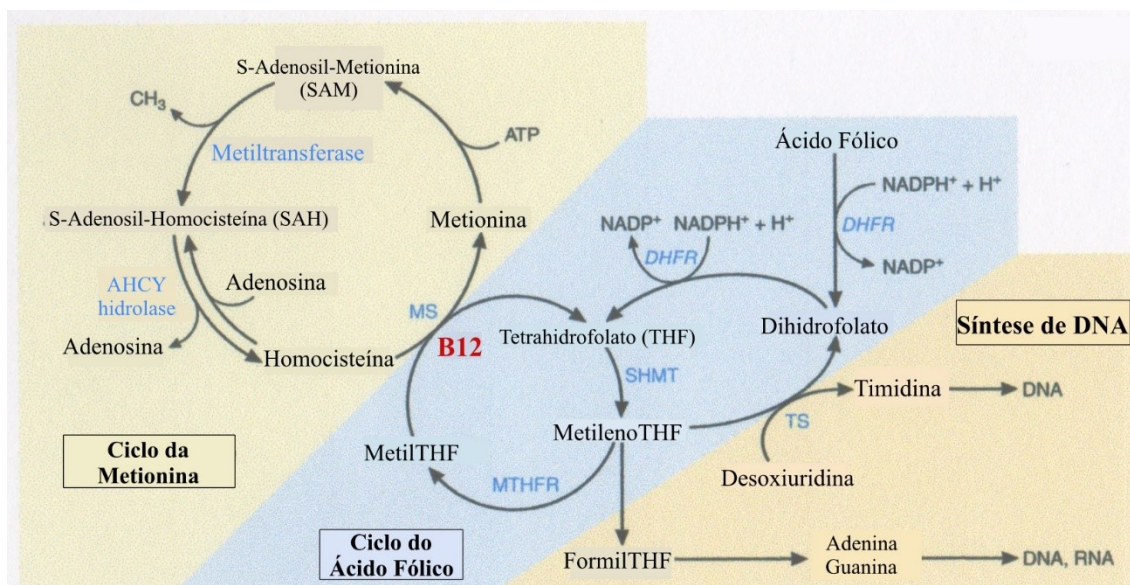


Figura 9 - Representação do metabolismo do folato e da sua intervenção no ciclo da metionina e na síntese de DNA (adaptado de Green, 2017). AHCY hidrolase= Adenosil-homocisteína hidrolase; DHFR= Dihidrofolato redutase; MS= Metionina sintetase; MTHFR= Metilenotetrahidrofolato redutase; SHMT= Serina hidroximetiltransferase; TS= Timidilato. sintetase

### **5.2.2 Causas da Carência**

A carência em folatos deriva, maioritariamente, de uma dieta inadequada, aumento das necessidades diárias de folato (p. ex., na gravidez), da ingestão de fármacos (p.ex., metotrexato, trimetoprim) ou distúrbios na absorção (Green & Mitra, 2016; Nagao & Hirowaka, 2017).

Uma deficiência na nutrição, com dieta alimentar pobre em folatos, é comum em indivíduos alcoólicos em estado crónico, idosos e pacientes institucionalizados (Green & Mitra, 2016).

Durante o período de gravidez e lactação, há um aumento significativo das necessidades diárias de folatos, passando dos 100 µg habituais para variações dos 200 a 400 µg. Este aumento surge da necessidade de passagem do nutriente da mãe para o feto e pelo aumento do catabolismo na formação e proliferação dos tecidos, no caso da gravidez. No caso da lactação, é exigido um aumento da dose diária de folatos para garantir a passagem para o leite materno. Quando existe deficiência de folatos nas progenitoras, a passagem para o leite materno é assegurada, enquanto a carência na mãe aumenta (ao contrário de casos de carência em vitamina B12). Através da terapia profilática com ácido fólico durante a gestação, é possível a redução de casos de anemia megaloblástica na gravidez (Benoist, 2008; Longo *et al.*, 2013; Green & Mitra, 2016).

Após o nascimento, o recém-nascido apresenta valores de folato sérico e intra-eritrocitário superiores ao indivíduo adulto, no entanto, a necessidade diária de folato também é superior em cerca de dez vezes, com base no peso do recém-nascido, pelo que, cerca de seis semanas após o nascimento, os valores de folato diminuem acentuadamente. Esta condição é mais recorrente em recém-nascidos: prematuros (em que alguns apresentam anemia megaloblástica); de baixo peso (<1.500g); que apresentem infeções; com alimentação deficiente ou que estiveram sujeitos a múltiplas transfusões sanguíneas (Longo *et al.*, 2013).

Outras situações que levam ao aumento das necessidades diárias de folatos incluem causas de etiologia patológica, como a presença de anemia hemolítica crónica, tumores, dermatite esfoliativa crónica, anemias falciformes, talassemia major e mielofibrose, devido ao aumento da taxa de renovação celular. (Green & Mitra, 2016; Longo *et al.*, 2013).

Deficiências na absorção de folatos são mais frequentes em indivíduos com “*sprue*” tropical, estando também presente em casos de ressecção jejunal, gastrectomia parcial, doença de Crohn e em infecções sistêmicas. A ingestão de glúten leva à inflamação crônica da mucosa intestinal condicionando a absorção de ácido fólico, em indivíduos com doença celíaca ou *sprue* não-tropical (Longo *et al.*, 2013; Green & Mitra, 2016).

Mais raramente, em casos de homocistinúria há aumento de homocisteína sérica que, por sua vez, vai aumentar a necessidade de ingestão de folatos, para a conversão da homocisteína em metionina, como mecanismo compensatório do seu aumento (Longo *et al.*, 2013).

Fármacos anticonvulsionantes como a fentoína, pirimidona e barbitúricos são antagonistas do folato. Sob tratamento prolongado, tendem a diminuir os níveis de folato sérico e intra-eritrocitário e à presença de anemia megaloblástica. A pirimetamina, trimetoprim e o metotrexato, são fármacos que vão interferir com o metabolismo do folato, através da inibição da enzima dihidrofolato redutase, no entanto, a trimetoprim apenas causa anemia megaloblástica quando associada ao sulfametoxazol. A toma de salazopirina, colestiramina ou triantereno foi associada como causa de má absorção de folatos. Indivíduos com psoríase sob terapêutica com metotrexato, é aconselhado fazer suplemento de ácido fólico, de forma a diminuir o efeito secundário do fármaco e prevenir o desenvolvimento de carência de folatos (Green & Mitra, 2016; Longo *et al.*, 2013).

Os indivíduos com doença hepática ou insuficiência cardíaca tendem a ter perdas diárias de folatos superiores a 100 µg, devido às lesões nos hepatócitos os quais, mantêm as reservas de folatos do organismo (Longo *et al.*, 2013).

Indivíduos com sintomas de vômito, anorexia, infecções, hemólise ou que realizem diálise prolongada, tendem a aumentar as perdas de folatos das reservas hepáticas (Longo *et al.*, 2013).

Erros no metabolismo do ácido fólico, como deficiência nas enzimas dihidrofolato redutase, metionina sintetase e metileno-tetrahydrofolato redutase, conduzem à carência de folatos, levando a manifestações, como atraso mental e outras complicações neurológicas nos indivíduos (Green & Mitra, 2016).

Embora raro, a deficiência de folato pode ter origem num distúrbio congénito hereditário que afeta a absorção intestinal da vitamina, que está associado ao transporte inadequado de folato através do plexo coróide no líquido cefalorraquidiano. As manifestações clínicas associadas a este distúrbio incluem anemia megaloblástica grave, atraso mental e convulsões (Green & Mitra, 2016).

### **5.2.3 Manifestações Clínicas**

Com a carência de folato há uma diminuição de 5-metiltetrahydrofolato, necessário para a conversão da homocisteína em metionina, como tal, há hiperhomocistinemia que, quando severa, conduz ao aumento do risco de trombose no indivíduo (como referido anteriormente).

A deficiência em folatos na grávida pode contribuir para abortos espontâneos, descolamento da placenta, atrasos na linguagem e má formação congénita no feto, nomeadamente defeitos no tubo neural (DTN). Suplementos de ácido fólico na altura da conceção e durante as primeiras 12 semanas de gestação, diminuem cerca de 70% dos casos de defeitos no tubo neural dos fetos. A ingestão de fármacos anti-folato e anti-epiléticos, também podem levar a DTN (Longo *et al.*, 2013).

Uma diminuição de folatos associada a um aumento de homocisteína, são considerados fatores de risco de declínio da função cognitiva em idosos ativos.

### **5.3 Ingestão Continuada de Álcool e Doença Hepática**

O alcoolismo interfere com a hematopoiese e tem um efeito hepatotóxico que pode levar a hepatite, cirrose ou esteatose hepática, podendo também manifestar-se pela presença de anemia macroscítica, pertencente à categoria das anemias não-megaloblásticas. A anemia de etiologia alcoólica pode estar, ou não, associada a doença hepática, sendo que a sintomatologia relacionada com o alcoolismo ou hepatopatias é mais evidente do que a sintomatologia associada à anemia (Failace & Fernandes, 2015).

É caracterizada por uma diminuição na contagem de eritrócitos e concentração de Hb, percentagem de Htc e macróscitos de forma redonda. Há ainda presença de anisocitose moderada e poiquilocitose (predomina a morfologia eritrocitária em forma de alvo e estomatócitos). É possível a observação de leucopenia e trombocitopenia. Ao contrário das anemias megaloblásticas, não há presença de hipersegmentação nos neutrófilos (Bain, 2016).

Em caso de hepatopatia crónica, há um aumento de imunoglobulinas que leva a um aumento de produção de *rouleaux*. Nas hepatopatias alcoólicas agudas, existe anemia hemolítica que se manifesta através da presença de icterícia, hiperlipidemia e esteatose hepática alcoólica, designado como síndrome de Zieve (Bain, 2016; Shukla *et al.*, 2015).

Para além das alterações a nível do hemograma e da morfologia eritrocitária, as anemias macrofíticas devido à ingestão excessiva de álcool, apresentam alterações noutros parâmetros analíticos, entre os quais valores de folato eritrocitário normal ou baixo, sendo que a deficiência de folatos nos alcoólicos é comum, que pode ser justificado por uma dieta inadequada, má absorção, redução das reservas de folato no organismo (devido à diminuição da capacidade do fígado), e de aumento da excreção de folatos pela urina (Bain, 2016; Medici & Halsted, 2013).

Com a ingestão continuada de álcool, estão frequentemente associadas anomalias nos parâmetros hepáticos, como as transaminases (ALT e AST) e gama-glutamyl-transferase (GGT). Se existirem lesões no fígado, a libertação de TCII é superior o que, por sua vez, conduz ao aumento da vitamina B12 sérica nestes indivíduos.

#### **5.4 Fármacos**

Existem determinados fármacos que, pela sua utilização, podem levar ao aparecimento de anemia macrofítica nos indivíduos.

No caso dos fármacos que induzem a presença de anemia magaloblástica, os mecanismos utilizados englobam, por exemplo, interferência/inibição da síntese de pirimidinas e/ou de purinas, prejudicando dessa forma a síntese de DNA. Esses fármacos são utilizados com alguma frequência na prática clínica.

O mecanismo de ação destes fármacos incide na interferência a nível da disponibilidade/utilização de ácido fólico ou vitamina B12, através de anomalias induzidas na absorção, no transporte de folato e vitamina B12, na competição por enzimas redutoras, na inibição do produto final de reações mediadas por cofator ou destruição física das vitaminas (Hesdorffer & Longo, 2015).

A terapêutica antineoplásica, antibacteriana (p. ex., sulfonamidas) interfere/provoca a inibição da síntese de timidina e, conseqüentemente, a síntese de DNA (Hesdorffer & Longo, 2015).

São exemplo de inibidores da síntese de purinas, os seguintes fármacos: azatioprina; micofenolato de mofetil; metotrexato e alopurinol (Hesdorffer & Longo, 2015).

Leflunomida e o seu metabolito ativo (tetraflunomida) interferem com a síntese de pirimidinas através da inibição da enzima dihidroorotato desidrogenase envolvida na síntese de uridina (Hesdorffer & Longo, 2015; Leban & Vitt, 2011).

O óxido nitroso, utilizado como um anestésico gasoso, inibe a conversão da vitamina B12 na forma reduzida a oxidada, comprometendo as reações de metilação e a síntese de DNA (Hannibal *et al.*, 2016).

No caso do ácido fólico, o uso de contraceptivos ainda é controverso. Pensa-se que a sua interferência se deve a uma inibição parcial da desconjugação intestinal das formas poliglutaminicas de ácido fólico, o que corrobora o fato de que mulheres que utilizam contraceptivos orais apresentam níveis de ácido fólico normais, desde que não existam problemas na absorção ou hábitos alimentares inadequados em ácido fólico. A utilização de medicamentos anticonvulsivos (p. ex., fenitoína), levam a valores séricos de ácido fólico baixos. Pensa-se que os mecanismos associados a estes fármacos seja a interferência no transporte da vitamina e o aumento da atividade enzimática microsomal do fígado, e que pode resultar no aumento do uso de ácido fólico, conduzindo à sua diminuição. Outros fármacos análogos ao ácido fólico (p.ex., metatrexato, trimetoprim), tendem a interferir no seu metabolismo, impedindo a conversão de dihidrofolato em tetrahidrofolato, uma vez que se ligam à enzima dihidrofolato redutase (Hesdorffer & Longo, 2015).

No caso da vitamina B12, fármacos como ácido aminossalicílico, colchicina, neomicina e metformina, interferem com a sua absorção. Uma vez que a quantidade de vitamina B12 requerida pelo organismo é baixa e que, geralmente, a quantidade presente na dieta é elevada, a anemia megaloblástica provocada por estes fármacos é rara. Na maioria dos casos, acredita-se que o problema na absorção seja secundário a um efeito dos fármacos na mucosa intestinal do íleo terminal (Hesdorffer & Longo, 2015).

Mecanismos como o aumento do pH intestinal, também podem decorrer da utilização de determinados fármacos, assim como a inibição da produção de FI (p. ex., devido a inibidores da bomba de prótons) que vai diminuir a absorção da vitamina B12 (Hesdorffer & Longo, 2015).

No anexo IV, encontram-se alguns dos fármacos que causam anemia macrofítica.

### 5.5 Hipotiroidismo

O hipotiroidismo é um distúrbio endócrino, caracterizado pela deficiência de hormonas tiroideias. A anemia está presente em 20-60% dos casos de hipotiroidismo, sendo, na maioria das vezes normocítica normocromica, embora também possa ser microfítica hipocromica ou macrofítica. Geralmente, no hipotiroidismo, o volume plasmático pode estar diminuído o que pode mascarar a presença da anemia, com valores aparentemente normais de Hb. Após reposição do volume plasmático, a Hb assume valores mais baixos e indicativos de presença de anemia (Erdogan, Kosenli, Sencer & Kulaksizoglu, 2012).

A deficiência das hormonas da tiróide interfere com a eritropoese pela sua influência sobre a eritropoetina. Da carência das hormonas da tiróide, o metabolismo da Epo diminui, reduzindo a necessidade de oxigénio para os tecidos que, por sua vez, leva à diminuição da produção de eritropoetina e diminuição da eritropoese. Este mecanismo baseia-se no fato da estimulação para a produção e libertação de Epo pelos rins, não derivar apenas da concentração de oxigénio presentes mas, também, das necessidades metabólicas de oxigénio (Das, Sahena, Sengupta, Giri, Roy & Mukhopadhyay, 2012).

A anemia é hipoproliferativa e pode ser leve a moderada, consoante a severidade do hipotiroidismo presente. A MO nestes casos, costuma ser hipocelular. As hormonas tiroideias estimulam a produção de 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG) que, por sua vez, ajuda na transição de oxihemoglobina a desoxihemoglobina. Ao saturar, a desoxihemoglobina permite a libertação e transmissão de oxigénio para os tecidos. Com as hormonas tiroideias reduzidas, também diminui o 2,3-DPG disponível, diminuindo a taxa de oxigenação dos tecidos (Erdogan *et al.*, 2012).

Pode ser possível a associação de deficiência em vitamina B12 a casos de hipotiroidismo, deficiência essa que agrava consoante a idade. As causas para a presença da carência nutricional podem variar desde ingestão insuficiente, mudança de

absorção decorrente da desaceleração da motilidade intestinal, anemia perniciosa, edema da parede intestinal ou infiltração bacteriana (Erdogan *et al.*, 2012).

A anemia macrofítica no hipotiroidismo, também pode decorrer, embora raramente, de interferências na absorção de ácido fólico, em que a presença de hipotiroidismo provoca a diminuição a nível hepático de dihidrofolato redutase e a enzima metil-tetrahidrofolato redutase, necessárias no metabolismo do folato (Erdogan *et al.*, 2012).

## **5.6 Reticulocitose**

Os reticulócitos são eritrócitos imaturos, com conteúdo de RNA ribossômico, que são libertados da medula óssea para o sangue periférico (SP), no qual maturam após 24h, em eritrócitos. Quando a contagem reticulocitária é superior a cerca de 3% no SP, considera-se que há reticulocitose. Pode ser possível a observação, por microscopia, da reticulocitose que em lâmina se manifesta como policromatocitose, células macrofíticas coradas de azul arroxeadas.

Quando a reticulocitose é marcada, o VGM tende a aumentar significativamente, manifestando a presença de macrocitose. No entanto, caso estejam associadas causas de microcitose, estabelece-se um equilíbrio, e o VGM apresenta-se normal, mas o RDW está aumentado (em consequência da anisocitose).

### **5.6.1 Anemia Hemolítica**

A anemia hemolítica (AH) é caracterizada pela presença de hemólise, em que a MO não tem capacidade para repor o número de eritrócitos para valores normais e superar a taxa de débito eritrocitário, levando à sua diminuição e conseqüente decréscimo da concentração das concentrações de Hb. São exemplo, as infecções virais, nomeadamente infecções por Parvovírus B19, em que a sua citotoxicidade resulta na supressão da medula óssea, impedindo a eritropoiese através da destruição dos precursores eritróides e impossibilitando uma resposta compensatória à hemólise por parte da MO. A infecção por dengue também pode conduzir a uma aplasia significativa, nestes casos. Situações de gravidez, carência de folatos ou insuficiência renal, podem conduzir igualmente à descompensação da produção de eritrócitos e desenvolvimento de anemia. Nos casos em que o mecanismo compensatório da medula óssea é eficaz, a anemia pode não estar presente (Schick, 2016).

A hemólise corresponde à destruição e diminuição do tempo médio de vida dos eritrócitos. Consoante o local em que decorre, a hemólise pode ser intravascular (p. ex., devido a válvulas cardíacas protéticas; deficiência em glucose-6-fosfato desidrogenase; púrpura trombocitopénica trombótica, coagulação intravascular disseminada, transfusão de sangue incompatível com o grupo ABO, hemoglobinúria paroxística noturna), extravascular (p. ex., anemia hemolítica autoimune e esferocitose hereditária) ou intramedular (como é exemplo a anemia perniciosa e a talassémia major) (Schick, 2016).

Na hemólise intravascular crónica, é comum o desenvolvimento de carência de ferro, porque há um aumento das perdas do mesmo, enquanto que na hemólise extravascular é o inverso, há acumulação de ferro (principalmente em indivíduos que tenham recebido transfusões), que pode levar a hemocromatose secundária, o que conduz a cirrose e insuficiência cardíaca. O seu desenvolvimento pode ocorrer gradualmente ou de forma abrupta, sendo que, nesta última, a anemia é mais severa. As AH intravascular também são caracterizadas pela presença de hemoglobinemia livre e hemoglobinúria (Longo *et al.*, 2013).

A nível de sinais e sintomas clínicos, destaca-se a presença de icterícia, palidez, podendo em casos mais severos levar à formação de esplenomegalia ou hepatoesplenomegalia (caso a hemólise seja elevada no baço ou no fígado e baço, respetivamente), anginas, taquicardia, dispneia. Podem apresentar ainda, anomalias esqueléticas (p. ex., abalamento do crânio, proeminência dos maxilares) devido à hiperatividade da MO (Longo *et al.*, 2013).

A hemólise pode decorrer por um período transitório, do qual não resultam consequências. A longo prazo há, no entanto, uma demanda maior de fatores eritropoéticos, principalmente de ácido fólico, que pode levar rapidamente ao desenvolvimento de anemia megaloblástica. Se a hemólise for persistente, pode ser notada esplenomegalia, neutropénia e/ou trombocitopénia, assim como uma elevação marcada de bilirrubina, que pela sua produção massiva pode conduzir à formação de cálculos biliares (Longo *et al.*, 2013).

As anemias hemolíticas hereditárias, englobam anomalias na hemoglobina, anomalias na membrana do eritrócito (p. ex., esferocitose e eliptose hereditárias) e anomalias nos

fatores necessários para garantir o bom funcionamento da Hb e do complexo citoesqueleto-membrana do eritrócito, como por exemplo anomalias associadas às enzimas (como a deficiência em G6PD) (Bain, 2016).

As anemias hemolíticas também podem ser resultado de distúrbios adquiridos, nomeadamente: distúrbios imunes; fármacos (p. ex., agentes antivirais); lesões físicas ou de infeções (Schick, 2016).

Nos casos de anemia intravascular crónica, o VGM pode surgir diminuído, pelo consumo elevado das reservas de ferro, que vão gerar uma população microfítica e hipocromica. No entanto, há casos que induzem o aumento do VGM, que pode ser devido à presença de reticulocitose ou se a hemólise for crónica, em que há um aumento da necessidade de folatos para a eritropoiese, que pode até levar à instalação de anemia megaloblástica em casos severos. Um aumento dos índices hematimétricos CHGM e HGM, é sugestivo de esferocitose hereditária. O RDW geralmente, está aumentado.

É comum a observação laboratorial de macrocitose; reticulocitose (em casos regenerativos, que se traduz por policromatose no sangue periférico); diminuição ou ausência de haptoglobina, presença de urina escura, níveis elevados de LDH e bilirrubinas (principalmente da bilirrubina não-conjugada); aumento de AST e aumento de urobilinogénio na urina e fezes, resultantes da hemólise. Em situações de hemólise predominantemente intravascular, pode ser notada a presença de hemoglobinúria (frequentemente associada a hemossiderinúria) e, por vezes, de eritrócitos imaturos com presença de núcleo. Se o funcionamento da MO for normal, esta é geralmente, hiperplásica. Se a anemia hemolítica derivar da deficiência em G6PD, poderá ser possível a observação de corpos de Heinz nos eritrócitos (Longo *et al.*, 2013; Schick, 2016).

Em caso de dúvida, também se pode proceder à realização do teste da antiglobulina direto (TAD), a fim de determinar se se trata de uma anemia hemolítica autoimune (AHAI). Geralmente, em casos de AHAI o teste da antiglobulina direto apresenta-se positivo, embora nem sempre dado que, por vezes, os níveis de autoanticorpos são demasiado baixos para serem detetados pelo TAD. Quando negativo, existem testes alternativos como os imunoensaios radiométricos, para confirmar o diagnóstico (Schick, 2016).

### 5.6.2 Hemorragia Aguda

A perda aguda de sangue (interna ou externa), pode provocar a instalação de anemia no indivíduo, uma vez que há uma diminuição significativa do número de eritrócitos.

Caso a hemorragia seja prolongada, as reservas do organismo começam a diminuir de forma progressiva, sendo as reservas de ferro as mais afetadas. Com a hemorragia, surge a hipovolemia, à libertação de vasopressina que leva à passagem do líquido do compartimento extravascular para o intravascular, gerando hemodiluição e anemia. A MO aumenta a taxa de produção eritrocitária, libertando para a corrente sanguínea eritrócitos imaturos (reticulócitos), que vão aumentar o VGM. Nos casos em que a hemorragia se prolonga por algum tempo e as reservas de ferro ficam diminuídas, já não é evidente o aumento do VGM (Longo *et al.*, 2013).

### 5.7 Síndromes Mielodisplásicas (SMD)

O acrónimo SMD refere-se a um grupo heterogéneo de doenças clonais mielóides, caracterizadas pela hematopoiese ineficaz com presença de uma ou mais citopenias e displasia em pelo menos uma linhagem mielóide (Besa, 2016).

O diagnóstico é feito com base na clínica, na citogenética, estudos moleculares, observação do sangue periférico e da medula óssea, sendo os últimos dois os de maior importância. A percentagem de blastos observados no SP e na MO tem que ser inferior a 20% e a contagem de monócitos inferiores a  $1 \times 10^9/L$ , para se confirmar o diagnóstico (Tefferi & Vardiman, 2009).

A maioria dos indivíduos com SMD manifesta anemia, geralmente, macrofítica, com presença de macrócitos com contornos ovais, anisocitose, poiquilocitose e população dimórfica (população macrofítica e população normocítica ou população microfítica hipocrómica). Pode observar-se neutropenia ou trombocitopenia (raramente é reportada trombocitose), manifestando-se, por exemplo, pelo aparecimento de petéquias e epistaxis. Nos indivíduos que apresentem neutropenia, com infeções fúngicas ou bacterianas, o aparecimento de manifestações clínicas como febre, disúria ou tosse, são comuns. É possível observar pontuado basófilo nos eritrócitos, os neutrófilos podem apresentar ausência de segmentação nuclear ou núcleo bilobado ou hipersegmentado, bem como, hipogranulação. Relativamente às plaquetas podem observar-se aumento no

seu tamanho (plaquetas gigantes) e, tal como nos neutrófilos, hipogranularidade (Bain, 2016; Besa, 2016; Tefferi & Vardiman, 2009).

A medula óssea normalmente é hiper celular, embora seja possível encontrar casos em que a MO é hipocelular, podendo assemelhar-se a anemia aplásica. Apresenta ainda, diseritropoiese, assincronismo maturativo, os precursores eritróides possuem dois ou mais núcleos e sideroblastos em anel (Besa, 2016).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), os SMD diferenciam-se em: SMD com citopenia refractária e displasia unilinhagem (engloba as anemias, neutropenias e trombocitopenias refractárias), anemia refractária com sideroblastos em anel, SMD com citopenia refractária e displasia multilinhagem, anemia refractária com excesso de blastos (engloba dois subtipos), SMD com anomalia cromossómica (p. ex., deleção no braço longo do cromossoma 5), SMD infantil e, por último, as SMD não classificáveis (Besa, 2016; Vardiman *et al.*, 2009).

### **5.8 Anemia Aplásica**

A anemia aplásica (AA), é um distúrbio caracterizado pela supressão da medula óssea (hipocelular), da qual deriva a aplasia medular, manifestação de anemia e pancitopénia no sangue periférico, com linfócitos de valor normal ou baixo, reticulócitos ausentes ou diminuídos, eritrócitos normocíticos normocromicos ou macrofíticos. Não são observáveis precursores granulocíticos e eritroblastos no sangue periférico (Bain, 2016; McCormack, 2015).

Para o diagnóstico diferencial da AA, os pacientes com suspeita devem fazer o despiste necessário para descartar situações em que a MO é igualmente hipocelular, como algumas mielodisplasias, leucemias, insuficiência da medula congénita, infeções e anemia hemoglobinúria paroxística noturna (PNH). No entanto, estabelecer uma distinção nem sempre seja possível em alguns casos (Miano & Dufour, 2015).

A anemia aplásica pode ser constitucional (de causa genética) ou adquirida. Na AA adquirida, para além da pancitopenia periférica e da aplasia medular, não há infiltração neoplásica, mieloproliferativa ou fibrose na MO, apenas substituição progressiva do parênquima medular por tecido adiposo. Em casos mais severos, pode existir macrocitose associada, podendo ser possível a observação de neutrófilos com grânulos grosseiros, embora as plaquetas geralmente sejam normais a nível morfológico. Na

maioria dos casos, a origem é idiopática, suspeitando-se que decorra de mecanismos autoimunes associados aos linfócitos T; pode ocorrer pelo uso de fármacos ou agentes químicos (p. ex., benzeno, cloranfenicol, sulfonamidas, fármacos antilblásticos ou antitireoideos), infecção viral (p. ex., vírus Epstein-Barr), exposições a tóxicos industriais ou radiação ionizante (Miano & Dufour, 2015; Longo *et al.*, 2013).

Na tabela 4 encontra-se a classificação das anemias aplásicas e respectivas etiologias.

Tabela 4 - Classificação das anemias aplásicas e etiologias associadas. AA= Anemia aplásica.

<b>AA adquirida</b>	<b>AA constitucional</b>
Radiação	Anemia de Fanconi
Fármacos	Disceratose congénita
Infeção Viral (p. ex., Epstein-Barr, Parvovirus B19, Hepatite exceto A,B e C)	Síndrome de Down

A anemia de Fanconi é a AA constitucional mais prevalente, consiste num distúrbio autossómico recessivo que se manifesta pela presença de anomalias congénitas, pancitopenia e que apresentam um risco acrescido de desenvolver cancro. Geralmente, os indivíduos podem apresentar anomalias na pigmentação da pele, anomalias urogenitais, atraso mental, anomalias nos dedos e nos membros. (Bain, 2016) A anemia de Fanconi, apresenta vários subtipos, de acordo com as mutações que podem ocorrer em genes distintos, que vão levar ao mesmo fenótipo. A anemia de Fanconi pode progredir para síndromes mielodisplásicas ou leucemia mieloide aguda. A disceratose congénita, é outra AA constitucional que é caracterizada por AA na infância, leucoplasia das mucosas, unhas distróficas, hipersegmentação reticular (Longo *et al.*, 2013). É um distúrbio que tanto pode ser autossómica dominante, autossómica recessiva como recessiva ligada ao sexo (Bain, 2016).

Nas AA constitucionais, é maioritariamente macrofítica, com reticulocitopenia e trombocitopenia associada, sendo esta última, muitas vezes, o sinal mais precoce. A pancitopenia tende a surgir com o passar do tempo, pode existir também anisocitose e poiquilocitose acentuadas no SP (Bain, 2016).

Na MO, para além da hipoplasia referida anteriormente, através da aspiração medular é possível a observação de eritrócitos, linfócitos residuais e conteúdo do estroma. Na biopsia da MO, é mais perceptível a celularidade existente, sendo que em casos moderados é inferior a cerca de 25% e nos casos mais severos, é praticamente nula. A presença de granulomas na MO, pode ser indicativo de etiologia infecciosa. A relação entre a percentagem de celularidade existente na MO e a severidade da AA, não é possível de determinar, dado que esta varia com a idade, sendo que há casos de AA severa com presença de alguma celularidade e casos menos severos, com celularidade mais reduzida, comparativamente (Longo *et al.*, 2013).

## **6. Macrofite com Ausência de Anemia**

A macrofite nem sempre é acompanhada pela presença de anemia. Alguns exemplos são: ingestão de álcool, doença hepática, casos de obesidade e dislipidemia que, devido à deposição elevada de colesterol ou fosfolípidos na membrana dos eritrócitos, levam ao aumento do tamanho dos mesmos (Herrin, 2015; Longo *et al.*, 2013).

A hemocromatose hereditária, caracteriza-se pela desregulação da absorção intestinal de ferro, com consequentes depósitos do mesmo nas células parenquimatosas, provocando lesões e comprometimento da função de vários órgãos, nomeadamente do fígado. Derivado das lesões hepáticas, surge o aparecimento de macrofite no sangue periférico. Indivíduos com doença pulmonar obstrutiva crónica também apresentam macrofite, havendo retenção de dióxido de carbono devido a um excesso de acumulação de água nos eritrócitos (Herrin, 2015; Longo *et al.*, 2013).

O tratamento instituído em indivíduos com HIV, com fármacos inibidores da transcriptase reversa (p. ex. estavudina, lamivudina, zidovudina), levam à manifestação de macrofite sem presença de anemia associada (Kaferle & Strzoda, 2009).

## **7. Diagnóstico Laboratorial da Anemia Macrofítica**

O diagnóstico laboratorial baseia-se na realização de determinados parâmetros analíticos como por exemplo: o hemograma, doseamento sérico de vitamina B12 e dos seus metabólitos, do folato sérico ou intra-eritrocitário, na determinação da presença de anticorpos anti-FI, anti-células parietais, na observação do esfregaço sanguíneo por microscopia e, se necessário, na biópsia ou aspiração medular.

### 7.1 Parâmetros Realizados

Geralmente, o hemograma é o parâmetro de primeira instância e mais frequentemente pedido pelo clínico, em casos de suspeita de anemia, conferindo ao mesmo as informações necessárias para o despiste de uma eventual anemia e indicando quais as análises seguintes a realizar, de modo a determinar a sua etiologia. O hemograma é constituído por três componentes: a parte referente ao eritrograma, o leucograma e o trombocitograma. Na suspeita de anemia, a componente que é mais significativa é o eritrograma, composto pela contagem do número de eritrócitos, o doseamento da Hb, determinação do hematócrito, os índices eritrocitários (VGM, HGM, CHGM e RDW), histogramas eritróides e, quando pedido, a contagem de reticulócitos (Failace & Fernandes, 2015).

O doseamento da Hb, a contagem eritrocitária e a determinação do hematócrito, permitem determinar a presença e severidade da anemia.

A caracterização detalhada dos índices hematimétricos, encontra-se no subcapítulo 2.2. Como referido anteriormente nesse subcapítulo, o índice eritrocitário VGM, permite diferenciar entre anemias macrofíticas, normocfíticas ou microfíticas e a junção do HGM e CHGM entre anemias normocromicas ou hipocromicas. Nas anemias macrofíticas, o VGM é superior a 100 fL e o HGM e CHGM apresentam valores normais ou ligeiramente superiores.

Em certos casos de anemia macrofítica, pode estar presente uma diminuição nas plaquetas e nos leucócitos com presença de neutrófilos hipersegmentados, RDW aumentado (que reflete a presença de anisocitose), com contagem de reticulócitos diminuída.

É importante referir que em determinados casos existe uma simulação do quadro anémico que, na verdade, não se confirma, revelando-se ser uma pseudoanemia. São casos em que há alterações a nível do volume plasmático, como na gravidez, em que o seu aumento leva a uma hemodiluição da concentração de hemoglobina para valores falsamente mais baixos. Nos casos em que há diminuição do volume plasmático, o efeito é inverso, pode mascarar a presença de anemia, como é exemplo a anemia associada ao hipotireoidismo, que apresenta valores de Hb supostamente normais, mas após normalização do volume plasmático diminui rapidamente.

A determinação da contagem dos reticulócitos permite determinar o estado do funcionamento medular, bem como, a presença de hemólise. Uma contagem de reticulócitos  $< 1\%$  indica que a MO não está a reagir como seria esperado, a produção não é eficaz, enquanto que a presença de reticulocitose  $> 4\%$ , está associada à presença de uma anemia hemolítica. Nos casos de reticulocitose é pertinente a realização do teste de antiglobulina direto (também designado de teste de Coombs) que, se for positivo, sugere a presença de anemia hemolítica autoimune, anemia induzida por fármacos (p. ex., penicilina ou algumas cefalosporinas) ou reações hemolíticas devido a transfusões (Herrin, 2015).

A fim de confirmar um quadro de anemia hemolítica, podem determinar-se parâmetros como a bilirrubina não-conjugada e a lactato desidrogenase (LDH), que se apresentam elevados na presença de hemólise, e a haptoglobina que se encontrará diminuída ou ausente (Herrin, 2015).

O doseamento sérico de vitamina B12, pode apresentar-se normal ou elevado em casos de doença hepática, de distúrbios mieloproliferativos, de deficiência congénita de transcobalamina II ou de aumento do crescimento bacteriano no intestino. Se a deficiência em vitamina B12 for a causa da anemia, o seu doseamento vai, geralmente, apresentar níveis baixos de cobalamina. Por vezes, o doseamento sérico de vitamina B12 não é fiável dado que pode reportar concentrações baixas sem que exista carência da mesma, resultando da diminuição ou ausência de haptocorrinas. Pode também apresentar níveis normais em indivíduos com AP quando existem concentrações elevadas de anticorpos anti-FI, dado que podem interagir e afetar o local de ligação do FI utilizado em muitos dos ensaios. Anteriormente, para confirmação de carência de vitamina B12 com níveis séricos baixos, procedia-se à realização do teste de Schilling. Atualmente, é feita a pesquisa de anticorpos anti-FI e anti-células parietais (Green & Mitra, 2016; Longo *et al.*, 2013).

No caso da suspeita de anemia perniciosa, pode ainda recorrer-se à determinação da gastrina sérica e do pepsinogénio I sérico, em que, geralmente, o primeiro apresenta valores elevados e o segundo valores diminuídos, indicativo de gastrite atrófica (Longo *et al.*, 2013).

Ainda para o diagnóstico laboratorial de deficiência em vitamina B12, pode ser utilizado o doseamento da holotranscobalamina (também designada como a fração ativa da vitamina B12), que corresponde ao complexo cobalamina-TCII. A holotranscobalamina reflete cerca de 10-30% da vitamina B12 total no organismo. Pode ser utilizada isoladamente ou em conjunto com a determinação de vitamina B12 total e/ou com os seus metabolitos (homocisteína e ácido metilmalónico). O doseamento da holotranscobalamina é mais indicado, comparativamente com o doseamento do complexo Cbl-HC (apesar deste representar cerca de 70-90% da vitamina B12 total), dado que, a holotranscobalamina é a transcobalamina responsável pelo fornecimento da vitamina às células, contrariamente à haptocorrina. Mutações do gene da transcobalamina (TCN2), podem conduzir a valores falsamente diminuídos de holotranscobalamina (Green, 2017; Green & Mitra, 2016; Hannibal *et al.*, 2016).

Para testar a carência de folatos, pode realizar-se o doseamento sérico de ácido fólico, no entanto, há autores que referem o doseamento de folato intra-eritrocitário como mais fiável, dado que reflete a concentração de folato presente durante o período de vida dos eritrócitos e que é menos sujeito a interferências da dieta e da hemólise, comparativamente com o ácido fólico sério (Longo *et al.*, 2013).

A fim de diferenciar a anemia por carência de vitamina B12 da anemia por carência de folatos, o doseamento da homocisteína e ácido metilmalónico são úteis, sendo que, no caso de existir carência em vitamina B12, ambos estão elevados embora a homocisteína possa estar por vezes normal, enquanto que, em caso de deficiência em folatos, apenas a concentração de homocisteína se encontra elevada. O doseamento da homocisteína está elevado em ambas as carências nutricionais, uma vez que ambas as vitaminas são necessárias para a conversão da homocisteína em metionina, como visto anteriormente. Em caso de deficiência em vitamina B12, a determinação de ácido metilmalónico é não só útil no diagnóstico, como na monitorização da eficácia da terapêutica instituída. No entanto, o doseamento de MMA pode sofrer influência em casos de insuficiência renal, reportando concentrações elevadas nestas situações. Os valores da homocisteína aumentam com o consumo de tabaco e de café, assim como, na insuficiência renal crónica e no hipotiroidismo (Benoist, 2008; Green & Mitra, 2016; Williamson & Snyder, 2016).

Nos casos severos de carência de vitamina B12, é igualmente importante proceder ao doseamento de ferro e/ou ferritina, uma vez que com a terapêutica a medula óssea vai aumentar a necessidade de ferro para a hematopoiese (Bizzaro & Antico, 2014).

Na figura 10 está representado um diagrama para a determinação laboratorial do diagnóstico da anemia macroscítica.

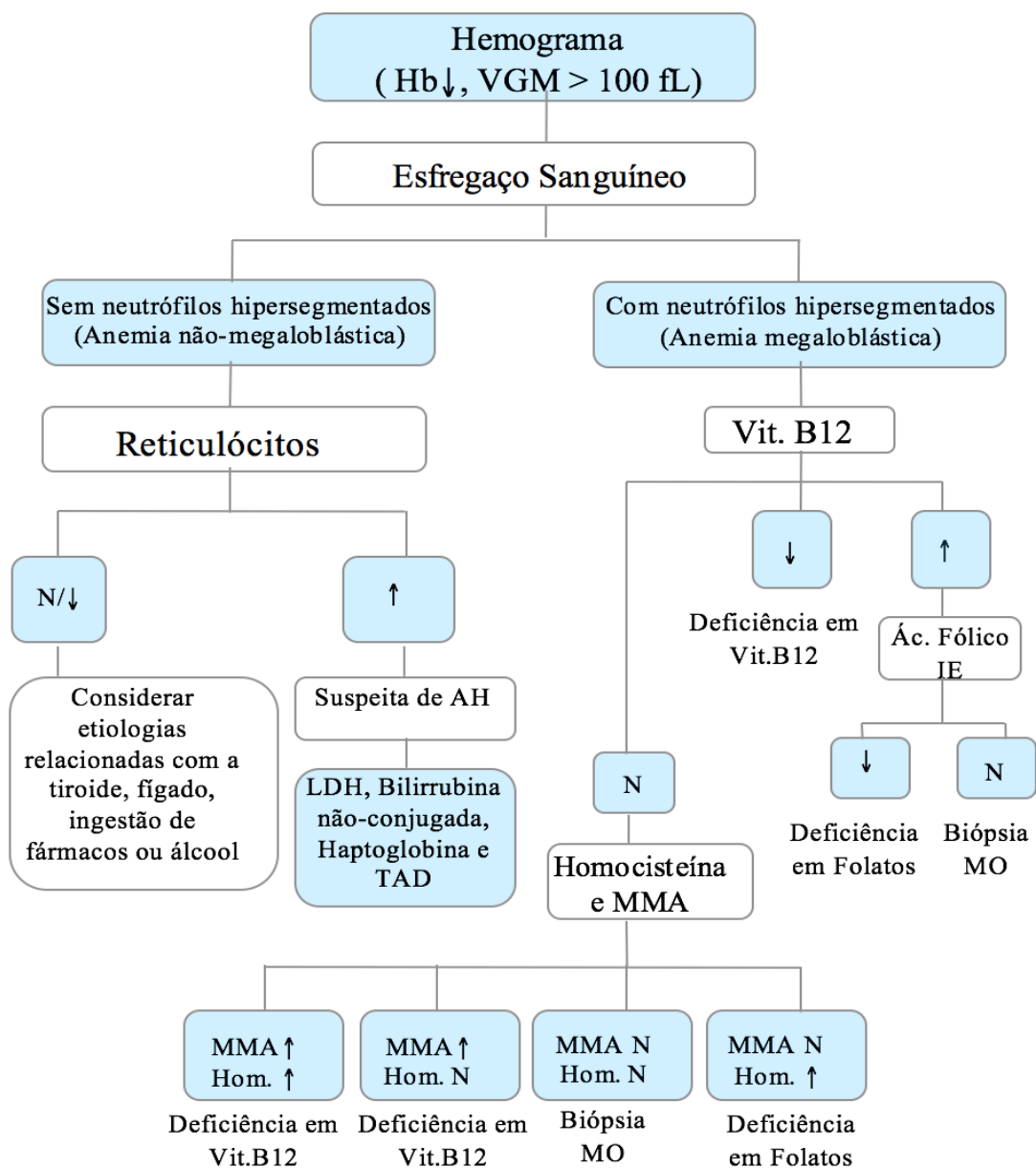


Figura 10 - Diagrama no diagnóstico laboratorial da anemia macroscítica. AH = anemia hemolítica, LDH = lactato desidrogenase, TAD = teste de antiglobulina.

## 7.2 Esfregaço Sanguíneo e Morfologia Eritrocitária

Através do estudo do esfregaço sanguíneo é possível a observação da morfologia eritrocitária, que permite a obtenção de diversas informações úteis na determinação do diagnóstico e da etiologia da anemia, permitindo também diferenciar a anemia macrofítica em anemia megaloblástica ou não-megaloblástica.

A anemia macrofítica pode ser caracterizada pela presença de macrócitos de contorno oval, poiquilocitose, anisocitose, que em associação com a presença de hipersegmentação dos neutrófilos, remete caracteristicamente para as anemias megaloblásticas, ou pela presença de macrócitos redondos, que caracteriza a doença hepática, alcoolismo ou casos de infiltração medular. Na anemia megaloblástica, podem estar igualmente presentes, eosinófilos hipersegmentados, pontuado basófilo e corpos de Howell-Jolly. Em casos mais severos, ocorre diminuição do número de leucócitos (linfopenia e neutropenia) e a poiquilocitose e a anisocitose são mais evidentes (Ford, 2013; Bain, 2016).

Em indivíduos esplenomegalizados ou com hipoesplenismo, podem ser encontrados corpúsculos de Pappenheimer e grande número de corpos de Howell-Jolly. Fora as situações mencionadas, caso estejam presentes pode ser indicativo de doença celíaca (Bain, 2016).

A observação de eritrócitos nucleados, em forma de gota, diminuição do número de plaquetas, leucócitos imaturos com neutrófilos hiposegmentados ou hipogranulados, é sugestivo de leucemia ou síndrome mielodisplásica, devendo ser feita uma biópsia medular, a fim de confirmar o diagnóstico.

Quando a anemia macrofítica deriva de hemorragias ou hemólise, é possível a observação de policromatocitose, indicativo de reticulocitose.

Também se podem observar, aglutinações (conduz ao falso aumento do VGM) devido, por exemplo, à presença de crioaglutininas ou eritrócitos em forma de célula-alvo caracteristicamente associado a doença hepática, como hepatites, icterícia obstrutiva e alcoolismo.

A macrocitose com etiologia farmacológica, pode estar associada a anemia ou não e, geralmente, o número de neutrófilos hipersegmentados é menor comparativamente com anemias macrobióticas de cariz nutricional (Bain, 2016).

### **7.3 Biópsia e Aspiração Medular**

De uma forma geral, nas anemias macroscítica a medula óssea apresenta-se hiperclular, no entanto, também existem casos em que a MO é comprometida e a hematopoiese é suprimida, como são exemplo situações de anemia hemolítica associada a infeção viral (p. ex., por parvovirus B19), nas quais pode surgir aplasia ou hipocelularidade medular. É possível a presença de assincronismo maturativo e hiperplasia granulocítica com metamielócitos gigantes e formas em banda (Herrin, 2015).

A terapêutica com recurso a transfusões sanguíneas e com utilização de cobalamina ou folatos, têm a capacidade de reverter rapidamente as características megaloblásticas, quando presentes, na medula óssea. Como tal, a realização da biópsia ou aspiração medular impõe que nenhuma terapêutica anteriormente referida seja instituída, antes dos exames (Herrin, 2015).

## **8. Terapêutica da Anemia Macroscítica**

A terapêutica instituída varia consoante a etiologia, severidade da anemia, sendo que as transfusões sanguíneas estão reservadas para casos de anemia grave ( $Hb < 7$  g/dL) e sintomatologia severa, em que a descompensação pode por em risco a vida do doente.

Nos casos em que a anemia se deve a deficiências de cobalamina, a terapêutica pode corrigir de forma permanente a causa da deficiência (como é exemplo a ténia do peixe e o “sprue” tropical); noutros casos, o tratamento é contínuo, até ao final de vida.

A terapia envolve, geralmente, injeções intramusculares de Cbl, que podem ser sob a forma de cianocobalamina ou hidroxicobalamina, na dose de 1000 µg diários por um período de duas semanas, passando depois para injeções semanais até estabilização do hematócrito. Após a estabilização, a manutenção consiste em injeções administradas uma vez por mês se for cianocobalamina, e uma injeção de três em três meses se se tratar de hidroxicobalamina (maior taxa de retenção), em qualquer dos casos até ao final da vida do indivíduo. Indivíduos cuja deficiência em Cbl se baseie em problemas relacionados com a sua absorção, são também indicados para terapia com Cbl intramuscular, dado que, dessa forma, o problema é ultrapassado (Longo *et al.*, 2013).

A terapia com Cbl, por via oral, também é utilizada em doses de 1000-2000 µg, embora não seja eficaz em alguns indivíduos, sendo importante a monitorização das dosagens, de modo a obter a resposta desejada, uma vez que a absorção da vitamina pode variar nos doentes. É indicado para indivíduos com hemofilia, substituindo as injeções intramusculares. A terapia com uso de Cbl oral, tem a vantagem de ser melhor tolerada pelos doentes e mais barata. Por vezes, o tratamento engloba Cbl intramuscular numa fase inicial, e Cbl oral a partir do momento em que a situação já está estabilizada. Nos casos em que ocorra uma gastrectomia total, parcial ou ressecção íleal, é conveniente iniciar uma terapia de substituição de modo a evitar o desenvolvimento de anemia megaloblástica. Em caso de desenvolvimento de reações alérgicas (raro) à terapêutica com Cbl, pode proceder-se a uma dessensibilização ou administração de anti-histamínicos ou glucocorticóides (Longo *et al.*, 2013).

Nos casos de anemia por deficiência em folatos, a terapêutica consiste na administração oral de folato, em doses de 5-15 mg, que garantem absorção suficiente de folatos, mesmo em casos de má absorção. O período de duração da terapia consiste em cerca de quatro meses, mas a causa da deficiência nutricional irá influenciar a duração do tratamento. A profilaxia com folato deve ser feita em idosos e em mulheres na altura da gravidez (dose diária de 400 µg), durante o período de lactação e perinatal, de modo a prevenir malformações no bebé. A terapia com administração de folato é também recomendada para casos de anemia hemolítica crónica (pelo aumento da necessidade de folato para a produção de eritrócitos); de hiperhomocisteinemia (para aumentar a taxa de conversão de homocisteína em metionina); em indivíduos sujeitos a processos de diálise por longo período de tempo; em casos de psoríase (devido à sua capacidade de redução dos efeitos secundários, causados pela hepatotoxicidade do fármaco metotrexato utilizado no tratamento); e na dermatite esfoliativa (Longo *et al.*, 2013; Strober & Menon, 2005).

Em bebés prematuros a incidência de carência de folatos é elevada, pelo que deve ser administrado 1 mg diário e em lactantes com peso inferior a 1.500 g no nascimento, que apresentem diarreia, vómitos ou infeções (Longo *et al.*, 2013).

É importante verificar se o indivíduo tem deficiência em cobalamina e, em caso afirmativo, antes de administrar suplementos de ácido fólico, caso contrário, podem desenvolver-se neuropatias, em consequência. Em administrações prolongadas de ácido

fólico é recomendada a monitorização sérica de cobalamina, de forma regular, para verificar se não há carência associada (Longo *et al.*, 2013).

Para as anemias macroscíticas causadas por administração de fármacos, é aconselhada a descontinuação da administração desses medicamentos. Se a ingestão de álcool for a causa, o quadro de anemia é revertido com a abstenção do mesmo (Longo *et al.*, 2013; Medici & Halsted, 2013).

Nos casos de carência de cobalamina ou folatos, podem ser tomadas medidas para orientar a alimentação do doente para alimentos mais ricos na vitamina em falta: consumo de carnes vermelhas em situações de carência de cobalamina e consumo de determinados vegetais em caso de deficiência de folatos.

Na anemia hemolítica, a monitorização da terapêutica é importante para constatar a sua eficácia, devendo proceder-se à determinação de parâmetros, como a lactato desidrogenase (LDH) e bilirrubina indireta. Em caso de estarem inicialmente elevadas, após a terapia, baixam para valores normais se esta for eficaz. Nos casos em que a LDH se mantém elevada com a terapia é indicativo de que esta não é eficaz, e que pode existir desenvolvimento de anemia ferropénica ou o diagnóstico inicial não ser o correto. A realização do hemograma é imprescindível para saber se os níveis de Hb aumentam com a terapia, sendo de esperar um aumento de 1 g/dL, semanalmente. Caso a Hb não apresente valores normais após 2 meses, é necessário investigar novas causas possíveis para a anemia. O hemograma permite ainda constatar se o número de plaquetas e leucócitos retomaram os valores de referência. A contagem de reticulócitos vai permitir verificar a existência de reticulocitose, após cerca de 3-5 dias de terapia, em caso desta ser eficaz. O potássio sérico, geralmente baixo em casos de deficiência nutricional de cobalamina ou folatos, deve ser também monitorizado e é recomendada a administração de suplementos do mesmo (Longo *et al.*, 2013).

Nos casos de indivíduos que apresentem anemia aplásica severa, o tratamento passa pelo transplante de MO (Longo *et al.*, 2013).

## **9. Conclusão e Perspetivas Futuras**

Apesar dos esforços realizados, a anemia continua a ter uma prevalência elevada numa escala nacional e mundial, o que reforça a importância da implementação de medidas e

estratégias que ajudem a prevenir, diagnosticar e monitorizar os casos, de forma a reduzir a sua prevalência.

A sensibilização na população é uma ferramenta importante, de modo a que sejam tidos em atenção cuidados a nível da dieta alimentar e a necessidade da realização de testes de rastreio anuais (como a realização de hemograma), que vão permitir um diagnóstico e um acompanhamento mais precoce desses casos, evitando manifestações clínicas mais severas nos indivíduos.

No caso concreto das anemias macrocíticas, as causas subjacentes são variadas, pelo que é crucial um estudo laboratorial objetivo e utilização de parâmetros mais sensíveis e específicos, para o diagnóstico correto da sua etiologia, a fim de determinar a terapêutica mais adequada e eficaz.

A investigação da macrocitose isolada sem presença de anemia associada, não deve ser menosprezada, uma vez que a macrocitose, por vezes, surge como a primeira evidência de existência de patologia subjacente e pode anteceder a anemia.

## 10. Referências Bibliográficas

Aminoff, M., Carter, J. E., Chadwick, R. B., Johnson, C., Gräsbeck, R., Abdelaal, M. A., Broch, H., Jenner, L. B., Verroust, P., Moestrup, S. K., Chapelle, A., Krahe, R. (1999). Mutations in CUBN , encoding the intrinsic factor-vitamin B 12 receptor , cubilin , cause hereditary megaloblastic anaemia 1, *21*(march), 309–313.

AMN gene. Genetic Home Reference. Consultado a 26/4/2017 através <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/AMN#resources>.

Andrès, E., Loukili, N. H., Noel, E., Kaltenbach, G., Abdelgheni, M. Ben, Perrin, A. E., Noblet-Dick, M., Maloisel, F., Schlienger, J., Blicklé, J. (2004). Vitamin B 12 (cobalamin) deficiency in elderly patients, *12*(3), 251–259.

Bain, B.J. (2016). *Células Sanguíneas, Um Guia Prático*, 5ª Edição. Artmed. ISBN: 978 – 85 – 8271 – 330 – 3.

Benoist B, McLean E, Egli I, Cogswell M. Worldwide prevalence of anemia 1993-2005. Global database on anemia. Geneva: WHO; 2008.

Benoist, D. (2008). Conclusions of a WHO Technical Consultation on folate and vitamin B 12 deficiencies, *29*(2), 238–244.

Besa, E. (2016). Myelodysplastic Syndrome. Medscape. Consultado a 5/12/2016 através <http://emedicine.medscape.com/article/207347-overview>.

Bizzaro, N., & Antico, A. (2014). Autoimmunity Reviews Diagnosis and classification of pernicious anemia, 10–13.

Blom, H. J., & Smulders, Y. (2011). Overview of homocysteine and folate metabolism. With special references to cardiovascular disease and neural tube defects. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, *34*(1), 75–81.

Brescoll, J., Daveluy, S. (2015). A Review of Vitamin B12 in Dermatology. *American Journal of Clinical Dermatology*, *16*(1), 27-33.

Burtis, A. C., Edward, R., & Bruns, E. D. (2008). *Fundamentals of Clinical Chemistry :6th Ed. Building.*

CUBN gene. Genetic Home Reference. Consultado a 26/4/2017 através <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/CUBN#conditions>.

Dali-Youcef, N., & Andrès, E. (2009). An update on cobalamin deficiency in adults. *Qjm*, 102(1), 17–28.

Das, C., Sahana, P. K., Sengupta, N., Giri, D., Roy, M., & Mukhopadhyay, P. (2012). Etiology of anemia in primary hypothyroid subjects in a tertiary care center in Eastern India. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 16(Suppl 2), S361-3.

Direção Geral de Saúde Circular Normativa nº 063/2011 de 30/12/2011 atualizada a 12/09/2013 - Prescrição e determinação do hemograma.

Dzierzak, E., & Philipsen, S. (2013). Erythropoiesis: Development and Differentiation, 1-16.

Erdogan M, Kosenli A, Sencer G, Kulaksizoglu M. Characteristics of anemia in subclinical and overt hypothyroid patients. *Endocr J*. 2012;59:213–20

Failace R, Fernandes F. (2015). *Hemograma - manual de interpretação*, 6ª Edição. Artmed. ISBN: 978 – 85 – 8271 – 228 – 3.

Fonseca, C., Marques, F., Robalo Nunes, A., Belo, A., Brilhante, D., & Cortez, J. (2016). Prevalence of anaemia and iron deficiency in Portugal: The EMPIRE study. *Internal Medicine Journal*, 46(4), 470–478.

Ford, J. (2013). Red blood cell morphology. *International Journal of Laboratory Hematology*. 35(3): 351–357.

Gowdappa, H. B., Mahesh, M., Murthy, K. V. K. S. N., & Narahari, M. G. (2013). Helicobacter pylori associated vitamin B 12 deficiency, pernicious anaemia and subacute combined degeneration of the spinal cord, 10–13.

Green, R. Macrocytic and marrow failure anemias. *Lab Med*. 1999;30:595–599.

Green, R. (2017). Vitamin B12 deficiency from the perspective of a practicing hematologist. American Society of Hematology.

Green, R., Mitra, A. (2016). Megaloblastic Anemias Nutritional and Other Causes. *Medical Clinics of NA*.

Hannibal, L., Lysne, V., & Behringer, S. (2016). Biomarkers and Algorithms for the Diagnosis of Vitamin B 12 Deficiency, 3(June).

Herrin V. (2015). Macrocytosis Clinical Presentation. Medscape. Consultado a 20/7/2016 através <http://emedicine.medscape.com/article/203858-clinical#b1>.

Hesdorffer, C. S., & Longo, D. L. (2015). Drug-induced megaloblastic anemia, 373(17), 1649–1658.

Kujovich, J. L. (2016). Evaluation of Anemia. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, 43(2), 247–264.

Lahner, E., & Annibale, B. (2009). Pernicious anemia: New insights from a gastroenterological point of view, 15(41), 5121–5128.

Leban, J., Vitt, D. (2011). Human dihydroorotate dehydrogenase inhibitors, a novel approach for the treatment of autoimmune and inflammatory diseases. *Arzneimittelforschung*. 61(1):66–72.

Longo, D.L., Kasper, D.L., Jameson J.L., Fauci, A.S., Hauser, S.L., & Loscalzo J. (2013) *Harrison – Medicina Interna*. McGraw-Hill. Edition: 18th. ISBN: 978- 85 – 8055 – 120 – 4.

Maakaron J. (2016). Anemia. Medscape. Consultado a 14/7/2016 através <http://emedicine.medscape.com/article/198475-overview#a1>.

Manning, L. R., Russell, J. E., Padovan, J. C., Chait, B. T., Popowicz, A., Manning, R. S., & Manning, J. M. (2007). Human embryonic , fetal , and adult hemoglobins have different subunit interface strengths . Correlation with lifespan in the red cell, 1641–1658.

McCormack, P. L. (2015). Eltrombopag: A review of its use in patients with severe aplastic anaemia. *Drugs*, 75(5), 525–531.

Mcpherson, R. A., & Pincus, M. R. (2011). *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods* (Vol. 14).

Medici V, Halsted CH. Folate, alcohol, and liver disease. *Mol Nutr Food Res* 2013;57(4):596–606.

Miano, M., & Dufour, C. (2015). The diagnosis and treatment of aplastic anemia: a review. *International Journal of Hematology*, 101(6), 527–35.

Nagao, T., & Hirokawa, M. (2017). Diagnosis and treatment of macrocytic anemias in adults. *Journal of General and Family Medicine*, 1–5.

Panchbhavi, V. (2015). Bone Marrow Anatomy. Medscape. Consultado a 14/7/2016 através <http://emedicine.medscape.com/article/1968326-overview#a2>.

Powell, D. J., & Achebe, M. O. (2016). Anemia for the Primary Care Physician. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, 43(4), 527–542.

Schick P. (2016). Megaloblastic Anemia. Medscape. Consultado a 11/9/2016 através <http://emedicine.medscape.com/article/204066-overview>.

Shukla S, Sitrin M, Hemolysis in Acute Alcoholic Hepatitis: Zieve's Syndrome, *ACG Case Rep J* 2015; 2(4):250-1

Tavian M, Biasch K, Sinka L, Vallet J, & Péault B. (2010). Embryonic origin of human hematopoiesis. *International Journal of Developmental Biology*, 54(6–7), 1061–1065.

Tefferi, A., & Vardiman, J. W. (2009). Myelodysplastic Syndromes. *The New England Journal of Medicine*, 361;19.

Vardiman, J. W., Arber, D. A., Brunning, R. D., Borowitz, M. J., Porwit, A., Harris, N. L., Le Beau, M. M., Hellstrom-Lindberg, E., Tefferi, A., Bloomfield, C. D. (2009). The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia : rationale and important changes, *114*(5), 937–952.

Veda, P. (2013). Evaluation of macrocytosis in routine hemograms. *Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion*, 29(1), 26–30. <https://doi.org/10.1007/s12288-011-0142-7>

Voukelatou, P., Vrettos, I., & Kalliakmanis, A. (2016). Neurologic symptoms as the only manifestation of B 12 deficiency in a young patient with normal hematocrit, MCV, peripheral blood smear and homocysteine levels. 302–304.

Williamson M, Snyder L. (2016) *Wallach - Interpretação de exames laboratoriais*, 10ª Edição. Guanabara Koogan. ISBN: 978-85-277-2844-7.

**Anexos**

**Anexo I:** Direção Geral de Saúde (DGS) Circular Normativa nº 063/2011 de 30/12/2011 atualizada a 12/09/2013 - Prescrição e determinação do hemograma. Valores Críticos.



<b>Plaquetograma</b>	
PLT	Contagem de Plaquetas . Aumento na contagem de plaquetas - trombocitose . Diminuição na contagem de plaquetas - trombocitopénia
MPV	Volume Plaquetar Médio - útil na avaliação do tamanho e morfologia das plaquetas
PDW	Dispersão do Volume Plaquetar - traduz o índice de variação no tamanho das plaquetas

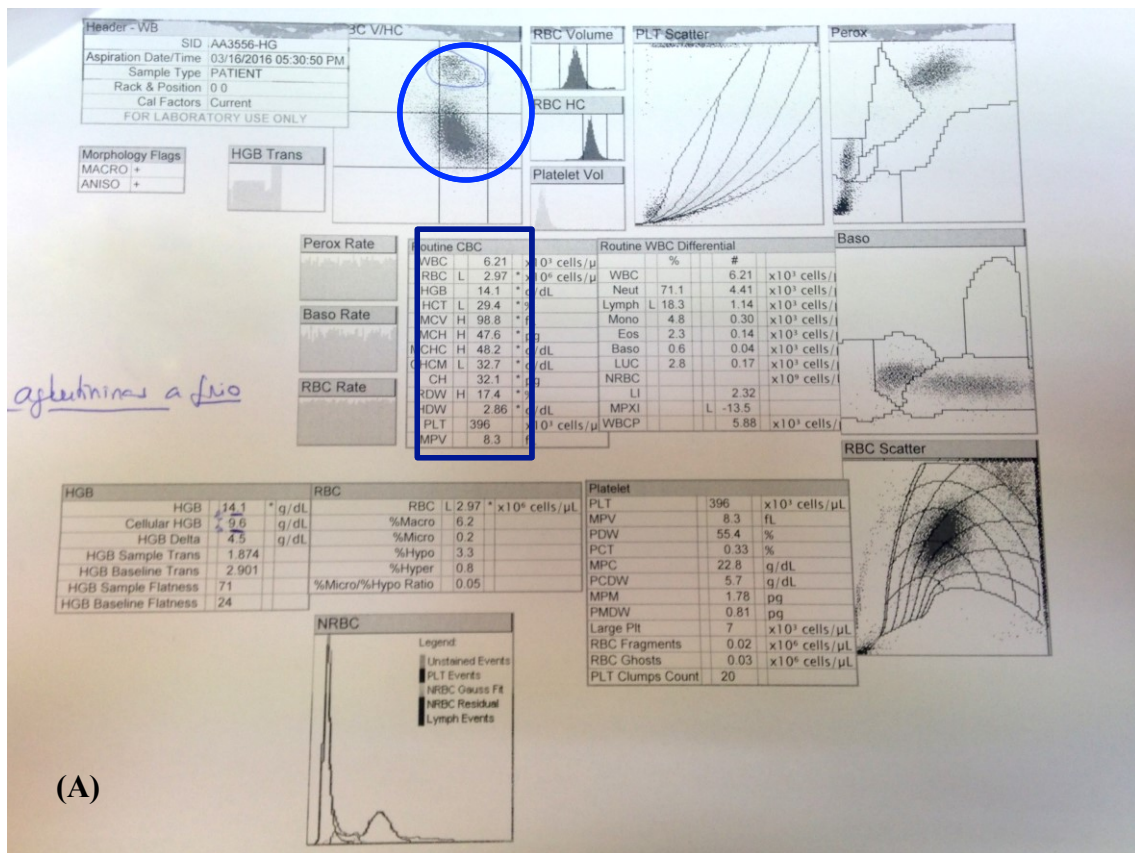
**Quadro 2 - Valores Críticos**

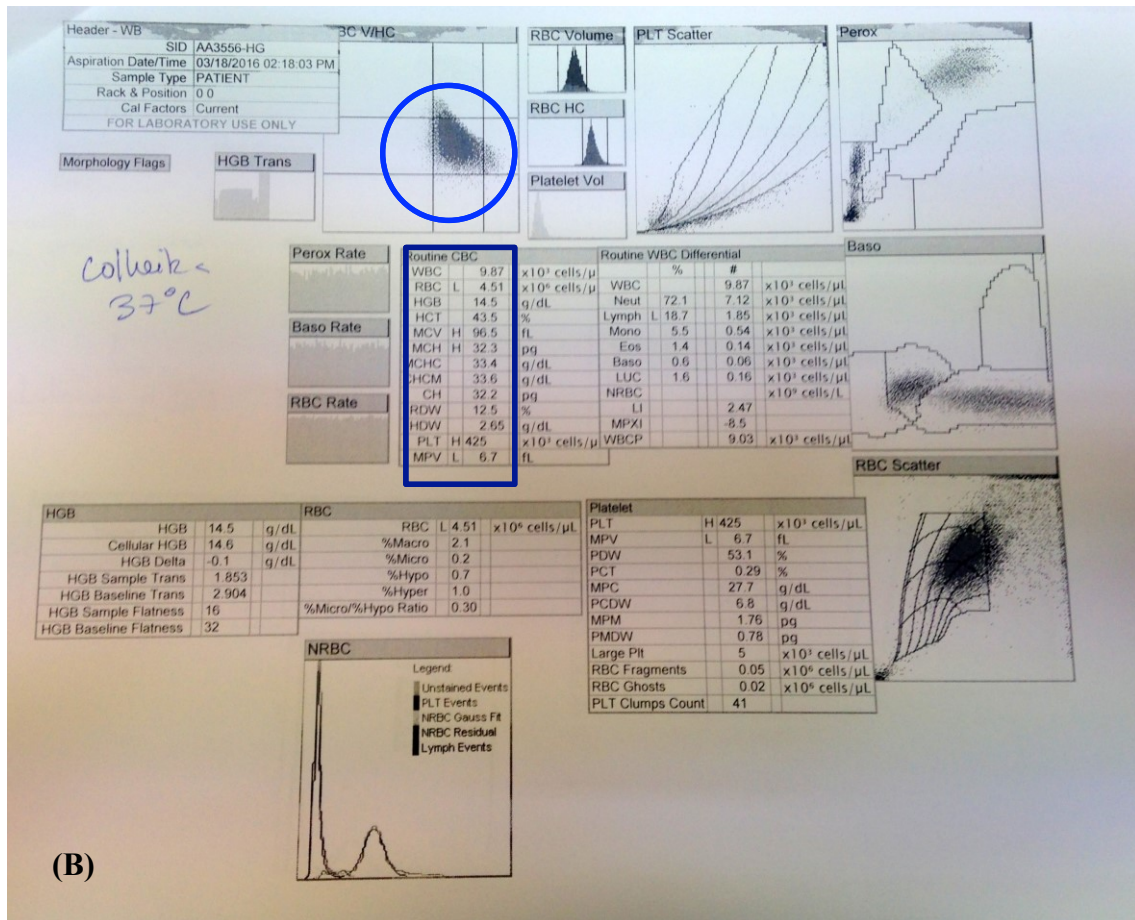
Parâmetro (Unidades)	Sexo	Idade	Valor Referência	Valores Críticos	
				Baixo	Alto
RBC (x 10 <sup>12</sup> /L)	M/F	0-6 Meses	3.90 - 5.90	Não há	Não há
	M/F	6 Meses-11 Anos	3.80 - 5.40		
	M	> 11 Anos	4.31 - 6.40		
	F	> 11 Anos	3.85 - 5.20		
HGB (g/dL)	M/F	0-6 Meses	14.0 - 18.0	<10.0	> 19.9
	M/F	6 Meses-11 Anos	11.0 - 14.0	<6.0	
	M	> 11 Anos	13.6 - 18.0	<6.0	
	F	> 11 Anos	11.5 - 16.0	<6.0	
HTC (%)	M/F	0-2 Semanas	42.0 - 68.0	< 30.0	> 61.0
	M/F	2 Sem. - 2 Meses	35.0 - 50.0	< 18.0	
	M/F	2 Meses - 1 Ano	30.0 - 40.0	< 18.0	
	M/F	1 - 5 Anos	32.0 - 42.0	< 18.0	
	M	> 5 Anos	39.8 - 52.0	< 18.0	
	F	> 5 Anos	34.7 - 46.0	< 18.0	
MCV (fL)	M/F	0-2 Semanas	88.0 - 114.0	Não há	Não há
	M/F	2 sem. -6 Meses	85.0 - 97.0		
	M/F	6 Meses - 11 Anos	72.0 - 86.6		
	M/F	> 11 Anos	80.0 - 97.0		
MCH (pg)	M/F	0-2 Semanas	34.0 - 37.0	Não há	Não há
	M/F	2 sem. -6 Meses	31.0 - 36.0		
	M/F	6 Meses - 5 Anos	25.0 - 31.0		
	M/F	> 5 Anos	26.0 - 34.0		
MCHC (g/dL)	M/F	0-2 Semanas	31.0 - 35.0	Não há	Não há
	M/F	2 sem. -6 Meses	32.0 - 35.0		
	M/F	> 6 Meses	32.0 - 36.0		
RDW (%)	M/F	0-2 dias	14.9 - 18.7	Não há	Não há
	M/F	> 2 dias	11.5 - 15.0		
PLT (x 10 <sup>9</sup> /L)	M/F	0-2 Meses	140 - 440	< 100	> 1000
	M/F	> 2 Meses	140 - 440	< 25	> 1000
MPV (fL)	M/F	Qualquer Idade	6.5 - 12.4	Não há	Não há

WBC (x 10 <sup>9</sup> /L)	M/F	0-2 Meses	5.0 – 20.0	< 1.0	> 30.0
	M/F	2 Meses-5 Anos	4.5 – 17.0	< 1.0	> 30.0
	M/F	5 - 11 Anos	4.5 – 13.0	< 1.0	> 30.0
	M/F	> 11 Anos	4.0 – 10.0	< 1.0	> 30.0
NEU (x 10 <sup>9</sup> /L)	M/F	0-6 dias	1.5 – 16.0	< 0.50	Não há
	M/F	6 dias -2 Meses	0.8 – 9.0	< 0.50	
	M/F	2 Meses – 1 Ano	0.7 – 7.6	< 0.50	
	M/F	1 – 5 Anos	1.5 – 11.0	< 0.50	
	M/F	5 - 11 Anos	1.5 – 8.5	< 0.50	
	M/F	> 11 Anos	1.5 – 8.0	< 0.50	
LYM (x 10 <sup>9</sup> /L)	M/F	0-6 dias	0.5 – 10.0	Não há	Não há
	M/F	6 dias -5 Anos	2.0 – 14.0		
	M/F	5 - 11 Anos	1.0 – 7.8		
	M/F	> 11 Anos	0.8 – 4.0		
MONO (x 10 <sup>9</sup> /L)	M/F	0-2 Meses	0.0 – 2.4	Não há	Não há
	M/F	2 Meses-5 Anos	0.0 – 2.0		
	M/F	5 - 11 Anos	0.0 – 1.6		
	M/F	> 11 Anos	0.0 – 1.2		
EOS (x 10 <sup>9</sup> /L)	M/F	0-2 Meses	0.0 – 1.4	Não há	Não há
	M/F	2 Meses-5 Anos	0.0 – 1.2		
	M/F	5 - 11 Anos	0.0 – 0.9		
	M/F	> 11 Anos	0.0 – 0.3		
BASO (x 10 <sup>9</sup> /L)	M/F	0-2 Meses	0.0 – 0.6	Não há	Não há
	M/F	2 Meses-5 Anos	0.0 – 0.5		
	M/F	5 - 11 Anos	0.0 – 0.4		
	M/F	> 11 Anos	0.0 – 0.3		


O achado de células blásticas, drepanocitos, parasitas, crise leucemoide ou aplástica deve ser considerado como valor crítico.

**Anexo II:** (A) Hemograma de indivíduo com presença de crioaglutininas e (B) hemograma do mesmo indivíduo com colheita realizada a 37 ° C (ambos os hemogramas foram gentilmente cedidos pelo laboratório Aqualab).






**Anexo III:** Hemograma de indivíduo com presença de anemia macrocítica, gentilmente cedido por Laclibe - Laboratório de Análises Clínicas de Beja, Lda.



ABX  
PentraML  
Archive: With Graphics



---


**Patient Name:** ██████████  
**First Name:** ██████  
**Date of Birth:** ████ **Age:** ████ **Gender:** M  
**Patient ID:** ██████████

**SampleID:** VD3076H0  
**Department:** ██████████  
**Physician:** ██████████  
**Validation:** 06-10-2016 16:57:57

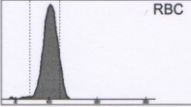
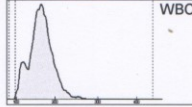
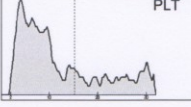
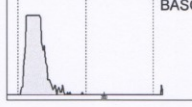
**Patient comment:**

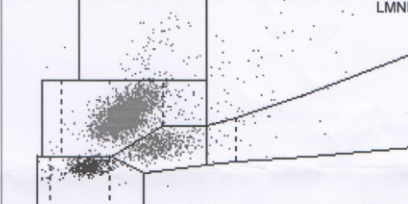
---

CBC			Limits	Units
WBC	7.5		4.0-10.0	10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
RBC	2.57	L	3.80-6.50	10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>
HGB	9.1	L	11.5-17.0	g/dL
HCT	27.8	L	37.0-54.0	%
VCM	108	h	80-100	µm <sup>3</sup>
HCM	35.6	H	27.0-32.0	pg
CHCM	32.9		32.0-36.0	g/dL
RDW	13.8		11.0-16.0	%
PLT	29	! L	150-500	10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
VPM	7.6	!	6.0-11.0	µm <sup>3</sup>
PCT	0.022	!	0.150-0.500	%
PDW	14.8	!	11.0-18.0	%



VD3076H0



---

DIF	%	# (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	Limits	Limits #
NEU	71.5	! 5.37	! 0.0-99.9	2.00-7.50
LIN	12.2	0.92	L 0.0-99.9	1.00-4.00
MON	13.8	1.04	h 0.0-99.9	0.20-1.00
EOS	1.9	0.14	0.0-99.9	0.00-0.50
BAS	0.6	0.05	0.0-99.9	0.00-0.20
ALY	0.7	0.05	0.0-2.5	0.00-0.25
LIC	2.3	! 0.17	! 0.0-3.0	0.00-0.30
IML	0.1	! 0	! 0.0-2.5	0.00-0.25
IMM	0.9	! 0.06	! 0.0-1.1	0.00-0.11
IMG	1.4	! 0.10	! 0.0-2.5	0.00-0.25

---

Tube and Diffpad Comments	Pentra ML Comments	Analyzers Alarms
	Linfopenia Anemia Trombopenia	Monocitose Macrocitose
		Rn Sch Macrocytosis Schistocytes

Reviewed on \_\_\_\_\_ by \_\_\_\_\_ Signature:

Archive: With Graphics  
 Printed on 07-10-2016 16:54:32  
 Page 1/1

**Anexo IV:** (A) Exemplo de fármacos que podem conduzir a anemia megaloblástica (Hesdorffer & Longo, 2015).

Mechanism of Action and Agent	Type of Medication or Indication
<b>Modulates purine metabolism</b>	
Azathioprine	Immunomodulator
Mycophenolate mofetil	Immunomodulator
Thioguanine	Antineoplastic agent
Mercaptopurine	Antineoplastic agent
Cladribine	Antineoplastic agent
Fludarabine	Antineoplastic agent
Pentostatin	Antineoplastic agent
Methotrexate	Immunomodulator, antineoplastic agent
Allopurinol	Xanthine oxidase inhibitor
<b>Interferes with pyrimidine synthesis</b>	
Cytosine arabinoside	Antineoplastic agent
Gemcitabine	Antineoplastic agent
Capecitabine	Antineoplastic agent
Hydroxyurea	Antineoplastic agent
Methotrexate	Antineoplastic agent
Mercaptopurine	Immunomodulator, antineoplastic agent
Fluorouracil	Antineoplastic agent
Trimethoprim	Antibacterial agent
Nitrous oxide	Anesthetic agent
Gadolinium (paramagnetic metal ion)	Contrast agent in magnetic resonance imaging
Leflunomide	Immunomodulator in patients with psoriasis or rheumatoid arthritis
Teriflunomide	Immunomodulator in patients with multiple sclerosis
<b>Decreases absorption of folic acid</b>	
Alcohol	
Aminosalicylic acid	For tuberculosis and inflammatory bowel disease
Birth-control pills	Hormones
Estrogens	Hormones
Tetracyclines	Antibiotic
Ampicillin and other penicillins	Antibiotic
Chloramphenicol	Antibiotic
Nitrofurantoin	Urinary antiseptic
Erythromycin	Antibiotic

<b>Mechanism of Action and Agent</b>	<b>Type of Medication or Indication</b>
Aminopterin	Antineoplastic agent, immunosuppressive agent
Phenobarbital	Antiseizure agent
Phenytoin	Antiseizure agent
Quinine	Antimalarial agent
Chloroquine	Antimalarial agent
Primaquine	Antimalarial agent
Artemether lumefantrine	Antimalarial agent
Sulfadoxine–pyrimethamine	Antimalarial agent
Glutethimide	Hypnotic sedative
<b>Has folate analogue activity</b>	
Methotrexate	Immunomodulator, antineoplastic agent
Pemetrexed	Antineoplastic agent
Raltitrexed	Antineoplastic agent
Proguanil	Antineoplastic agent
Pyrimethamine	Antimalarial agent
Trimethoprim	Antibacterial agent
<b>Decreases absorption of vitamin B<sub>12</sub></b>	
Cycloserine	For tuberculosis and psychiatric conditions
Isoniazid	For tuberculosis
Metformin	For diabetes and prediabetes
Aminosalicylic acid	For tuberculosis and inflammatory bowel disease
Colchicine	For gout, familial Mediterranean fever, and Behçet's disease
Neomycin	Antibiotic
Histamine <sub>2</sub> -receptor antagonists (H <sub>2</sub> blockers)	
Proton-pump inhibitors	
<b>Increases excretion of vitamin B<sub>12</sub></b>	
Sodium nitroprusside	
<b>Destroys vitamin B<sub>12</sub></b>	
Nitric oxide	
<b>Has unknown mechanism</b>	
Arsenic	
Benzene	
Sulfasalazine	
Asparaginase	