

1. Introdução

O ferro é um dos elementos mais abundante no organismo. Aproximadamente 65% de ferro no organismo (60 mg/kg nos homens e 50 mg/kg em mulheres) estão ligados ao heme. Para produzir 1ml de glóbulos rubros é necessário 1 mg de ferro. A cada dia, 20 a 25 mg de ferro são necessários para a eritropoiese, dos quais 95% são reciclados, a partir da renovação dos eritrócitos e do catabolismo da hemoglobina. Apenas 1 mg diário é absorvido novamente para equilibrar a perda mínima de ferro na excreção fecal e urinária¹.

1.1. Fisiologia do ferro

O ferro caracteriza-se por ser um metal em que a sua utilização biológica está dependente da sua capacidade de existir em diferentes estados de oxidação, podendo formar diferentes complexos, além de agir como um centro catalítico para diversas funções metabólicas. Presente na hemoglobina, este mineral é de fundamental importância para o transporte de oxigénio e dióxido de carbono, essenciais à respiração celular, além de participar em processos enzimáticos celulares, que são importantes para o funcionamento do sistema imunológico, e indispensável para a produção de energia, no ciclo do ácido cítrico, ribonucleotídeo redutase e NADPH redutase e, ainda, na síntese de dopamina, serotonina, catecolaminas e, possivelmente, na formação de mielina².

1.2. Metabolismo do ferro

O metabolismo do ferro é um processo regulado. Em condições fisiológicas, há um equilíbrio entre a absorção, transporte e o armazenamento do ferro, de modo que não haja falta ou excesso do mesmo.

Várias proteínas estão associadas com a homeostasia do ferro: a transferrina, a ferritina e o receptor da transferrina, bem como as proteínas reguladoras do ferro, o receptor da transferrina 2 (TfR2), o transportador de metais pesados (DMT1 ou Nramp2) e a HFE, cuja deficiência é responsável pela forma mais comum de hemocromatose hereditária.³

A deficiência de ferro acarretará consequências para todo o organismo, sendo a anemia a manifestação mais relevante. Por outro lado, a acumulação ou excesso de ferro é extremamente nocivo para os tecidos, uma vez que o ferro livre promove a síntese de espécies reactivas de oxigénio que são tóxicas e levam ao dano das proteínas, lípidos e DNA. A homeostase do ferro vai possibilitar a manutenção das funções celulares essenciais e ao mesmo tempo evitar possíveis danos teciduais, e nesses mecanismos várias células e proteínas transportadoras do ferro estão envolvidas⁴.

1.3. Absorção do ferro

Uma dieta normal contém cerca de 13 a 18 mg de ferro, dos quais somente 1 a 2 mg serão absorvidos na forma inorgânica ou na forma heme. Alguns factores favorecem a absorção intestinal, como a acidez e a presença de agentes solubilizantes, como açúcares. A quantidade de ferro absorvida é regulada consoante a necessidade do organismo. Assim, em situações em que há falta de ferro ou aumento da necessidade (gravidez, puberdade ou hemólise, por exemplo), há uma maior absorção de ferro. Para responder a esse aumento, há uma maior expressão das proteínas envolvidas nesse processo, como a proteína transportadora de metal divalente (DMT-1) e a ferroportina. A maior parte do ferro inorgânico está presente na forma Fe^{3+} e é fornecida por vegetais e cereais⁵.

A DMT-1, também conhecida como Nramp2, é composta por 12 segmentos transmembranares e, além do ferro, transporta Mn^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} e Zn^{2+} . Em camundongos foi demonstrado que a substituição de uma glicina por arginina (G185R) no 4º domínio transmembrana da DMT-1 está associada a um grave defeito na absorção do ferro intestinal, resultando em anemia microcítica. Para exercer sua função, a DMT-1 necessita que o ferro seja convertido de Fe^{3+} para Fe^{2+} .

A absorção do ferro heme da dieta é feita pela proteína transportadora do heme-1 (HCP1), recentemente descrita e posicionada na membrana apical das células do duodeno. O heme liga-se à membrana dos enterócitos duodenais e a proteína transportadora atravessa intacta a membrana plasmática. A HCP1 também é expressa em outros locais como o fígado e rins e a sua regulação é feita de acordo com o nível de ferro intracelular. Havendo défice de ferro, a HCP1 redistribui-se do citoplasma para a membrana plasmática das células duodenais, mas em condições de excesso de ferro a redistribuição é a partir da membrana da célula para o

citoplasma. A hipoxia também induz a síntese da HCP1, facilitando a captação de heme quando há maior necessidade do organismo⁶.

No interior da célula, o ferro é libertado pela enzima Oxigenase do Heme. Após o ferro ser libertado, é armazenado na forma de ferritina ou libertado do enterócito para a corrente sanguínea.

O principal exportador do ferro da célula para o plasma é a ferroportina. Numa situação de deficiência de ferro e hipoxia, a expressão do mRNA da ferroportina está aumentada⁷.

Mutações que inactivam a ferroportina levam ao aumento da absorção e acumulação de ferro no enterócito e nos macrófagos.

A proteína HFE está fortemente relacionada com a regulação da absorção intestinal do ferro. Interage com o receptor da transferrina (TfR) e detecta o grau de saturação, sinalizando para o enterócito se há maior ou menor necessidade de absorção do ferro a nível intestinal. Indivíduos com mutação no gene da HFE apresentam hemocromatose, caracterizada pela acumulação de ferro no organismo decorrente da contínua absorção do ferro pelo intestino⁸.

2. Anemia Ferropénica – deficiência de ferro e suas consequências

Uma das características das anemias caracteriza-se pela biosíntese anormal da hemoglobina. Os eritrócitos em desenvolvimento requerem ferro, protoporfirina e globina em quantidades ótimas para a produção de hemoglobina. Neste sentido, as anemias caracterizadas pela síntese deficiente de hemoglobina podem ser divididas em três grupos, dependendo de qual dos três compostos está deficiente. No grupo das anemias caracterizadas por distúrbios do metabolismo de ferro, podemos classificar a anemia ferropriva e a anemia de doença crónica como sendo as mais comuns⁹.

Frequentemente, as doenças infecciosas, inflamatórias, traumáticas ou neoplásicas, que persistem por mais de um ou dois meses, são acompanhadas por uma anemia leve a moderada, denominada muitas vezes como anemia da inflamação ou infecção ou ainda como anemia de doença crónica. Como tais doenças são numerosas, este tipo de anemia é muito comum, sendo a mais prevalente entre indivíduos idosos caracterizada por a anemia ferropénica¹⁰.

O papel da transfusão de glóbulos rubros na gestão da anemia por deficiência de ferro é controverso. O ferro é fundamental para o transporte de oxigénio, produção de energia, inactivação de toxinas e para a síntese de DNA.

A deficiência de ferro tem sido descrita como uma das principais causas responsáveis de doença em todo o mundo. Embora o suplemento de ferro seja eficaz no tratamento da anemia por deficiência de ferro, o papel da transfusão de glóbulos rubros pode ser controverso em algumas situações clínicas¹¹.

A avaliação dos riscos subjacentes à transfusão sanguínea é uma preocupação constante, uma vez que tem que haver disponibilidade de componentes sanguíneos, e atendendo à escassez de doações, e à possibilidade de transmissão de uma variedade de doenças emergentes que fazem repensar a transfusão de sangue.

Historicamente, os médicos têm baseado a sua decisão de transfusão de glóbulos rubros a um doente baseando-se no valor da hemoglobina, que normalmente tem sido inferior a 10,0 g/dL, e claro, o estado clínico do doente¹².

A transfusão de sangue é uma prática comum para o rápido e eficaz restauro dos níveis de hemoglobina, evitando, pelo menos em teoria os efeitos da anemia grave, especialmente nos

doentes idosos cujos mecanismos cardio-respiratórios compensatórios têm uma limitada capacidade de resposta.

Embora cada vez mais segura, a transfusão de glóbulos rubros nunca pode ser livre de risco, assim como de novas doenças e infecções que influenciam o quadro de saúde no mundo. Assim este impacto sobre a segurança da transfusão não pode ser previsto. As preocupações com os efeitos adversos da transfusão de glóbulos rubros têm solicitado a revisão da prática da transfusão e a busca por um tratamento da anemia mais seguro (ou seja, o tratamento farmacológico), a fim de diminuir os riscos relacionados com a transfusão de sangue, bem como para acelerar a recuperação da capacidade funcional do doente.

Quanto à ingestão deficiente de ferro, perda de sangue crônica, má absorção, e desde que não haja patologia do tracto gastrointestinal, a administração de ferro oral ou endovenoso, normalmente leva à correcção da anemia.

Em contraste, na anemia, por exemplo, da artrite reumatóide, da doença de Crohn, do cancro renal ou insuficiência cardíaca, a administração oral de ferro pode ser limitada, porque a absorção é regulada, e a pequena quantidade de ferro absorvida é direccionada para o retículo endoplasmático.

A hepcidina, uma proteína hepática, desempenha um papel fundamental em ambos os processos através dos seus efeitos sobre a expressão e actividade da ferroportina (figura1)¹³.

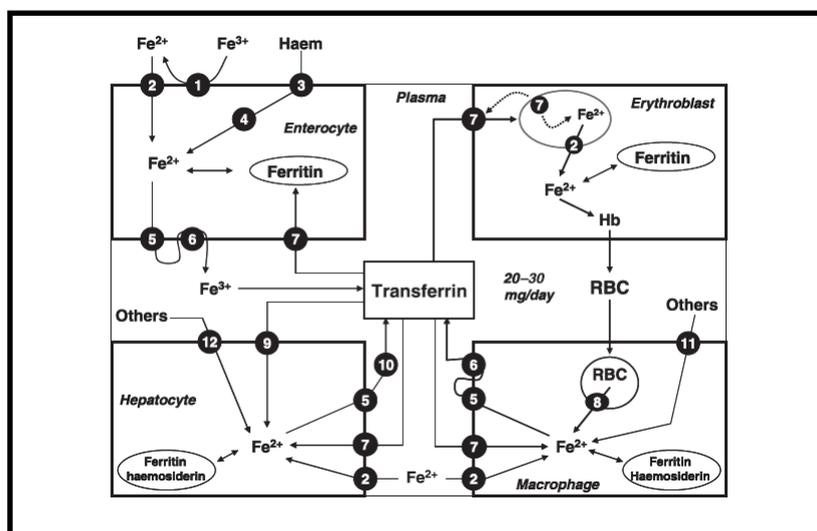


Figura 1- Principais vias de absorção, distribuição e armazenamento do ferro. Chave: 1. Ferrireductase; 2. Transportador de Metal Divalente (DMT-1 do inglês Divalent Metal Transporter); 3. Receptor Heme; 4. Heme Hidroxilase; 5. Ferroportina (Fpn1); 6. Hefastina; 7. Receptor Transferrina-1 (TfR1); 8. "Natural resistance-associated macrophage protein-2" (Nramp-2); 9. Receptor Transferrina-2 (TfR2); 10. Ceruloplasmina; 11. Outros: bactérias, lactoferrina, Hb-haptoglobina, Heme-hemopexina, etc. 12. Outros: ferritina. Retirado de¹³

2.1. Avaliação da deficiência de ferro

A anemia ferropénica constitui a causa mais comum de anemia em todo o mundo. Apesar de nos países desenvolvidos o conteúdo elevado de ferro biodisponível na dieta e o uso alargado de suplementos de ferro terem diminuído a prevalência e severidade desta doença, existem ainda alguns subgrupos em que esta patologia constitui um sério problema.

A deficiência de ferro pode não causar apenas anemia, mas também redução na capacidade mental e física e alteração imunológica e das defesas inflamatórias.

Além do seu papel no transporte e entrega de oxigénio, o ferro serve como um co-factor para muitas enzimas importantes, incluindo aquelas envolvidas no metabolismo oxidativo, na dopamina e síntese de DNA, e formação de radicais livres.

A deficiência de ferro pode ser causada por outras fontes, como a perda de sangue, incluindo sangramento gastrointestinal, gastrite e úlcera péptica, neoplasias, doenças inflamatórias intestinais, infecções por parasitas (mais comum em populações do terceiro mundo que nos países desenvolvidos), e hemorróidas. A perda crónica de sangue também pode ocorrer a partir do tracto-urinário ou pulmonar.

A absorção de ferro não está directamente relacionada com a ingestão de ferro. A biodisponibilidade do ferro, ou a percentagem de ferro dietético absorvido, também varia dependendo da fonte alimentar do ferro. Heme e ferro não-heme são absorvidos por diferentes receptores na mucosa intestinal. O ferro ligado ao heme é altamente absorvível, é o ferro de origem animal. A absorção de ferro não-heme pode ser aumentada ou diminuída, por diversos factores. O café, cacau, espinafre e orégãos inibem a absorção de ferro¹.

2.1.1. Sinais e sintomas de deficiência do ferro

Os sintomas de deficiência de ferro incluem fadiga marcante, reduzida tolerância ao exercício, comer compulsivamente gelo. Sinais de deficiência de ferro incluem alteração em vários tecidos, tais como, palidez das conjuntivas, colôniquia, glossite, em decorrência da redução das enzimas musculares e da mioglobina¹. Doentes com um destes sinais e sintomas devem efectuar a avaliação laboratorial do perfil do ferro¹.

2.1.2. Avaliação laboratorial da deficiência do ferro

A medição da ferritina sérica é recomendada para o diagnóstico da deficiência de ferro. As concentrações séricas de ferritina reflectem as reservas de ferro corporal (um micrograma por litro de concentração de ferritina sérica é equivalente a aproximadamente 10 mg de ferro armazenado).

No entanto, a ferritina sérica pode estar aumentada noutras situações ou doenças, por exemplo, na fase aguda da infecção, inflamação, causando danos nos tecidos e órgãos, isto independente da concentração de ferro.

Como a ferritina, outros factores podem afectar os níveis de ferro. O ferro sérico varia ao longo do dia (mais elevado na parte da manhã, inferior à tarde), aumenta após as refeições, e diminui numa situação de infecção e inflamação. Neoplasias, doenças hepáticas, síndrome nefrótico, e desnutrição podem reduzir a capacidade de fixação do ferro, por sua vez, o contraceptivo oral e gravidez podem aumentar.

Em situações que a ferritina apresentar valores séricos abaixo do normal, a deficiência de ferro deve ser tratada independentemente do valor da hemoglobina, devido a pode estar presente antes do desenvolvimento de uma evidente anemia. Na presença de processos inflamatórios ou infecciosos e em que os sintomas de deficiência de ferro estão presentes, mas ferritina está na faixa normal, o estudo do hemograma e a contagem de reticulócitos pode ser bastante útil. Se a deficiência de ferro está realmente presente, os índices eritrocitários devem melhorar com a administração de ferro¹⁴.

2.1.3. Diagnóstico laboratorial na deficiência do ferro

Tanto a carência como o excesso de ferro ocorrem no organismo de maneira gradual e progressiva. Neste sentido, diversos parâmetros hematológicos e bioquímicos podem ser doseados.

Os parâmetros analíticos podem ser doseados em três estádios, que reflectem a deficiência de ferro.

O diagnóstico do primeiro estádio da deficiência de ferro, caracterizado pela diminuição dos valores de ferro no organismo, é realizado pela dosagem da ferritina sérica. A dosagem da hemossiderina na medula óssea também pode ser adoptada como indicativo. No entanto, por ser um método invasivo, não é recomendado para triagem.

O segundo estágio da deficiência de ferro corresponde à diminuição do transporte do ferro. Este estágio caracteriza-se pela diminuição do ferro sérico e um aumento da capacidade de fixação do ferro, resultando na diminuição da saturação da transferrina. O ferro sérico corresponde a um parâmetro bastante importante, apesar de muito instável, pois pode estar alterado na presença de processos infecciosos, podendo diminuir em poucas horas após o desencadeamento da infecção. A capacidade total de fixação do ferro, utilizada para avaliar o ferro circulante, aumenta na deficiência deste mineral, mas diminui na inflamação. Porém, deve ser avaliada criteriosamente, pois pode apresentar-se normal quando ambas coexistem, deficiência de ferro e inflamação. A saturação da transferrina, que corresponde à relação entre o ferro sérico e a capacidade de total de fixação do ferro, normalmente utilizada, pois o ferro sérico e a capacidade de total de fixação do ferro isolados apresentam baixa especificidade e sensibilidade. Entretanto, este índice também se altera na presença de infecção.

Recentemente, a utilização da medida de receptores de transferrina tem sido proposta como parâmetro de detecção de deficiência de ferro.

O terceiro estágio ocorre quando a quantidade de ferro está suficientemente restrita para a produção de hemoglobina, apresentando células hipocrômicas e microcíticas. O volume corpuscular médio (VCM), que avalia o tamanho médio dos eritrócitos; a amplitude de variação do tamanho dos eritrócitos (RDW), que avalia a variabilidade no tamanho dos eritrócitos; a hemoglobina corpuscular média (HCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), que avaliam a concentração de hemoglobina no eritrócito, correspondem aos índices hematimétricos mais utilizados neste estágio, além da hemoglobina, que corresponde ao parâmetro universalmente utilizado para diagnosticar anemia¹⁵.

O doseamento da hemoglobina não apresenta elevada especificidade e sensibilidade, uma vez que pode estar alterada em condições de infecção e inflamação, hemorragia, hemoglobinopatias, desnutrição, deficiência de ácido fólico e/ou vitamina B12, uso de medicamentos, desidratação, gestação e tabagismo¹⁶.

O tratamento prévio na deficiência de ferro é normalmente completo e relativamente rápido com suplemento de ferro. No entanto, a deficiência pode reaparecer. Por esta razão, os doentes que foram diagnosticados com déficit de ferro devem ser periodicamente reavaliados.

2.1.4. Tratamento da anemia ferropriva

A terapêutica é feita com doses padrão de 50-60 mg de ferro por via oral uma ou duas vezes ao dia. A vitamina C ingerida concomitantemente com o ferro aumenta a absorção. Em caso de distúrbios gastrintestinais, a dose deve ser apenas de um comprimido por dia. A administração intravenosa é por vezes necessária em casos de intolerância de suplementos orais. Ferro dextrano tem sido associado, raramente, a reações anafiláticas, mas formulações mais recentes têm uma menor incidência de efeitos secundários e pode ser administrado sem riscos. O Centers for Disease Control and Prevention (CDC) recomenda a terapia de três meses por deficiência de ferro. Na presença de anemia, após 7 dias de terapia, a contagem de reticulócitos atinge o seu pico. Hemoglobina começará a aumentar após 10-14 dias e geralmente normalizar em dois meses. Alguns autores recomendam a continuação da terapia com suplemento de ferro de 6-12 meses. Durante a terapia com suplemento de ferro, doentes devem ser aconselhados sobre dietas ricas em ferro e qualquer perda de sangue deve ser abordada para estudo¹⁴.

A administração do ferro intravenoso pode ser um método mais eficaz em algumas situações, bem como nos casos de intolerância gastrointestinal e contra-indicação ao ferro oral.

As preparações de ferro disponíveis no passado foram associados com um risco de anafilaxia e morte, o que fez com que os médicos receassem o seu uso. A formulação mais frequentemente responsável para esses eventos adversos graves era o ferro de alto peso molecular. A disponibilidade de três outras preparações (de baixo peso molecular, ferro sacarose, e gluconato de ferro), com melhor perfil de segurança, está a mudar o padrão de uso, frisando a importância desta modalidade terapêutica, desta forma são assim corrigidos os paradigmas da anemia por via intravenosa, com ênfase na transfusão.

O evento de agentes estimulantes da eritropoiese e a sua utilização na anemia em doentes com insuficiência renal, levou a uma diminuição do uso de componentes sanguíneos. Antes do lançamento de eritropoietina humana recombinante (EPO) para o tratamento de doentes com insuficiência renal que apresentavam anemia, um número significativo de doentes a realizar diálise foram tratados com transfusões sanguíneas¹⁷.

2.2. Riscos da transfusão sanguínea

A frequência das reacções transfusionais reduziu nos últimos anos devido a apertadas normas laboratoriais de qualidade. Actualmente a sua maioria é devida a erro humano na identificação das amostras e/ou doentes.

Dado o potencial gravidade de algumas reacções transfusionais, evitar ocorrências fatais passa sobretudo pela sua prevenção. São referidas como reacções transfusionais e seus efeitos adversos na tabela 1.

Tabela 1 – Reacções transfusionais

Hemólise associada à transfusão	Efeitos adversos não hemolíticos da transfusão	Frequência dos efeitos adversos	Importância dos efeitos adversos
Mecanismos mediados por anticorpos Hemólise imediata intravascular	Reacções alérgicas Urticária Anafilaxia	Muito comuns: Reacções febris Reacções alérgicas	Grave, risco de vida: Intravascular hemólise (ABO) Hepatite B Contaminação bacteriana Malária
Hemólise imediata extravascular Fixação de anticorpos IgG – activação celular	Reacções febris Com ou sem calafrios	Pouco comum: Hepatite B	Grave, sem comprometer o risco de vida: Transmissão do citomegalovírus (CMV) em criança
Danos celulares por agentes microbianos Bactérias gram-negativas Sépsis por malária	Transmissões de doenças Hepatites HIV Citomegalovírus Malária	Raras: Transmissão de malária Hemólise intravascular	Reacções febris Reacções alérgicas
Efeitos das células do doador no receptor Discrepâncias ABO	Efeitos hemostático		

2.3. Adequação da transfusão de glóbulos rubros na anemia ferropriva

O papel da transfusão de glóbulos rubros na anemia ferropriva é discutível. É uma terapêutica mais dispendiosa e potencialmente com mais riscos, para corrigir a deficiência de ferro. Indiscutivelmente, a transfusão de glóbulos rubros pode ser justificada nos doentes sintomáticos e em que outro tipo de terapia não corrija de imediato os sintomas.

A deficiência de ferro produz uma anemia crónica que geralmente não exige correção imediata por transfusão. Muitos doentes com anemia crónica são assintomáticos, com uma concentração de hemoglobina de 8 g/dl. Assim sendo, na gestão da anemia por deficiência de ferro não deve ser de eleição a transfusão sanguínea como 1ª opção de tratamento. No entanto, a transfusão de glóbulos rubros é frequentemente solicitada em doentes com anemia por deficiência de ferro como forma mais rápida de corrigir a anemia, desde que o doente esteja assintomático por estar adaptado a valores de hemoglobina baixa⁹.

As causas mais comuns de deficiência de ferro compreendem algumas condições descritas na tabela 2.

Tabela 2 – Principais causas de deficiência de ferro

<p style="text-align: center;">Dieta inadequada</p> <p style="text-align: center;">Má absorção</p> <p style="text-align: center;">Hemodiálise</p> <p style="text-align: center;">Perda aumentada de ferro - Menstruação, Sangramento gastrointestinal</p> <p style="text-align: center;">Exigências aumentadas de ferro – Infância, Adolescência, Gravidez, Lactação</p>

Quando há um equilíbrio negativo do ferro, a anemia ferropriva ocorre apenas após a perda das reservas orgânicas. Após essa perda, há uma redução nos níveis séricos de ferro com aumento da capacidade de ligação do ferro no plasma. Consequentemente, ocorre redução na síntese de hemoglobina e hemoglobinização deficiente dos eritrócitos em desenvolvimento, resultando de eritrócitos pálidos (hipocrómicos) e pequenos (microcíticos).

Os indicadores da redução das reservas de ferro incluem a análise visual das reservas de ferro reticuloendoteliais na medula óssea, a capacidade de ligação do ferro total, os níveis séricos de ferritina e a percentagem de ferro absorvido por um teste de dose oral de ferro. Mediante

manifestação de eritropoiese deficiente de ferro, o ferro sérico, a percentagem de saturação de transferrina, a percentagem de sideroblastos observados na coloração da medula para o ferro e a protoporfirina eritrocitária encontram-se anormais. Então, surge a anemia. E quando a anemia se mantém presente, os eritrócitos apresentam-se microcíticos e hipocrómicos (Tabela 3).

Tabela 3 – Diagnóstico diferencial das anemias com alterações do perfil do ferro

	NORMAL	REDUÇÃO DE FERRO	ERITROPOIESE DEFICIENTE EM FERRO	ANEMIA FERROPRIVA
Transferrina (mg/dL)	330 +/-30	360	390	410
Ferritina sérica (ng/mL)	100 +/-60	20	10	<10
Absorção do ferro (%)	5-10	10-15	10-20	10-20
Ferro sérico (µg/dL)	115+/- 50	115	<60	<40
Saturação da transferrina (%)	35 +/- 15	30	<15	<10
Sideroblastos (%)	40-60	40-60	<10	<10
Protoporfirina	30	30	100	200
Eritrócitos	Normal	Normal	Normal	Micro/Hipo

O sangramento crónico, é até por vezes despercebido, e ocorre a partir do tracto gastrointestinal. Em muitos casos, o doente é assintomático, e não se apercebe da perda sanguínea. O abuso do álcool ou o excesso de aspirina pode causar gastrite dolorosa, mas o doente pode não se aperceber da perda, que apesar de pequena é contínua.

Perda menstrual excessiva é uma causa comum que pode levar a anemia ferropénica em mulheres. Perdas sanguíneas regulares e alimentação por vezes inadequada exercem um efeito consecutivo que origina redução das reservas de ferro.

O tracto urinário é outra via de perda de ferro. Tumores, cálculos ou doenças inflamatórias nos rins, ureteres ou bexiga podem causar perdas sanguíneas na urina. Uma causa rara de perda de

ferro relacionada com a urina é a excreção de grandes quantidades de hemossiderina em doentes com estados hemolíticos intravasculares crónicos, como aqueles com próteses valvulares cardíacas.

A deficiência de ferro pode ser facilmente diferenciada de outras condições pelos níveis reduzidos de ferro sérico e elevada capacidade de ligação total do ferro. A saturação da transferrina, geralmente é inferior a 5% na anemia ferropénica, e a ferritina sérica, que reflecte as reservas de ferro, é inferior a 10ng/mL, indicando reservas de ferro muito reduzidas ou inexistentes (Tabela 4)¹.

Tabela 4- Análises laboratoriais na deficiência de ferro

Hemograma

Eritrócitos microcíticos, hipocrómicos quando hemoglobina <12 g/dL (homens) e <10 g/dL (mulheres)

Leucopenia é possível

Plaquetas elevadas com sangramento activo

Reticulócitos inferiores ao esperado para o grau de anemia

Medula Óssea

Hiperplasia eritróide

Ferro corável muito baixo ou ausente

Outros

Ferro sérico muito baixo, capacidade de ligação do ferro elevada, percentagem de saturação muito baixa

Ferritina sérica <10 ng/mL

Protoporfirina eritrocitária livre elevada

Tempo de sobrevivência dos eritrócitos ligeiramente baixo

2.4. Tratamento – comparação do ferro oral e ferro endovenoso

Para tratamento da anemia ferropriva existem duas preparações de ferro endovenoso disponível: complexo hidróxido férrico-polimaltose e ferro sacarosado (Tabela 5). A eficácia do ferro oral e ferro endovenoso foi comparada em alguns estudos e ensaios clínicos e dividida em quatro grupos: doenças renais crónicas, obstetrícia, doença inflamatória intestinal e transfusões autólogas de sangue.

1- Doença renal crónica: terapias com ferro endovenoso foram mais eficazes de que com ferro oral, não havendo aumento da mortalidade e morbilidade.

2- Obstetrícia: alguns estudos mostraram que a utilização do ferro endovenoso é superior ao ferro oral durante a gravidez.

3- Doença inflamatória intestinal: num estudo com 59 doentes, o ferro endovenoso sacarosado induziu um aumento clinicamente significativo de hemoglobina em 91% em 12 semanas sem toxicidade.

4- Transfusões autólogas de sangue: o ferro endovenoso sacarosado permitiu a selecção de mais unidades de sangue a ser doado do que suplementos com ferro oral e tiveram um maior benefício que o ferro oral, quando combinado com eritropoietina. No entanto, nenhum benefício foi observado quando a deficiência de ferro não estava presente.

Em resumo, as evidências indicam que o ferro endovenoso é mais eficaz do que o ferro oral, na correcção da deficiência de ferro, quando há um aumento da necessidade e da menor absorção do ferro, normalizando o valor da hemoglobina mais rápido e de forma mais efectiva do que o ferro oral¹⁸.

Tabela 5- Comparação do ferro oral com as duas formas disponíveis de ferro endovenoso

Terapêutica	Oral	Endovenoso	
		Complexo hidróxido férrico-polimaltose	Ferro sacarosado
Fiabilidade	Reduzida quando: Anemia por doença crónica, doença celíaca, contínua perda de ferro	Segura	Segura
Velocidade de reposição de ferro	Requer terapia prolongada, 3 meses	Rápido, uma infusão	3-5 semanas (5-10 infusões, 100-200 mg cada, semanal ou duas vezes por semana)
Adesão à terapia	Uma em cada quatro hipóteses de não-adesão	Monitorização clínica	Monitorização clínica
Frequência de efeitos colaterais	Até 40%	Raro	0.5 - 1%
Riscos	Inflamação intestinal	Anafilaxia (? <0,1%)	Anafilaxia <0,005%
Custos	Mais barato	Caro	Mais caro
Vantagens	Simple e fácil	Realizado durante o internamento	Exige repetição de infusões. Uma a duas por semana, até 5 semanas.

2.5. As transfusões de sangue na anemia por deficiência de ferro: definitivamente hora de repensar!

A deficiência de ferro é um problema comum, reconhecido em doentes internados no hospital. Anemia ferropriva em si pode ser a principal razão para a admissão. Poderá ser uma complicação de uma condição inflamatória, como doença intestinal, ou por deficiência de ferro, com ou sem anemia, ou estar presente mesmo num doente internado por outras razões.

A correcção da deficiência de ferro quando a hemoglobina permanece num valor analítico normal é também importante na melhoria dos efeitos desse défice, tais como o cansaço físico e mental. Por estas razões, é recomendado que todos os doentes com deficiência de ferro recebam suplemento de ferro.

São importantes dois aspectos a serem analisados: os benefícios relativos à terapia e riscos associados às opções terapêuticas consoante o estado clínico do doente.

As três opções na gestão da anemia com deficiência de ferro no internamento são: a transfusão de sangue, ferro por via oral e ferro endovenoso. A transfusão de sangue aumenta rapidamente a hemoglobina em situações de anemia grave. As indicações para transfusão e seus riscos são bem conhecidos. Não é considerado primariamente terapia para reposição do ferro.

O ferro oral permite a reposição de ferro eficazmente nos doentes que apresentam absorção de ferro normal, mas geralmente necessitam de pelo menos 3 meses de tratamento para alcançar o objectivo terapêutico. No entanto, sua eficácia pode ser prejudicada por três factores:

- 1- Os efeitos colaterais são muito comuns. Estudos prospectivos relataram incidência de 10-40% de diarreias, desconforto epigástrico, náuseas, vômitos e desconforto abdominal.

- 2- Múltiplos factores interferem na sua absorção. A ingestão de alimentos e alguns medicamentos. Mais preocupante é o efeito da inflamação crónica, o aumento da secreção de hepcidina no fígado, com consequente redução da absorção intestinal.

- 3- Nível de perda permanente de ferro pode alterar a absorção de ferro no tracto gastrointestinal. Em algumas situações, mesmo que a absorção de ferro seja eficiente, 25% dos doentes com doença inflamatória intestinal não recuperam os valores de ferro, apesar da aparente adesão à terapia¹².

3. Hemocromatose Hereditária – excesso de ferro e suas consequências

A hemocromatose hereditária (HH) é doença genética caracterizada por distúrbio do metabolismo do ferro, que resulta na acumulação sistémica deste metal e danos nas células parenquimatosas do fígado e outros órgãos-alvo, tais como pâncreas, coração e hipófise.

A identificação do gene HFE, em 1996, e posteriormente a identificação de outras mutações noutras genes que controlam o metabolismo do ferro, potencialmente capazes de produzir formas semelhantes de sobrecarga de ferro, trouxe, em poucos anos, grande evolução no conhecimento do metabolismo deste metal. Os testes genéticos revolucionaram o diagnóstico da Hemocromatose Hereditária¹⁹.

Actualmente são reconhecidos pela base de dados da OMIM (*Online Mendelian Inheritance in Man*) quatro tipos de HH envolvendo genes diferentes (tabela 6).

Tabela 6 – Classificação genética da Hemocromatose Hereditária (OMIM)

Tipo	Gene	Cromossoma	Proteína	Herança
Clássica (tipo1)	HFE	6p	HFE	Autossómica recessiva
Tipo 2 a	HJV	1q	Hemojuvelina	Autossómica recessiva
Tipo 2 b	HAMP	19q	Hepcidina	Autossómica recessiva
Tipo 3	TfR2	7q	Receptor da transferrina 2	Autossómica recessiva
Tipo 4	SCL40A1	2q	Ferroportina	Autossómica dominante

3.1. Hemocromatose hereditária clássica – gene HFE (tipo 1)

A Hemocromatose Hereditária clássica é uma doença autossómica recessiva associada à mutação do gene HFE, localizado no braço curto do cromossoma 6.

Na mutação C282Y onde há a alteração de uma única base que resulta na substituição de tirosina por cisteína na posição 282 da proteína HFE. Todos os homozigotos para a mutação C282Y são geneticamente predispostos a uma cadeia de eventos que pode culminar em graves lesões de diversos órgãos, secundárias à deposição de ferro tecidual.

Uma pequena proporção dos homozigotos C282Y nunca desenvolve nem mesmo evidências laboratoriais de distúrbios do metabolismo do ferro.

Outras mutações do gene HFE foram descritas, a mutação H63D, em que os efeitos clínicos são provocados por uma mutação em que ácido aspártico é substituído por uma histidina na posição 63 (H63D).

A proteína HFE assemelha-se às proteínas de classe I do complexo major de histocompatibilidade. A interacção entre HFE e o receptor da transferrina (TfR1), que medeia a captação do ferro ligado à transferrina pela maioria das células, foi amplamente documentada, embora seus efeitos biológicos ainda não sejam conhecidos. A importância dessa interacção para a patogénese da Hemocromatose Hereditária ainda não foi esclarecida. A mutação C282Y leva à ruptura de uma ponte dissulfeto na proteína HFE, que é essencial para sua ligação à $\beta 2$ microglobulina. Essa ligação é necessária à estabilização intracitoplasmática, transporte e expressão da proteína HFE na superfície celular e membranas endossómicas, onde HFE interage com TfR1. A mutação H63D não altera a interacção HFE-TfR1. Embora a função biológica de HFE não seja conhecida, algumas evidências indicam que esta pode ser importante para a síntese da hepcidina pelos hepatócitos²⁰.

3.2. Hemocromatose hereditária juvenil (tipo 2, subtipos a e b) – Genes HJV (hemojuvelina) e HAMP (hepcidina)

A Hemocromatose Hereditária juvenil caracteriza-se fenotipicamente pelo aparecimento precoce dos sintomas (segunda ou terceira décadas de vida) e são frequentes: o atingimento hepático, a diabetes, a cardiomiopatia, as arritmias e a insuficiência cardíaca. É caracterizada por uma sobrecarga de ferro muito intensa. A maioria dos casos identificados até ao momento está relacionada com mutações no gene da hemojuvelina (HJV), que codifica a respectiva proteína (subtipo 2a). Alguns casos raros de Hemocromatose Hereditária juvenil foram recentemente atribuídos à mutação no gene HAMP, que codificam a hepcidina (subtipo 2b). A mutação no gene da hemojuvelina, responsável pela hemocromatose juvenil tipo 2a, localiza-se no cromossoma 1 e codifica uma proteína de 426 aminoácidos²¹. O outro gene da hemocromatose juvenil é o da hepcidina, ou HAMP, responsável pela hemocromatose juvenil tipo 2b, que se localiza no cromossoma 19, de transmissão autossómica recessiva, e codifica a proteína hepcidina, que parece ter um papel chave na regulação da absorção do ferro²².

Trata-se de uma afecção em que expressão fenotípica é muito idêntica à Hemocromatose clássica HFE, só que a sobrecarga de ferro é mais intensa e ocorre em idades mais jovens²³.

Os níveis de hepcidina estão reduzidos em indivíduos com mutações no gene da HJV e um estudo recente mostrou que, *in vitro*, HJV é um regulador da transcrição da hepcidina.

A hepcidina é um peptídeo antimicrobiano, de 20 a 25 aminoácidos, produzido pelos hepatócitos em resposta ao estímulo inflamatório e à presença do ferro. Evidências em modelos animais indicam que a hepcidina é o principal regulador negativo (inibidor) do transporte de ferro no intestino delgado e na placenta e de sua liberação pelos macrófagos. Animais transgénicos que hiperexpressam a hepcidina morrem no período perinatal devido à anemia por deficiência de ferro em presença de sobrecarga de ferro no sistema reticuloendotelial.

Actualmente, considera-se que a hepcidina inibe o fluxo de ferro do intestino e de macrófagos pela interacção com a principal proteína de exportação de ferro dos mamíferos, a ferroportina. Em cultura de células que expressam a ferroportina, a hepcidina liga-se à ferroportina e leva à sua degradação.

A hepcidina concentra-se em órgãos que expressam a ferroportina, o que implica a provável redução da expressão de ferroportina e da saída de ferro do interior das células como enterócitos e macrófagos, sempre que os níveis circulantes de hepcidina estiverem aumentados

(inflamação e sobrecarga de ferro). Acredita-se que os níveis de ferro sérico ou de saturação da transferrina sejam os sinais para o estímulo da síntese de hepcidina²⁴.

3.3. Hemocromatose hereditária – Gene TfR2 relacionado ao receptor da Transferrina 2 (tipo 3)

O gene da transferrina 2 é responsável pela Hemocromatose Hereditária tipo 3.

O gene que codifica um segundo receptor da transferrina (TfR2) foi identificado em 1999. Ao contrário do TfR1, o novo receptor tem uma elevada expressão no fígado e não é regulado pela quantidade de ferro intracelular. TfR2 medeia a captação de ferro ligado à transferrina pelos hepatócitos, possivelmente através de endocitose mediada por receptor, mas a sua afinidade *in vitro* pela transferrina é 25 a 30 vezes menor que aquela do TfR1²⁴.

3.4. Sobrecarga de ferro relacionada à ferroportina (tipo 4) – Gene ferroportina

A Hemocromatose Hereditária tipo 4 foi clinicamente reconhecida em 1999 e ligada ao gene SLC40A1, localizado no cromossoma 2, que codifica a ferroportina.

A ausência de actividade da ferroportina leva à retenção anormal e a acumulação de ferro no organismo, principalmente por macrófagos do sistema reticuloendotelial do fígado e do baço.

Os valores da saturação da transferrina são normais ou reduzidos, excepto nas fases tardias da doença.

Caracteriza-se por transmissão autossómica dominante, início de sintomas na quarta ou quinta décadas de vida, apresentação fenotípica menos grave, má tolerância à flebotomia terapêutica e persistência de níveis elevados de ferritina¹⁹.

A tolerância reduzida às flebotomias aconselha a que este tratamento seja mais espaçado e a ter de se recorrer por vezes a eritropoetina, para correcção de anemia²⁵.

3.5. Quantificação da sobrecarga de ferro

A quantificação do ferro é necessária quer para o diagnóstico quer para a monitorização da terapêutica (Tabela 7)²⁷.

Tabela 7- Métodos para a quantificação do ferro

	Vantagens	Desvantagens
Ferritina sérica	Fácil, frequente Não invasivo Económica	Medida indirecta Influenciado por inflamação e deficiências metabólicas
Biopsia Hepática	Medição directa do ferro Histologia	Invasivo Não representativo da totalidade do órgão Técnicos especializados
Ressonância Magnética	Não invasivo Totalidade do órgão	Medição indirecta

3.6. Diagnóstico da Hemocromatose hereditária

As alterações laboratoriais mais comuns na hemocromatose consistem no aumento da concentração do ferro sérico, aumento da saturação da transferrina e concentração sérica elevada da ferritina²⁶. O despiste da HH é feito com base na saturação de transferrina (>50% no sexo feminino e >60% no sexo masculino) e, de seguida, pelo estudo genético. Caso se confirme o diagnóstico e se verifique sobrecarga de ferro, será necessário avaliar se o tratamento deverá ser realizado com agentes quelantes do ferro (desferroxamina), na presença de valores de hemoglobina inferiores a 11g/dl, ou com flebotomias, caso os valores de hemoglobina sejam superiores. Deverá ser iniciado um tratamento intensivo semanal até obtenção de um valor de ferritina sérica entre 20 e 50microgramas/ml e uma saturação de transferrina inferior a 30%. Durante o tratamento, é pedido um controlo analítico de acordo com o seguinte: semanalmente o valor de hemoglobina; mensalmente, o doseamento de ferro sérico bem como a capacidade de fixação de transferrina (para cálculo da saturação da transferrina); bimensalmente, a ferritina. Ao atingir valores alvos de ferritina, segue-se o tratamento de manutenção, com flebotomias trimestrais.

Note-se que o sexo feminino geralmente inicia tratamento mais tarde por apresentar perdas hemáticas crónicas (menstruais)^{27,28,29,30}.

A eficácia das flebotomias deve ser antecipada e tem em conta três aspectos: a eficácia no excesso de ferro, a qual é sempre excelente e constante; a eficácia na sobrevida, que apenas está diminuída na presença de diabetes mellitus ou cirrose hepática (sendo que neste último caso a sobrevida é maior do que nos doentes com cirrose hepática de etiologia vírica ou alcoólica); eficácia nos sintomas e sinais focais, sendo boa para fadiga, hiperpigmentação cutânea, dor abdominal e elevação das transaminases, moderada para artralgia, diabetes mellitus não insulino-dependente, algumas manifestações cardíacas e fibrose hepática sem cirrose, má para impotência sexual, e ausente para cirrose hepática associada ou não a hepatocarcinoma^{31,32}.

3.7. Tratamento da Hemocromatose hereditária

A terapia consiste simplesmente nas flebotomias frequentes visando a diminuição do ferro da hemoglobina, conseqüentemente diminuindo as reservas de ferro.

3.8. Genes envolvidos na Hemocromatose hereditária

Na HH foi identificado um gene regulador da absorção de ferro que interfere com os receptores da transferrina, o gene HFE, um gene MHC classe I, localizado no braço curto do cromossoma 6, e as suas principais mutações C282Y e H63D, que resultam respectivamente na substituição do aminoácido cisteína na posição 282 por uma tirosina e pela substituição da histidina na posição 63 por ácido aspártico²¹. Estas mutações genéticas são as únicas que podem ser detectadas clinicamente, sendo que a prevalência dos sintomas depende da severidade no gene, podendo o doente encontrar-se assintomático ou com um quadro de hepatite crónica. A severidade no gene HFE parece ser baixa e existe uma grande heterogeneidade na expressão clínica da doença^{27,28}, parecendo haver envolvimento de outros genes, principalmente com interferência no metabolismo do ferro, que actuariam como modificadores genéticos (ou seja modificadores do gene HFE) e também da recente teoria da hereditariedade digénica em que para se expressar a doença seria necessária a herança de duas mutações genéticas, o que raramente acontece²⁴. Por este motivo, é difícil encontrar uma explicação para o facto de apenas uma percentagem relativamente pequena de doentes homocigóticos para a mutação C282Y desenvolver sobrecarga de ferro.

Foram mais recentemente descritas outras formas menos frequentes de hemocromatose provocadas por mutações em genes HFE (sendo, do ponto de vista clínico, a mais importante a S65C) e não-HFE envolvidos no metabolismo do ferro^{21,33,34}.

3.9. Estudo comparativo das duas mutações mais frequentes do gene HFE (C282Y e H63D): frequências alélicas significativamente diferentes entre o Norte e o Sul de Portugal

Um estudo anterior com valores de referência dos parâmetros do ferro em Portugal mostrou diferenças significativas entre as populações do norte e sul do país. Este estudo aborda a questão da distribuição geográfica em Portugal das duas principais mutações (C282Y e H63D) da hemocromatose hereditária no gene HFE. As amostras seleccionadas foram das principais regiões de Portugal: Norte, Centro, Lisboa e Vale do Tejo, Alentejo e Algarve.

A frequência das mutações no gene HFE nos doentes em estudo foi observada em várias populações europeias e em populações de ascendência europeia.

A maior frequência alélica para a mutação C282Y foram encontradas nos países do norte da Europa, nomeadamente na Irlanda, com uma frequência mais baixa, foi observada em países do sul da Europa, nomeadamente Itália.

A mutação H63D foi encontrada em frequências mais elevadas na Península Ibérica. Em populações não-caucasianas as mutações HFE estiveram ausentes ou foram encontrados com frequências mais baixas.

Esse estudo relatou diferenças regionais nos parâmetros do ferro entre Norte e Sul de Portugal. Essas diferenças foram observadas tanto nos níveis séricos de ferritina nas mulheres e nos níveis de ferro sérico em homens das duas regiões, apresentando valores séricos mais elevados em doentes do Norte. Estas diferenças também reflectiram a prevalência na sobrecarga de ferro e deficiência de ferro nas duas regiões. A deficiência de ferro foi mais significativa no sul do país, em contraste com sobrecarga de ferro que foi encontrado mais comumente no Norte²⁹.

4. Objectivos

Este estudo pretende avaliar a eficácia da terapia com ferro oral ou endovenoso na anemia ferropênica como uma alternativa/ suplemento da transfusão de sangue em doentes internados nos Serviços Médicos do Hospital Santa Maria Maior, EPE tentando, diminuir assim o uso de componentes sanguíneos eritrocitários transfundidos nestes doentes.

Pretende-se estudar casos de anemia ferropênica em doentes candidatos à transfusão sanguínea determinando alguns parâmetros hematológicos e bioquímicos como: dosagem de hemoglobina, ferro sérico, capacidade de fixação do ferro, transferrina e ferritina. Os doentes que apresentem níveis de ferro sérico abaixo do valor normal para a idade, beneficiaram de suporte terapêutico de ferro endovenoso ou oral, ou ambos, como terapêutica de 1ª escolha e só se necessário clinicamente se procederia a transfusão de componentes sanguíneos, avaliado caso a caso, pelo médico prescritor.

Foi feito o estudo da frequência das mutações H63D e C282Y do gene da proteína HFE nos doentes da consulta externa do Hospital Santa Maria Maior, E.P.E com o diagnóstico de Hemocromatose hereditária, avaliando os parâmetros analíticos, e tentar perceber a sua severidade dependendo da mutação do doente, bem como, a prevalência da mutação no nosso hospital comparando com o que está descrito na literatura.

Foi feita a determinação da correlação estatística entre genótipos das mutações e os valores da ferritina e saturação da transferrina.

Por fim, pretendeu-se correlacionar a associação dos diferentes genótipos das mutações H63D e C282Y do gene HFE com a necessidade da terapêutica de flebotomias.

5. Métodos

5.1. Grupo de estudo

Nos doentes com anemia ferropénica, aquando da entrada do pedido de transfusão do internamento em Medicina caso o doente não tivesse no laboratório as análises do perfil bioquímico do ferro, estas seriam realizadas e conforme os resultados obtidos, caso existisse défice de ferro de acordo com a idade, informar-se-ia o médico prescriptor para reavaliação da situação clínica do doente e para que com estes dados, ponderar-se a terapêutica endovenosa/oral de ferro e reavaliar as necessidades transfusionais do momento.

Foi estabelecido um protocolo entre o Serviço de Imuno-Hemoterapia e os Serviços de Internamento Médico no uso de terapêutica com ferro endovenoso/oral em doentes internados com anemias ferropérvias.

O principal critério para a inclusão dos doentes no estudo foi a hemoglobina $<10\text{g/dL}$ e perfil do ferro estudado e compatível com anemia ferropriva. Quanto aos critérios de exclusão, não participaram no estudo doentes com anemia com sangramento activo, doentes com idades inferiores a 18 anos e doentes a realizar quimioterapia.

Nos doentes com o diagnóstico de hemocromatose hereditária, o grupo de estudo foi constituído por os 18 doentes provenientes da consulta externa do Hospital Santa Maria Maior, E.P.E.

5.2. Determinação das análises clínicas

Foram quantificados laboratorialmente as análises para o perfil do ferro, ferro sérico, ferritina, capacidade total de fixação do ferro e transferrina.

O kit utilizado na quantificação de ferro sérico, Ref. 2073585322 (Roche Diagnostic, Mannheim) apresenta sensibilidade analítica (limite de detecção inferior) de $1.34\ \mu\text{g/dL}$. O kit utilizado na quantificação da capacidade total de fixação do ferro, Ref. 20737631322 (Roche Diagnostic, Mannheim) apresenta uma sensibilidade analítica de $23.5\ \mu\text{g/dL}$. O limite de detecção representa o nível mais baixo mensurável passível de ser distinguido de zero.

O kit utilizado na quantificação da ferritina, Ref. 03528995190 (Roche Diagnostic, Mannheim) apresenta sensibilidade analítica de $7.5\ \text{ng/mL}$.

O kit utilizado para a quantificação da transferrina, Ref. 20763454122 (Roche Diagnostic, Mannheim) apresenta sensibilidade analítica de $0.1\ \text{ng/L}$.

Estes parâmetros analíticos foram quantificados em plasma e/ou soro num autoanalisador de imunodiagnóstico totalmente automatizado, Aparelho Integras 800 da Roche Diagnostic, (Mannheim). É um autoanalisador de elevada sensibilidade e de largo espectro de leitura.

5.3. Tratamento com ferro

Foi efectuado com os seguintes combinados - **Óxido Férrico Sacarado Combino 100 mg/ 5 ml injectável**: em que cada ampola de 5 ml contém 100 mg de ferro sob a forma de complexo de hidróxido de ferro (III) – sacarose e **Ferro-Gradumet 525 mg comprimidos de libertação prolongada**: em que cada comprimido de libertação prolongada contém 525 mg de sulfato ferroso (equivalente a 105 mg de ferro elementar).

5.4. Análise estatística

Para o tratamento e análise estatística dos dados recolhidos foram utilizadas as ferramentas informáticas Statistical Package for the Social Sciences (SPSS version 17.0 para windows), e a aplicação Microsoft Office Excel 2007 para a construção de tabelas e gráficos. Para a análise das hipóteses utilizou-se o teste t-student para a análise da significância com os valores de $p < 0,05$, com um intervalo de confiança de 95%.

5.5. Aspectos Éticos

O estudo foi aprovado pelos Comités de Ética do Hospital Santa Maria Maior, E.P.E.

6. Resultados

Durante os 10 meses de estudo, todos os doentes em que foi realizado o doseamento da hemoglobina e provenientes do internamento de medicina do Hospital Santa Maria Maior, E.P.E, Barcelos apresentando anemia (hemoglobina <10g/dL), foram efectuadas análises do perfil do ferro e analisados quais os doentes com anemia ferropriva.

O tratamento a cada doente era discutido com o Serviço de Imuno-Hemoterapia e o médico prescriptor, utilizando as orientações que estão apresentadas na tabela 8.

A média da análise da hemoglobina dos doentes antes da terapêutica foi de 8.12 g/dL.

Tabela 8- Orientações para a terapia de reposição de ferro em doentes internados no hospital

Cenário	Detalhes	Exemplos	Tratamento proposto
A. Atenção urgente para a hemoglobina	Risco de vida, anemia e/ou perda de grande volume de sangue	- Anemia severa - Anemia e insuficiência cardíaca - Anemia e angina instável	Transfusão de Sangue e terapia com ferro
B. Semi-urgente para reposição do ferro	A deficiência de ferro é relevante no processo da doença, e a sua correcção é necessária para melhoramento clínico	- insuficiência cardíaca, doença isquémica cardíaca - perda contínua de ferro e/ou má absorção intestinal de ferro (doença inflamatória crónica ou outras condições malignas, insuficiência renal crónica - fezes escuras (exigir colonoscopia)	Ferro endovenoso
C. Não urgente para reposição do ferro	Deficiência de ferro, que não compromete o doente		Oral ou endovenoso de acordo com a situação do doente

6.1. Caracterização da Amostra

A amostra em estudo foi constituída por 36 indivíduos que são identificados numericamente para facilitar a relação dos seus valores analíticos entre gráficos, dos quais 20 (55,6%) são do sexo masculino e 16 (44,4%) do sexo feminino. A média de idade dos indivíduos é de 73 anos, com o valor mais baixo registado de 37 anos e o mais elevado de 93 anos. Os indivíduos do sexo masculino apresentaram uma média de idade de 71 anos com um mínimo de 37 e máximo de 93, tendo sido a média dos indivíduos do sexo feminino de 77 anos com um valor de 51 como o mais baixo e de 92 como o valor mais elevado (Tabela 9).

Tabela 9 – Idade e Sexo dos indivíduos estudados nesta amostra

	Nº Casos	Média Idade	Máximo	Mínimo
Sexo Masculino	20	71	93	37
Sexo Feminino	16	77	92	51

6.1.1. Distribuição dos doentes transfundidos

Durante os 10 meses de estudo foram transfundidas 132 unidades de glóbulos rubros (GR), das quais 36 unidades pertencem ao estudo (figura 2), isto é, foram transfundidas 36 unidades a doentes com anemia ferropénica.

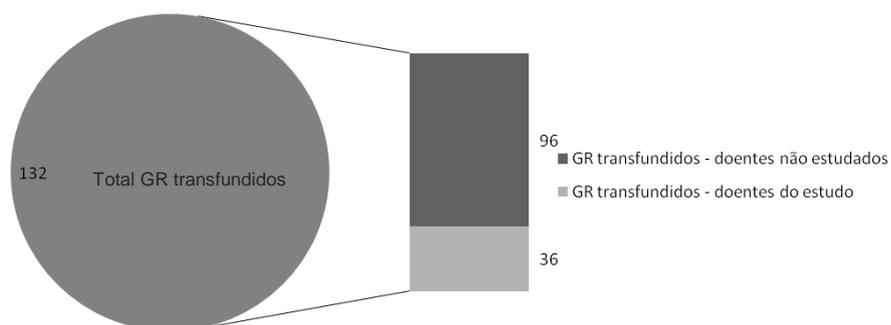


Figura 2– Dos 132 glóbulos rubros transfundidos, 36 pertencem ao estudo.

6.1.2. Distribuição do número de pedidos de transfusão de componentes eritrócitários e relacionar com os doentes transfundidos e os doentes não transfundidos

Aos doentes que pertencem ao estudo foram pedidas pelo médico prescriptor 50 unidades de eritrócitos, das quais apenas 36 foram transfundidas, representando 14 unidades que foram evitadas transfundir ao doente (figura 3) e substituídas pela terapia com ferro após comunicado ao médico prescriptor o resultado das análises do perfil do ferro.

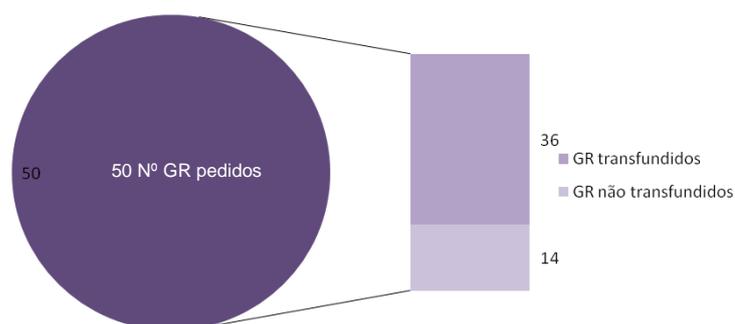


Figura 3 – No estudo de 10 meses, houve 50 pedidos de glóbulos rubros, dos quais 36 foram transfundidos pela indicação clínica do doente e 14 unidades de glóbulos rubros ficaram sem efeito, sendo só realizada terapêutica com ferro após contacto com o médico prescriptor.

6.1.3. Distribuição do número dos doentes transfundidos que revelam anemia ferropénica e doentes com anemia sem estudo

Durante os 10 meses de estudo houve 62 doentes que após o doseamento da hemoglobina apresentavam anemia (hemoglobina <10g/dL) e foi realizado o pedido de transfusão. Verificou-se que desses 62 doentes, após o estudo da análise do perfil do ferro, 36 doentes apresentavam anemia ferropénica (figura 4).

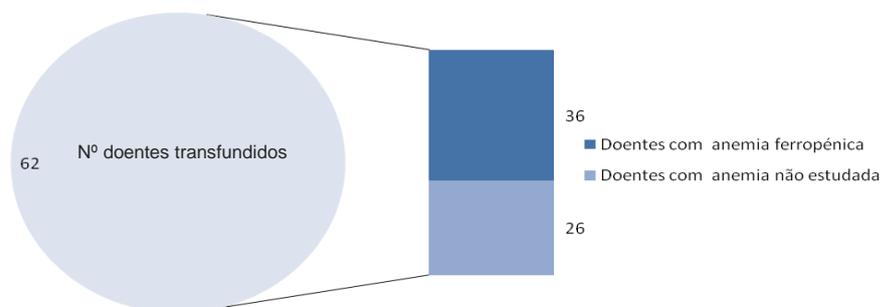


Figura 4 – Durante o período do estudo 62 doentes foram transfundidos, dos quais 36 pertencem ao estudo, isto é, doentes com o diagnóstico de anemia ferropénica.

6.1.4. Distribuição do diagnóstico principal nos doentes em estudo

Da análise do diagnóstico principal verificamos que o diagnóstico mais predominante foi a infecção do tracto urinário com 11 casos. De seguida verificou-se 7 casos na doença renal crónica. A anemia e pneumonia verificou-se em 4 casos e a insuficiência cardíaca em 3 casos (figura 5).

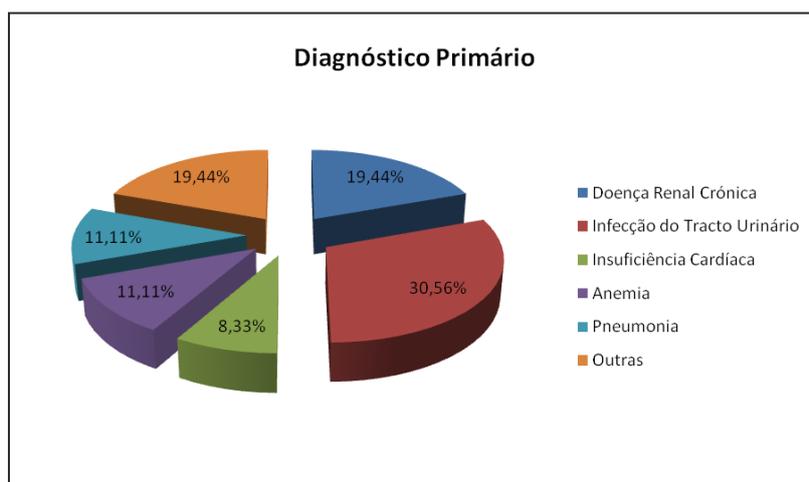


Figura 5 – Diagnóstico principal dos doentes com anemia ferropríva

6.1.5. Distribuição do diagnóstico secundário nos doentes em estudo

Da análise do diagnóstico secundário verificamos que o diagnóstico mais predominante foi a diabetes mellitus (figura 6).

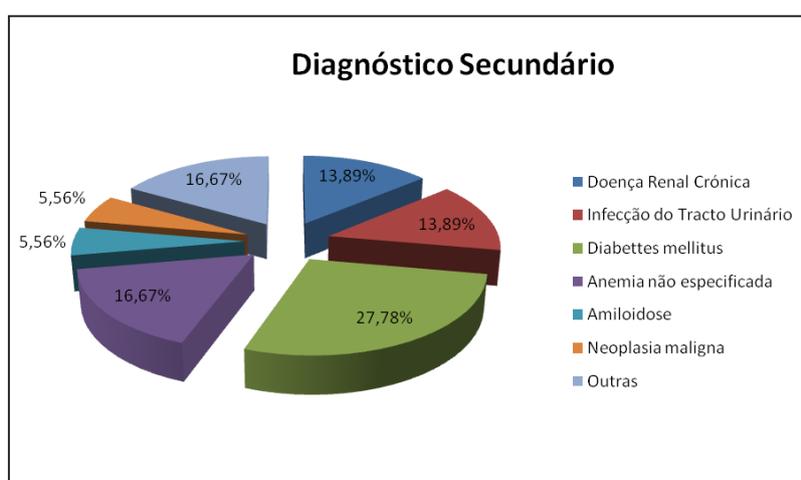


Figura 6 – Diagnóstico secundário dos doentes com anemia ferropríva

6.1.6. Distribuição dos valores analíticos da hemoglobina nos doentes em estudo

Da análise dos valores da hemoglobina antes e após a terapêutica verificou-se que se registou um aumento do valor médio registado, valor esse de 8,12g/dL antes da Transfusão/Terapêutica (TT) e de 9,71g/dL após a TT, bem como dos valores máximos e mínimos 9,90 g/dL e 6,70 g/dL antes da TT e 11,70 g/dL e 7,70 g/dL após a TT respectivamente (Tabela 10). Analisando individualmente cada um dos casos verificou-se que apenas 2 doentes não registaram um aumento dos valores após a TT.

Tabela 10- Valores da hemoglobina antes e após a terapêutica

	Nº Casos Válidos	Média	Máximo	Mínimo
Hemoglobina (g/dL) antes Transfusão\Terapêutica	36	8,12	9,90	6,70
Hemoglobina (g/dL) após Transfusão\Terapêutica	36	9,71	11,70	7,70

6.1.6. a) Valores da hemoglobina nos doentes com a terapêutica transfusão e ferro oral/endovenoso

No gráfico 1, em que o tratamento é apenas com transfusão 9 dos doentes apresentaram subida ligeira dos valores da hemoglobina e um doente apresentou descida do valor de hemoglobina.

No gráfico 2, em que o tratamento é efectuado com transfusão e terapêutica com ferro oral, os 6 doentes aumentaram após terapêutica significativamente os valores da hemoglobina.

No gráfico 3, em que o tratamento é efectuado com transfusão e terapêutica com ferro endovenoso os 5 doentes aumentaram após terapêutica significativamente os valores da hemoglobina.

No gráfico 4, em que o tratamento é efectuado com transfusão e terapêutica com ferro oral e endovenoso o doente teve um aumento de aproximadamente 2 g/dL no valor de hemoglobina.

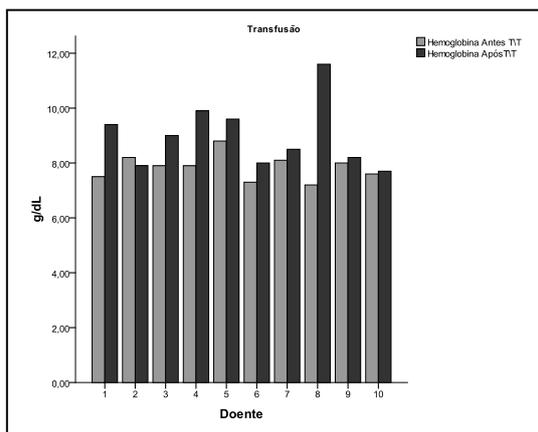


Gráfico 1- valores da hemoglobina com terapêutica transfusão

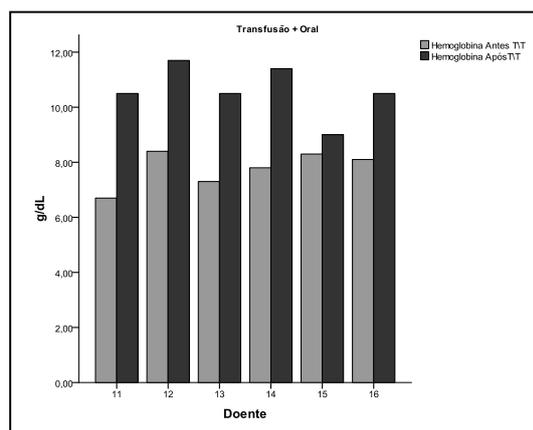


Gráfico 2- valores da hemoglobina com terapêutica transfusão e ferro oral

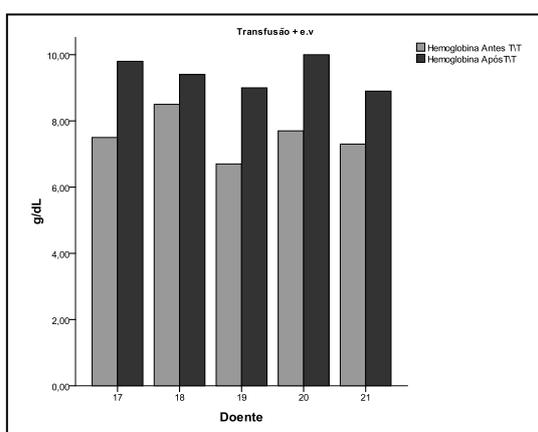


Gráfico 3- valores da hemoglobina com terapêutica transfusão e ferro endovenoso

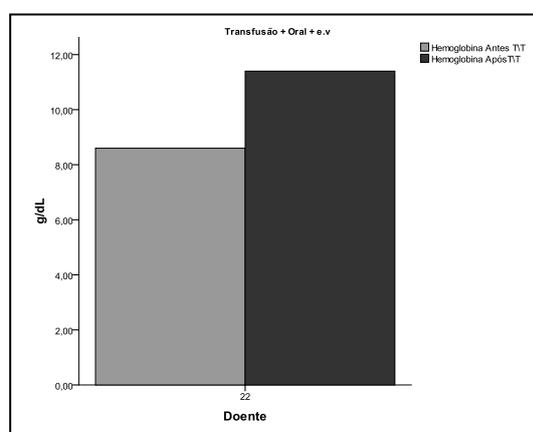


Gráfico 4- valores da hemoglobina com terapêutica transfusão e ferro oral e endovenoso

6.1.6. b) Valores da hemoglobina nos doentes com a terapêutica ferro oral/endovenoso

No gráfico 5, os 6 doentes que efectuaram tratamento com ferro oral, apenas 1 doente não teve um valor satisfatório apresentando uma descida da hemoglobina após o tratamento, tendo os restantes 5 doentes um aumento do valor da hemoglobina. No gráfico 6, 6 doentes efectuaram tratamento com ferro endovenoso apenas 1 doente não melhorou o valor da hemoglobina, mantendo-o, tendo um aumento do valor da hemoglobina os 5 restantes doentes.

No gráfico 7, 2 doentes efectuaram tratamento com ferro oral e endovenoso, sendo ambos satisfatórios.

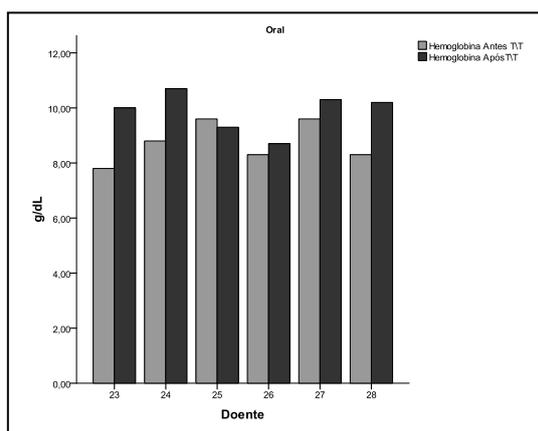


Gráfico 5 - valores da hemoglobina com terapêutica ferro oral

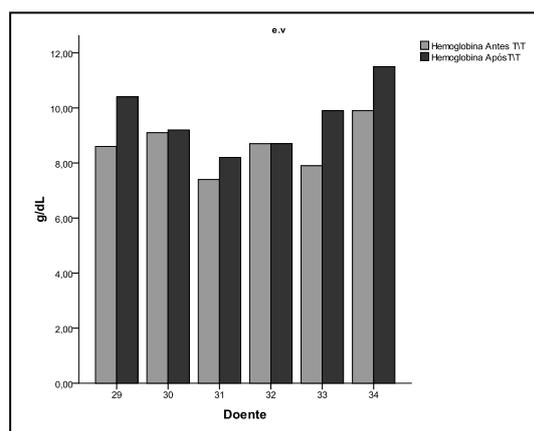


Gráfico 6 - valores da hemoglobina com terapêutica ferro endovenoso

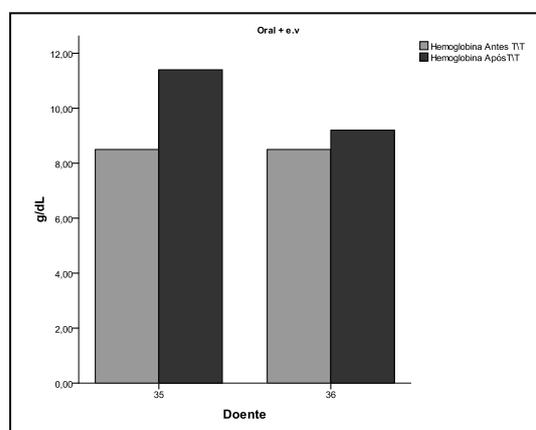


Gráfico 7 - valores da hemoglobina com terapêutica ferro oral e endovenoso

6.1.7. Distribuição dos valores analíticos do ferro sérico nos doentes em estudo

Relativamente ao ferro sérico deve-se salientar o facto de antes da TT ter-se registado 35 casos com valores e após a TT apenas 26 com valores registados. Quer ao nível dos valores médios, quer ao nível dos valores máximos e mínimos verificou-se um aumento nos valores registados após a TT. Um valor médio de $22,06\mu\text{g/dL}$, um máximo de $45,00\mu\text{g/dL}$ e mínimo de $7,00\mu\text{g/dL}$ foram registados para antes TT e uma média de $50,27\mu\text{g/dL}$, máximo de $131,00\mu\text{g/dL}$ e mínimo de $12,00\mu\text{g/dL}$ para o registado após TT (Tabela 11). Perante a análise individual dos registos verificou-se que nos casos em que se recolheram valores antes e após TT, 4 dos doentes apresentaram registos divergentes da média ao registarem valores inferiores no após TT.

Tabela 11 – Valores de ferro sérico antes e após a Transfusão\Terapêutica.

	Nº Casos Válidos	Média	Máximo	Mínimo
Ferro Sérico ($\mu\text{g/dL}$) Antes Terapêutica	35	22,06	45,00	7,00
Ferro Sérico ($\mu\text{g/dL}$) Após Terapêutica	26	50,27	131,00	12,00

Tabela 11 – Valores de ferro sérico e número de casos válidos e média, mínimo e máximo.

6.1.7. a) Valores do ferro sérico nos doentes com a terapêutica transfusão e ferro oral/endovenoso

No gráfico 8, dos 10 doentes com terapêutica com transfusão de glóbulos rubros apenas 4 apresentam resultados após terapêutica. Desses 4 doentes, 2 doentes apresentam aumento do valor sérico do ferro e 2 doentes apresentam descida significativa do valor do ferro sérico. No gráfico 9, dos 6 doentes, 3 apresentam resultados do valor do ferro após terapêutica com transfusão mais ferro oral, sendo os três resultados satisfatórios. No Gráfico 10, os 5 doentes que efectuaram tratamento com transfusão e ferro endovenoso apresentam um aumento bastante significativo do valor do ferro sérico após terapêutica. No gráfico 11, 1 doente que efectuou tratamento com transfusão e ferro oral e endovenoso teve um aumento do valor sérico do ferro após a terapêutica acima do esperado, sendo um aumento muito significativo.

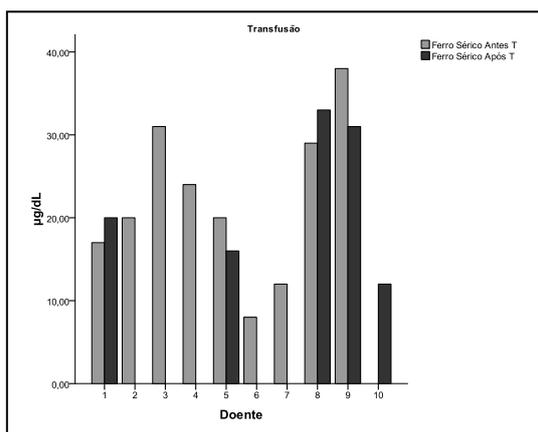


Gráfico 8 - valores do ferro sérico com terapêutica transfusão

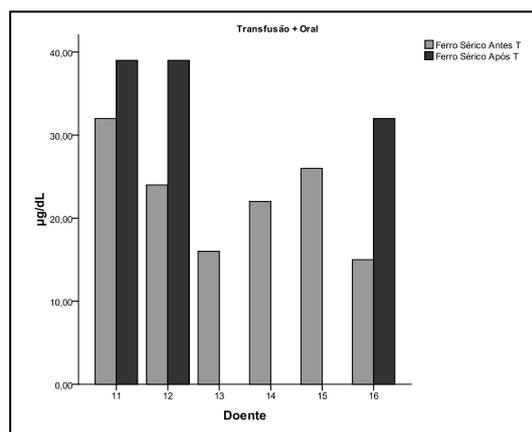


Gráfico 9 - valores do ferro sérico com terapêutica transfusão e ferro oral

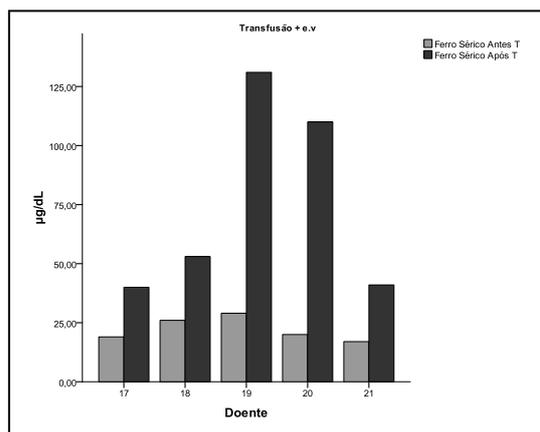


Gráfico 10 - valores do ferro sérico com terapêutica transfusão e ferro endovenoso

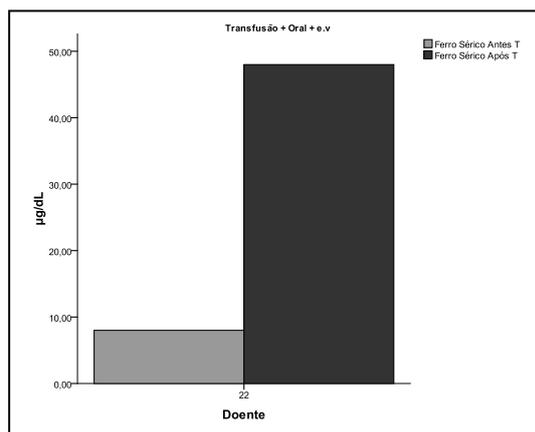


Gráfico 11 - valores do ferro sérico com terapêutica transfusão e ferro oral e endovenoso

6.1.7. b) Valores do ferro sérico nos doentes com a terapêutica ferro oral/endovenoso

No gráfico 12, os 6 doentes que fizeram tratamento com ferro oral, 5 apresentam aumento dos valores do ferro sérico e apenas 1 doente não teve resultados satisfatórios apresentando um valor mais baixo do ferro sérico após tratamento. No gráfico 13, dos 6 doentes efectuaram terapêutica com ferro endovenoso, apenas 4 doentes apresentam aumento dos valores do ferro analíticos após tratamento, sendo de realçar 2 doentes que o aumento foi bastante significativo. No gráfico 14, os 2 doentes que fizeram tratamento com ferro oral e endovenoso, curiosamente um doente diminuiu o valor analítico do ferro sérico após tratamento e o outro doente aumento significativamente.

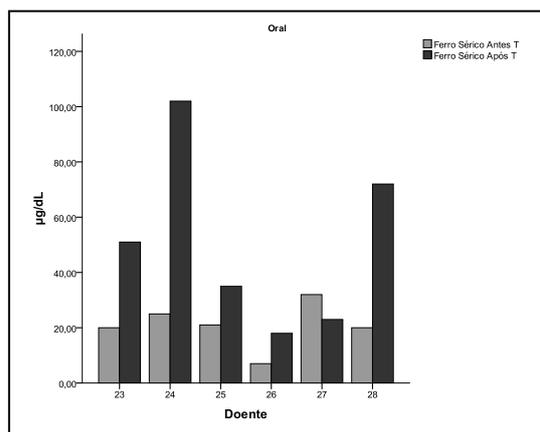


Gráfico 12 - valores do ferro sérico com terapêutica ferro oral

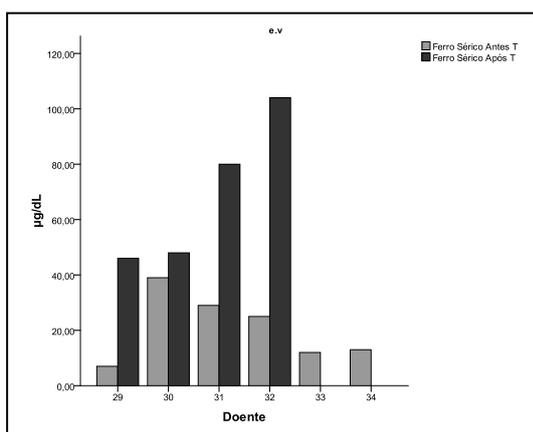


Gráfico 13 - valores do ferro sérico com terapêutica endovenoso

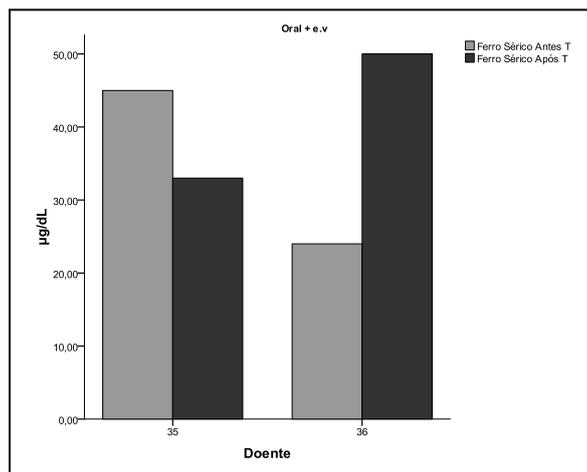


Gráfico 14 - valores do ferro sérico com terapêutica ferro oral e endovenoso

6.1.8. Distribuição dos valores analíticos da ferritina nos doentes em estudo

Da análise da Ferritina verificou-se a existência de 32 casos com registos antes da TT e 24 após a TT. O valor médio registado antes da TT (380,81ng/mL) regista um aumento após a TT (451,70 ng/mL), sendo que o valor máximo verificado após TT (1276,79 ng/mL) é inferior ao registado antes da TT (1435,93 ng/mL), e o valor mínimo antes da TT (7,43 ng/mL) também regista um aumento na após TT (44,60 ng/mL) (Tabela 12). Pela análise individual de cada caso verificou-se uma grande variação nos resultados obtidos no antes e após TT.

Tabela 12 – Valores de Ferritina antes e após a Transfusão\Terapêutica

	Nº Casos Válidos	Média	Máximo	Mínimo
Ferritina (ng/mL) Antes Terapêutica	32	380,81	1435,93	7,43
Ferritina (ng/mL) Após Terapêutica	24	451,70	1276,79	44,60

Tabela 12 – Valores de Ferritina e número de casos válidos e média, mínimo e máximo.

6.1.8. a) Valores da ferritina nos doentes com a terapêutica transfusão e ferro oral/endovenoso

No gráfico 15, os 4 doentes que apresenta resultados antes e após terapêutica com transfusão apenas 1 doente subiu os valores de ferritina, sendo que os 3 restantes desceram os níveis de reserva de sangue. No gráfico 16, os 3 doentes com resultado após terapêutica com transfusão e ferro oral, 2 doentes apresentam resultados satisfatórios e significativos e 1 doente não obteve

o resultado esperado, diminuindo os níveis de ferritina após a terapêutica. No gráfico 17, 4 doentes apresentam valores de ferritina após terapêutica com transfusão e ferro endovenoso, tendo apenas 1 doente resultado positivo após terapêutica. No gráfico 18, os 5 doentes que apresentam resultados antes e após terapêutica com transfusão e ferro oral e endovenoso apenas 2 doentes apresentam aumento dos níveis de ferritina.

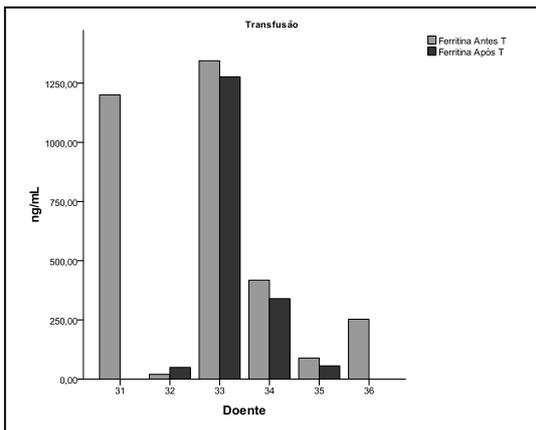


Gráfico 15 - valores da ferritina sérica com terapêutica transfusão

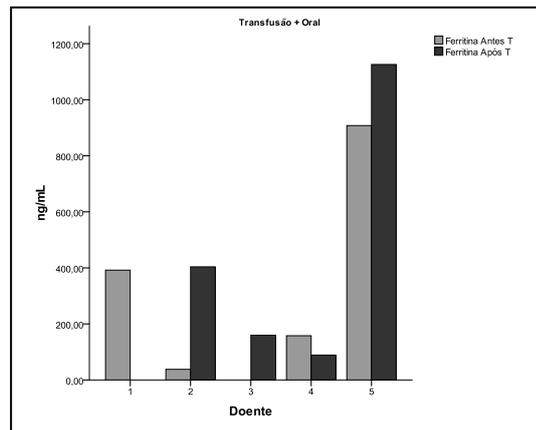


Gráfico 16 - valores da ferritina sérica com terapêutica transfusão e ferro oral

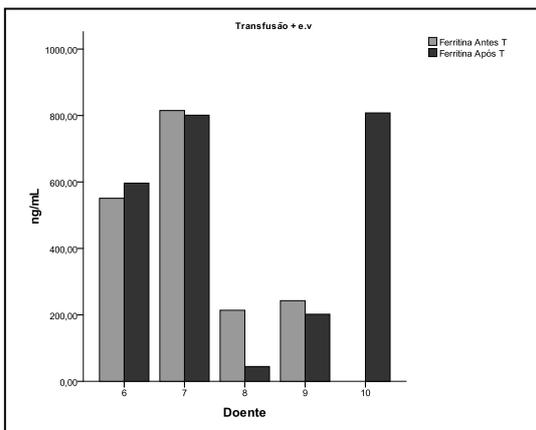


Gráfico 17 - Valores da ferritina sérica com terapêutica transfusão e ferro endovenoso

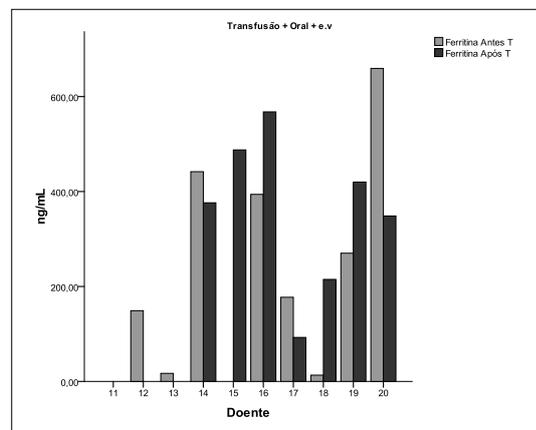


Gráfico 18 - valores da ferritina sérica com terapêutica transfusão e ferro oral e endovenoso

6.1.8. b) Valores da ferritina nos doentes com a terapêutica ferro oral/endovenoso

No gráfico 19, apenas 1 doente que fez tratamento com ferro oral fez análise da ferritina sérica após terapêutica, sendo um resultado bastante significativo. No gráfico 20, 2 doentes realizaram análise após terapêutica, apresentando valores diferentes, 1 doente aumentou os níveis de ferritina o outro doente diminuiu. No gráfico 21, o doente diminuiu significativamente o valor de ferritina após o tratamento com ferro oral e endovenoso.

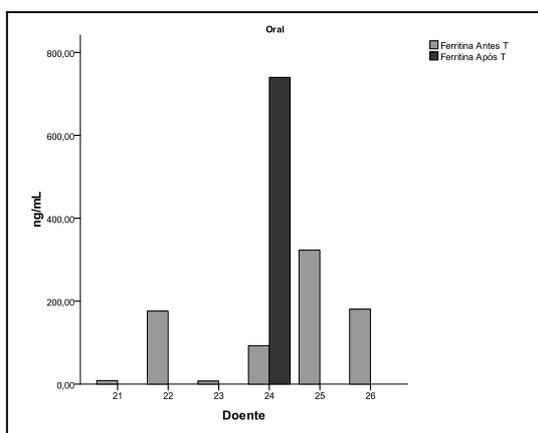


Gráfico 19 - valores da ferritina sérica com terapêutica ferro oral

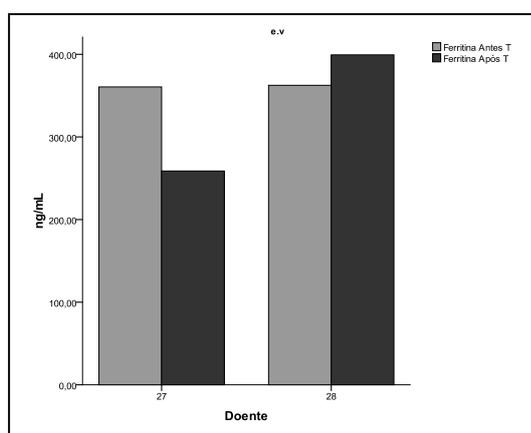


Gráfico 20 - valores da ferritina sérica com terapêutica ferro endovenoso

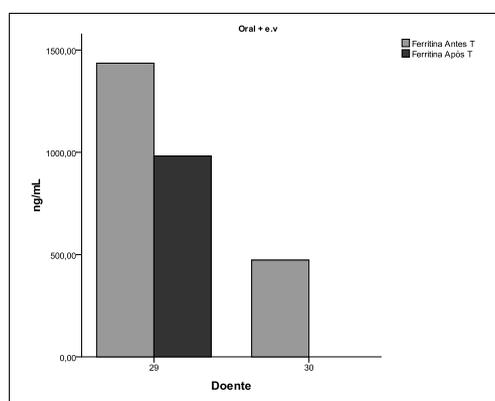


Gráfico 21 - valores da ferritina sérica com terapêutica ferro oral e endovenoso

6.1.9. Distribuição dos valores analíticos da capacidade total de fixação do ferro nos doentes em estudo

Relativamente à capacidade total de fixação do ferro verificou-se novamente menos casos válidos de registo no após TT (24). O valor médio sofre um ligeiro aumento no após tratamento (203,25 µg/dL) em relação a antes TT (197,97µg/dL), tendência que não é seguida pelos valores máximos e mínimos registados que diminuem no após TT. Valor máximo registado antes TT foi de 488,00 µg/dL e o mínimo foi de 79,00µg/dL enquanto no após TT o máximo foi de 409,00µg/dL e o mínimo de 54,00µg/dL (Tabela 13). Analisando individualmente cada um dos casos verificou-se que apesar de uma variação relativamente ao aumento ou diminuição dos valores, houve uma maior tendência para o aumento dos valores após TT.

Tabela 13 – Valores de Capacidade Total de Fixação do Ferro antes e após a Transfusão Terapêutica

	Nº Casos Válidos	Média	Máximo	Mínimo
Cap. Fixação Ferro Antes Terapêutica	35	197,97	488,00	79,00
Cap. Fixação Ferro Após Terapêutica	24	203,25	409,00	54,00

6.1.9. a) Valores analíticos da capacidade total de fixação do ferro nos doentes com a terapêutica transfusão e ferro oral/endovenoso

No gráfico 22, 4 doentes que fizeram tratamento com apenas transfusão, apenas 1 doente diminuiu o valor da ferritina após a terapêutica, tendo os restantes 3 doentes aumentado. No gráfico 23, verificou-se o oposto, nos 4 doentes com terapêutica transfusão e ferro oral, 3 doentes diminuíram a ferritina sérica após a terapêutica, tendo apenas 1 doente aumentado. No gráfico 24, dos 5 doentes, 4 aumentaram o seu valor após a terapêutica com transfusão e ferro endovenoso, tendo 1 doente diminuído ligeiramente. No gráfico 25, os 6 doentes que realizaram análise à ferritina sérica após a terapêutica com transfusão e ferro oral e endovenoso, 3 doentes aumentaram o valor da ferritina sérica, tendo 1 doente mantido o seu valor e 2 doentes diminuído.

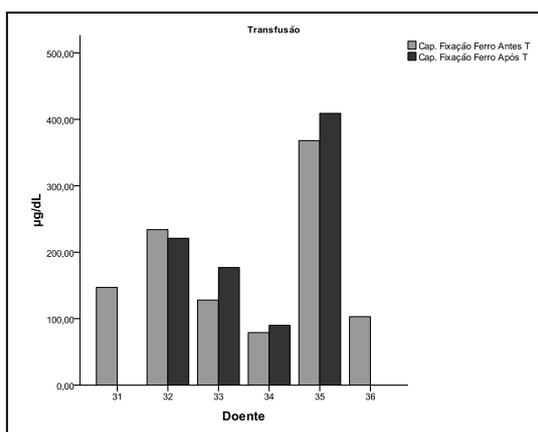


Gráfico 22 - valores da C. fixação do ferro com terapêutica transfusão

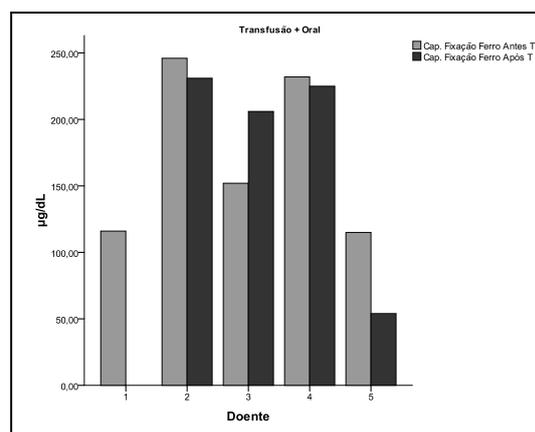


Gráfico 23 - valores da C. fixação do ferro com terapêutica transfusão e ferro oral

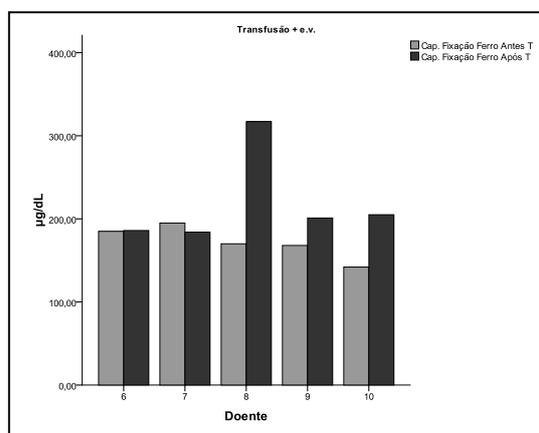


Gráfico 24 - valores da C. fixação do ferro com terapêutica transfusão e ferro endovenoso

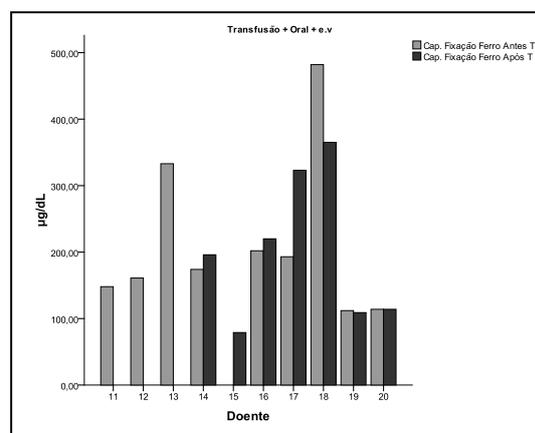


Gráfico 25 - valores da C. fixação do ferro com terapêutica transfusão e ferro oral e endovenoso

6.1.9. b) Valores analíticos da capacidade total de fixação do ferro nos doentes com a terapêutica ferro oral/endovenoso

No gráfico 26, em que a terapêutica realizada foi com ferro oral, apresenta valor após terapêutica apenas 1 doente em que o resultado foi satisfatório, tendo este aumentado. No gráfico 27, com a terapêutica ferro endovenoso os resultados são de 2 doentes com um aumento e uma descida muito pouco significativas. No gráfico 28, dos dois doentes que fizeram tratamento com ferro oral e endovenoso apenas apresenta resultado após terapêutica 1 doente, sendo este um ligeiro aumento.

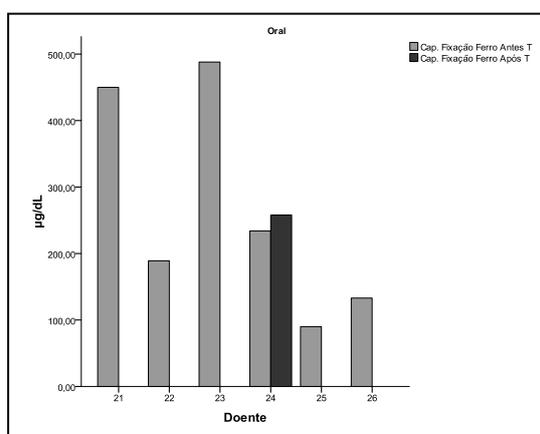


Gráfico 26 - valores da C. fixação do ferro com terapêutica oral

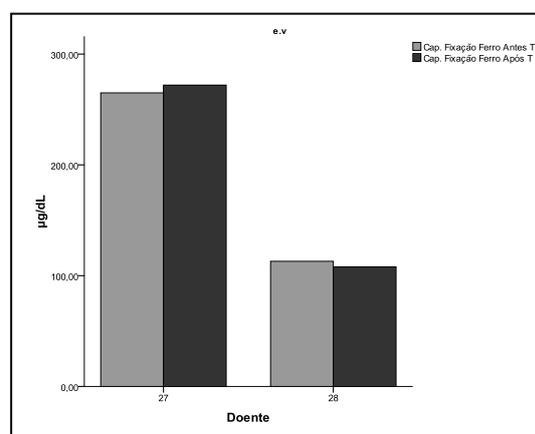


Gráfico 27 - valores da C. fixação do ferro com terapêutica ferro endovenoso

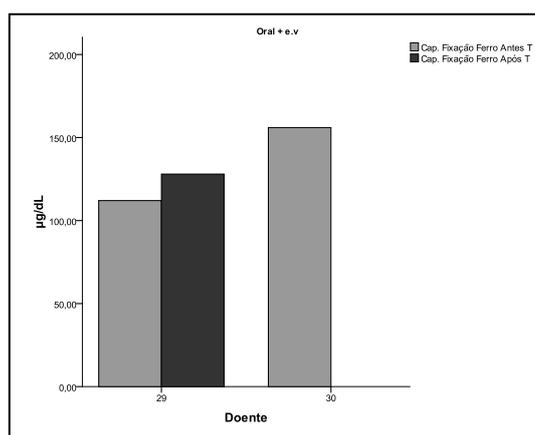


Gráfico 28 - valores da C. fixação do ferro com terapêutica ferro oral e ferro endovenoso

6.1.10. Distribuição dos valores analíticos da transferrina nos doentes em estudo

Verificou-se quanto á transferrina antes e após o TT que apresentou uma tendência diferente das outras variáveis estudadas, pois apresentou uma diminuição no após TT quer ao nível dos valores médios 168,07mg/dL antes TT e 162,29mg/dL após TT, quer ao nível dos valores máximos 488,00mg/dL antes TT e 363,00mg/dL após TT e dos valores mínimos 75,00mg/dL antes TT e 54,00mg/dL após TT (Tabela 14). Ao analisar os valores individualmente verificou-se que os casos que apresentam ambos os registos têm uma variação bastante homogénea quer ao nível do aumento ou da diminuição antes e após TT.

Tabela 14 – Valores de Transferrina antes e após a Transfusão\Terapêutica

	Nº Casos Válidos	Média	Máximo	Mínimo
Transferrina (mg/dL) Antes Terapêutica	29	168,07	488,00	75,00
Transferrina (mg/dL) Após Terapêutica	21	162,29	363,00	54,00

6.1.10. a) Valores analíticos da transferrina nos doentes com a terapêutica transfusão e ferro oral/endovenoso

No gráfico 29, os 3 doentes com resultado após terapêutica com transfusão, apresentam os resultados bastante diferentes, tendo 1 doente mantido o valor da transferrina, outro doente aumentado e outro diminuído. No gráfico 30, os 3 doentes com valor da transferrina após transfusão e ferro oral, 2 desses doentes apresentam uma diminuição do valor após a terapêutica, tendo 1 doente aumentado. No gráfico 31, 3 doentes apresentam resultados, sendo que 2 doentes aumentaram o valor da transferrina após a terapêutica com transfusão e ferro endovenoso, sendo um aumento mais significativo que do outro doente, e 1 doente diminuiu. No gráfico 32, 3 doentes apresentam resultados, 2 doentes aumentaram o valor da transferrina após a terapêutica com transfusão e ferro oral e endovenoso, sendo que um doente obteve um aumento muito significativo e 1 doente diminuiu.

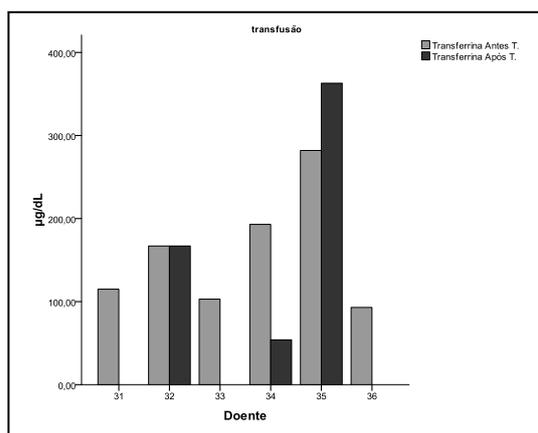


Gráfico 29 - valores da transferrina com terapêutica transfusão

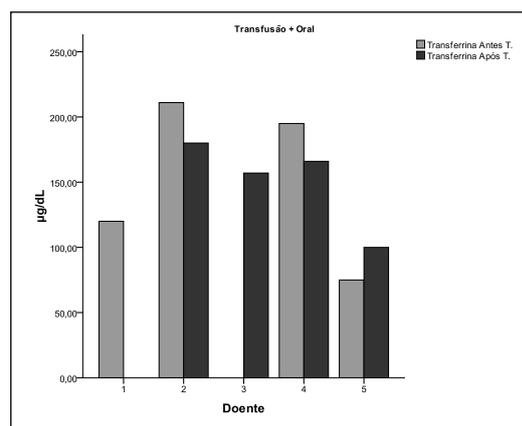


Gráfico 30 - valores da transferrina com terapêutica transfusão e ferro oral

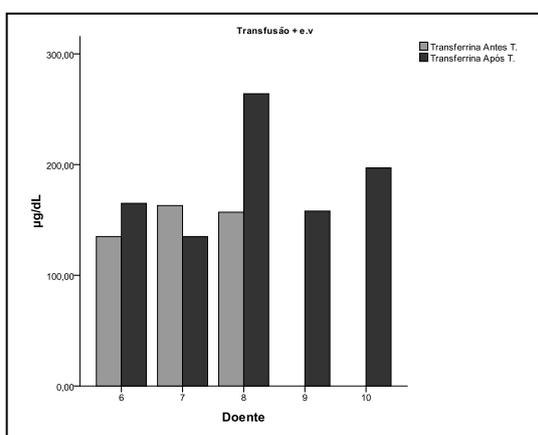


Gráfico 31 - valores da transferrina com terapêutica transfusão e ferro endovenoso

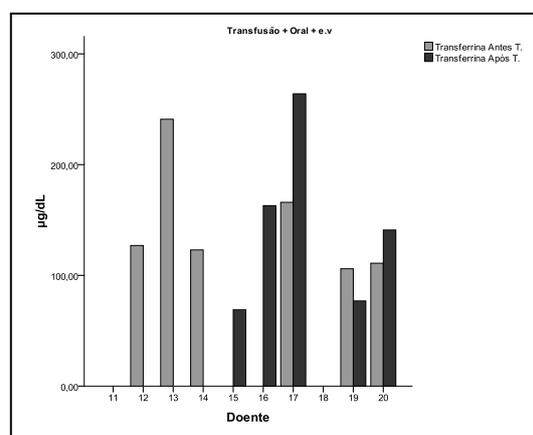


Gráfico 32 - valores da transferrina com terapêutica transfusão e ferro oral e endovenoso

6.1.10. b) Valores analíticos da transferrina nos doentes com a terapêutica ferro oral/endovenoso

No gráfico 33, apresenta 1 doente com valor da transferrina após a terapêutica com ferro oral, tendo este uma ligeira descida do seu valor após a terapêutica. No gráfico 34, 2 doentes que fizeram terapêutica com ferro endovenoso apresentam valores distintos, 1 doente diminuiu após a terapêutica e o outro doente manteve. No gráfico 35, dos 2 doentes que fizeram terapêutica com ferro oral e endovenoso, apenas de 1 doente apresenta resultado, sendo este satisfatório com um aumento da transferrina.

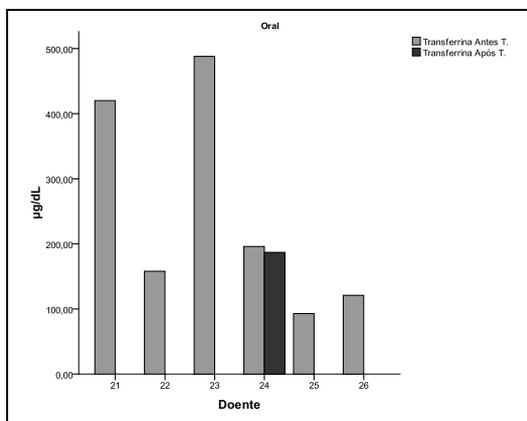


Gráfico 33 - valores da transferrina com terapêutica ferro oral

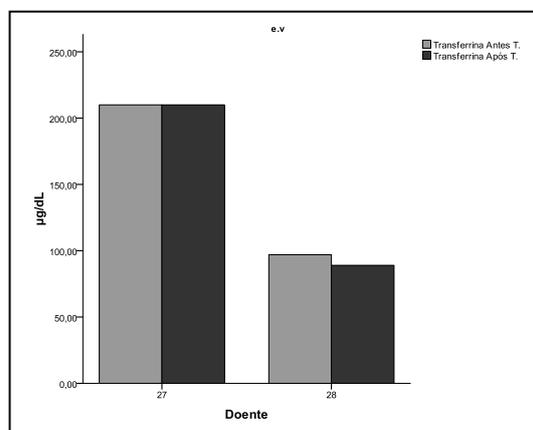


Gráfico 34 - valores da transferrina com terapêutica ferro endovenoso

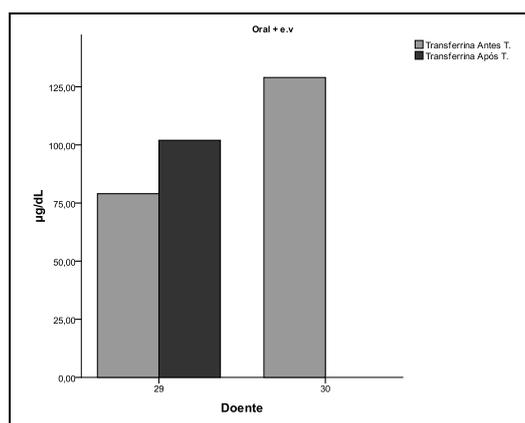


Gráfico 35 - valores da transferrina com terapêutica ferro oral e endovenoso

6.1.11. Distribuição dos valores médios analíticos em função do sexo nos doentes em estudo

Da análise dos valores médios para cada uma das variáveis antes e após TT em função do sexo do doente pode verificar-se o aumento dos valores após TT foi equivalente para os doentes do sexo masculino e feminino com a excepção da transferrina após TT para os doentes do sexo masculino que apresentaram uma diminuição no após TT (Gráfico 36).

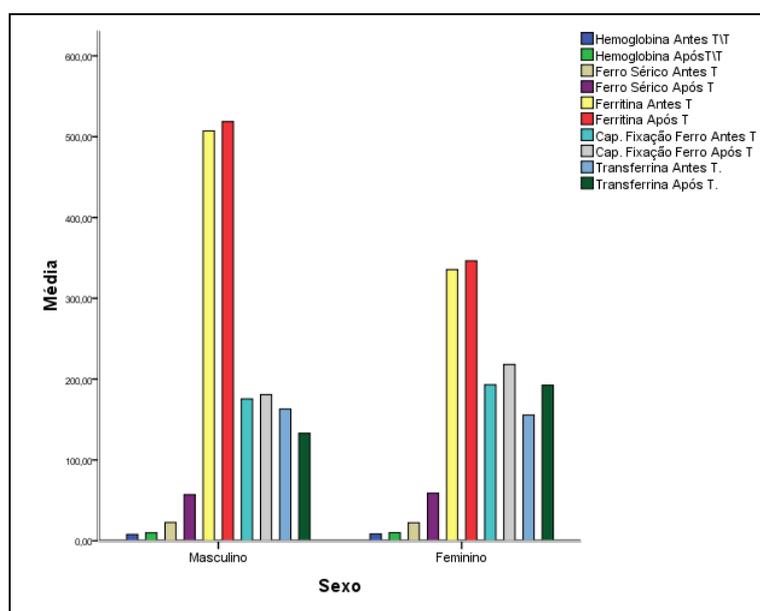


Gráfico 36 – Valores médios da hemoglobina e do perfil do ferro em função do sexo antes e após a TT

6.1.12. Distribuição dos valores médios analíticos da hemoglobina pós-terapêutica em função do tratamento nos doentes em estudo

Na análise do valor médio da hemoglobina consoante o tipo de tratamento dos 36 doentes em estudo, verificou-se que a terapêutica com transfusão com ferro oral e transfusão e ferro oral e endovenoso, a hemoglobina apresentou valores após terapêutica entre 2.5 a 3.0g/dL acima dos valores da hemoglobina antes da terapêutica (gráfico 37).

Pelo gráfico, é notório o melhoramento dos valores de hemoglobina apenas com ferro, seja este oral ou endovenoso, em comparação com os doentes que fizeram apenas transfusão, o que conclui-se quer a terapêutica com ferro ou só com apenas transfusão, os valores da hemoglobina são satisfatórios.

Quando analisamos a terapêutica apenas com ferro, os resultados são mais favoráveis, quando a terapêutica usada é combinada com ferro oral e ferro endovenoso.

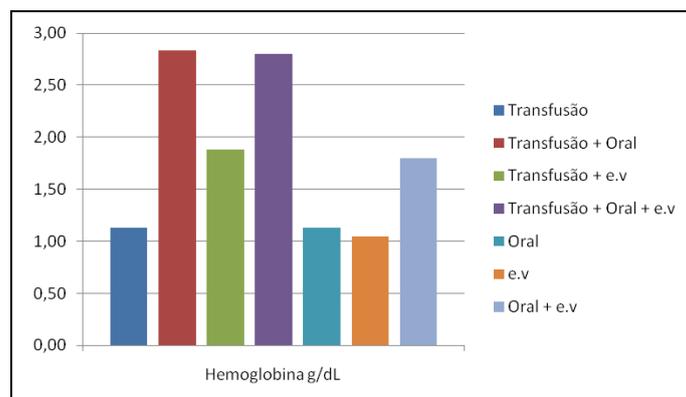


Gráfico 37 – Valores médios da análise da hemoglobina consoante o tipo de tratamento

6.1.13. Distribuição dos valores médios analíticos do ferro sérico pós-terapêutica em função do tratamento nos doentes em estudo

Na análise do valor médio do ferro sérico consoante o tipo de tratamento, verificou-se que a terapêutica com transfusão não resolveu o valor baixo do ferro sérico nos doentes, sendo este quase nulo no melhoramento com a terapêutica. No caso do tratamento com transfusão mas concomitantemente com ferro oral ou endovenoso, os valores do ferro sérico já são bastante significativos, sendo de evidenciar a utilização do ferro endovenoso como terapêutica. Curiosamente, o tratamento com ferro seja oral ou endovenoso é mais satisfatório do que este combinado (gráfico 38).

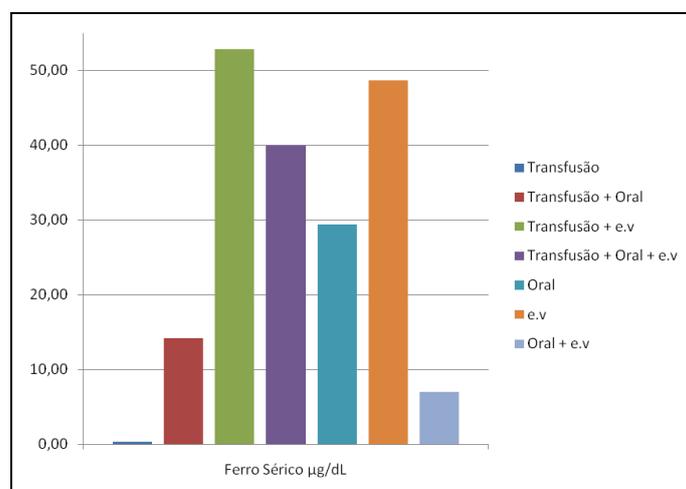


Gráfico 38 – Valores médios da análise do ferro sérico consoante o tipo de tratamento

6.1.14. Distribuição dos valores médios analíticos da ferritina pós-terapêutica em função do tratamento nos doentes em estudo

Na análise do valor médio da ferritina consoante o tipo de tratamento, verificou-se que a terapêutica combinada com ferro, diminui neste caso, as reservas de ferro, sendo o valor da ferritina inferior ao valor antes da terapêutica. O tratamento mais satisfatório, que neste caso apresenta valores mais elevados de ferritina após a terapêutica é o tratamento com ferro endovenoso, sendo de seguida o tratamento com ferro oral (gráfico 39).

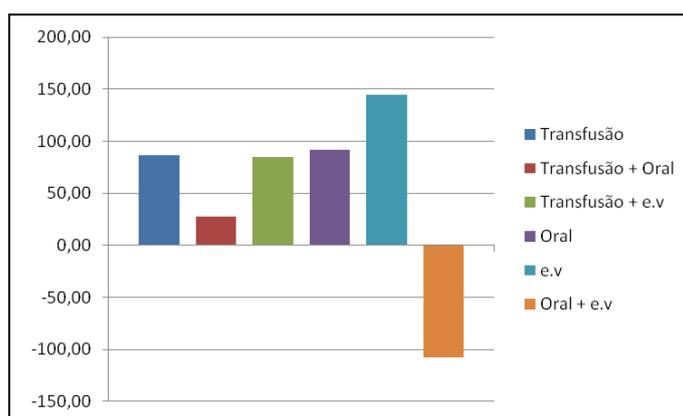


Gráfico 39 – Valores médios da análise da ferritina consoante o tipo de tratamento

6.1.15. Distribuição dos valores médios analíticos da capacidade total de fixação do ferro pós-terapêutica em função do tratamento nos doentes em estudo

Na análise do valor médio da capacidade total de fixação do ferro consoante o tipo de tratamento, verificou-se que a terapêutica com transfusão mais ferro oral e endovenoso levou a um aumento do valor da capacidade total de fixação do ferro, e quando o tratamento é apenas com transfusão houve uma diminuição (gráfico 40).

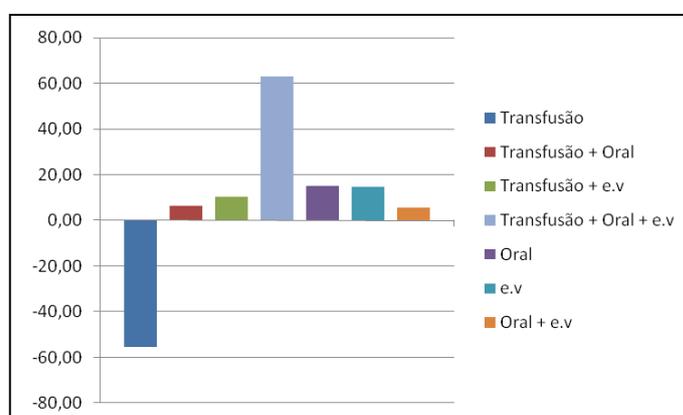


Gráfico 40 – Valores médios da análise da capacidade total de fixação do ferro consoante o tipo de tratamento

6.1.16. Distribuição dos valores médios analíticos da transferrina pós-terapêutica em função do tratamento nos doentes em estudo

Na análise do valor médio da transferrina consoante o tipo de tratamento, os resultados são mais favoráveis com o tratamento com ferro, dentro deste, o tratamento com ferro endovenoso. O resultado menos satisfatório acontece com o tratamento com transfusão (gráfico 41).

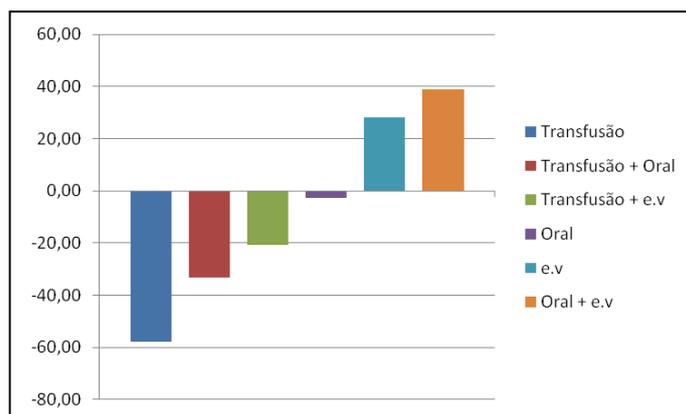


Gráfico 41 – Valores médios da análise da transferrina consoante o tipo de tratamento

6.1.17. Distribuição do número de transfusões pedidas com o número de transfusões efectuadas nos doentes em estudo

Na análise das transfusões pedidas e efectuadas verificou-se que o número de transfusões pedidas foram 36, tendo com este estudo diminuído para 14 unidades de glóbulos rubros. Ao referir no diagnóstico a anemia por deficiência de ferro, avisou-se o médico prescriptor sendo 14 unidades de glóbulos rubros substituídas pela terapêutica com ferro durante os 10 meses de estudo (Gráfico 42).

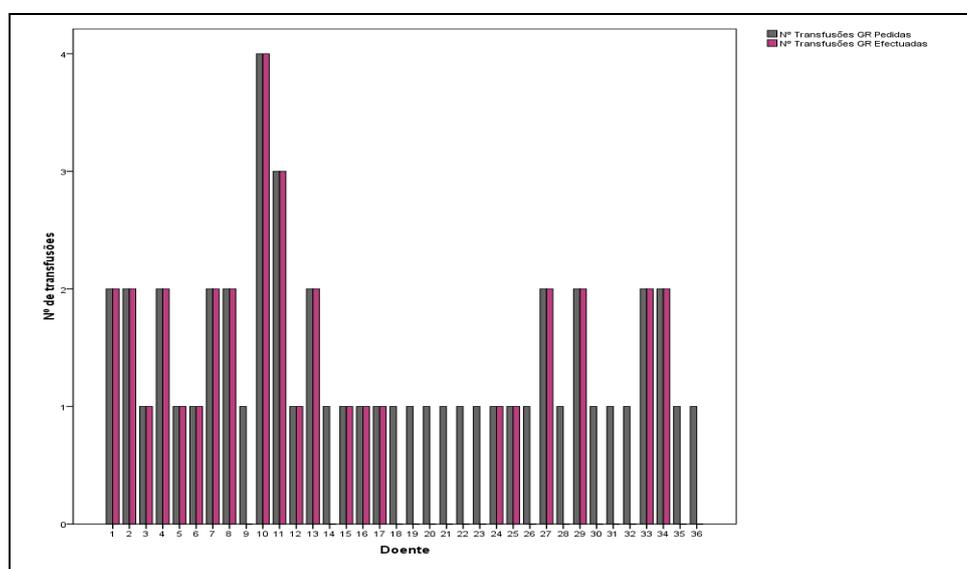


Gráfico 42 – Transfusões pedidas e efectuadas

6.1.18. Distribuição do número de dias de tratamento consoante o doente em estudo

A análise do período que foi aplicada a terapêutica mostrou que o total de dias que cada doente esteve submetido foi bastante variável. O valor máximo registado foi de 49 dias e o mínimo de 2 dias, sendo o valor médio de 12 dias (Gráfico 43). No entanto é importante salientar que o valor médio mais elevado foi registado nos doentes com terapêutica oral.

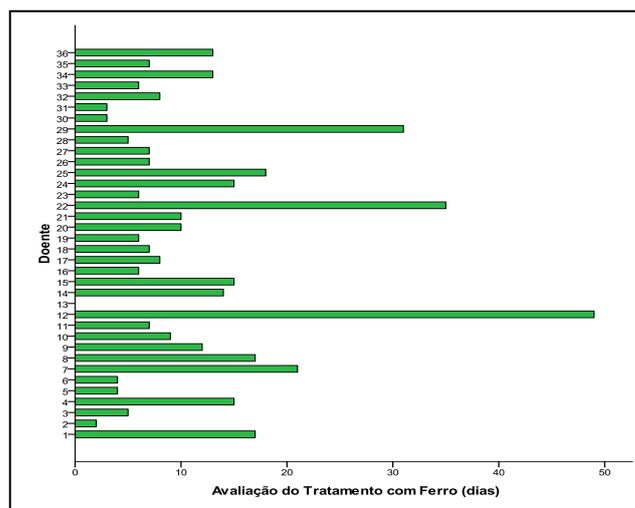


Gráfico 43 – Total de dias de tratamento por doente

Esta variabilidade de dias de tratamento deve-se à decisão do médico prescriptor consoante a clínica do doente, não sendo possível criar um padrão de dias para o tratamento (tabela 15).

Tabela 15 – Avaliação do número de dias consoante o tipo de tratamento

		Avaliação em dias		
		Média	Máximo	Mínimo
Terapêutica	Transfusão	11	21	2
	Transfusão + Oral	18	49	6
	Transfusão + e.v	8	10	6
	Transfusão +Oral + e.v	35	35	35
	Oral	10	18	5
	E.v	11	31	3
	Oral + e.v	10	13	7

6.1.19. Relação entre o diagnóstico do doente e o tipo de tratamento

Ao analisar a tabela 16, verificou-se um aumento no número de transfusões nos doentes com o diagnóstico de doença renal crónica. Ao contrário dos doentes com pneumonia e insuficiência cardíaca, o médico prescrito optou pelo tratamento farmacológico.

Tabela 16 – Diagnóstico e tipo de tratamento usado nos doentes em estudo

		Terapêutica						
		Transfusão	Transfusão + Oral	Transfusão + e.v	Transfusão +Oral + e.v	Oral	E.v	Oral + e.v
Terapêutica com ferro	Doença Renal Crónica	4	0	0	0	1	0	2
	Infecção do Tracto Urinário	3	3	2	1	0	2	0
	Insuficiência Cardíaca	0	1	2	0	1	0	0
	Anemia	1	0	0	0	2	1	0
	Pneumonia	0	0	1	0	2	1	0
	Outras	2	2	1	0	0	2	0

6.1.20. Distribuição dos valores médios analíticos (máximo, mínimo e médio) da hemoglobina pós-terapêutica em função do tratamento nos doentes em estudo

Na análise da hemoglobina consoante o tipo de tratamento pode-se verificar que o grupo de doentes que apresenta média de hemoglobina mais baixa após a terapêutica é o grupo que apenas fez transfusão (gráfico 44). Já o grupo de doentes que apresenta média mais favorável do valor da hemoglobina após terapêutica aquando usado o tratamento com transfusão e ferro oral e endovenoso.

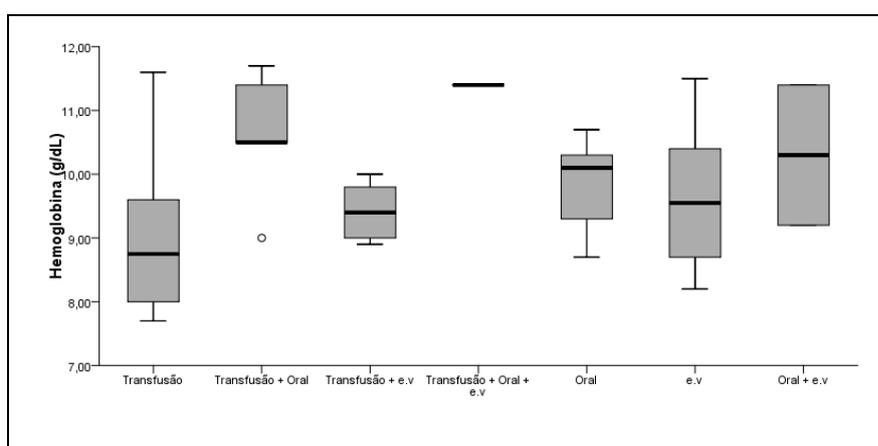


Gráfico 44 – Valores mínimos e máximos da hemoglobina consoante o tipo de tratamento

6.1.21. Distribuição dos valores médios analíticos (máximo, mínimo e médio) do ferro sérico pós-terapêutica em função do tratamento nos doentes em estudo

Na análise do ferro sérico consoante o tipo de tratamento verificou-se que o grupo de doentes que apresenta média do valor do ferro sérico mais satisfatória após tratamento foi o grupo de doentes que fez tratamento com ferro endovenoso (gráfico 45).

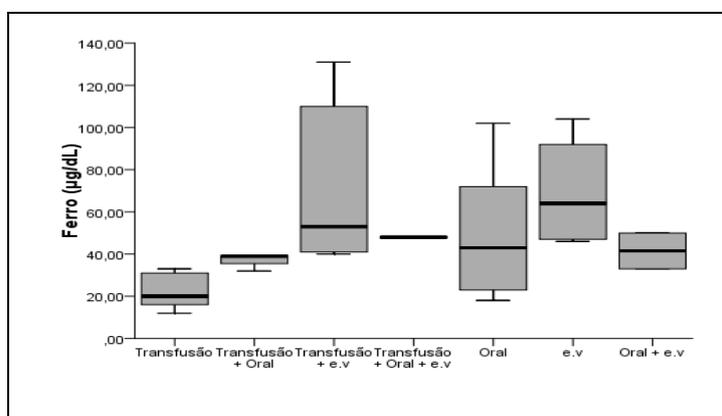


Gráfico 45 – Valores mínimos e máximos do ferro sérico consoante o tipo de tratamento

6.2. Doentes da consulta externa do Hospital Santa Maria Maior E.P.E, Barcelos com Hemocromatose hereditária

6.2.1. Caracterização da amostra em estudo

O estudo englobou os 18 doentes seguidos em consulta de Hepatologia do Hospital Santa Maria Maior E.P.E, Barcelos entre Janeiro e Outubro de 2009, sendo que 7 doentes são do sexo feminino e 11 doentes do sexo masculino. A média de idade foi de 50 anos, com um máximo de 78 anos e um mínimo de 21 anos (tabela 17).

Tabela 17 - Idade e Sexo dos indivíduos

	Nº Casos	Idade Média	Idade Máxima	Idade Mínima
Sexo Masculino	11	53	78	33
Sexo Feminino	7	45	77	21

A maioria dos doentes foi referenciada à consulta de Hepatologia pelo Médico de Família para despiste de HH por apresentar história familiar (tabela 18). Os 3 doentes encaminhados por manifestações clínicas, após chegar-se ao diagnóstico de HH, iniciaram programa regular de flebotomias, por apresentarem critérios. Alguns doentes referiram dores ósseas, sendo contudo difícil distinguir se estariam associadas a patologia osteoarticular degenerativa ou se seriam uma complicação da HH; no entanto, na ausência de outras manifestações clínicas que se possam atribuir à HH, é mais prováveis que estejam relacionadas com a primeira situação.

Tabela 18 – Distribuição dos doentes à consulta de Hepatologia

História familiar	11
Manifestações clínicas (pele bronzeada, diabetes, estigmas de hepatopatia crónica)	3
Alteração de enzimas hepáticas	2
Marcador hepatite B positivo	1
Alteração do perfil férrico	1

Em relação à prevalência das mutações, a heterozigotia para a mutação H63D foi a mais frequente, sendo encontrada em 9 doentes (50 % dos casos). A heterozigotia e homozigotia para a mutação C282Y foram encontradas em 4 (22,22%) e 3 dos doentes (16,67%), respectivamente. A heterozigotia composta C282Y\H63D estava presente em apenas 2 doentes (11,11%). A homozigotia para a mutação H63D não foi encontrada na população em estudo (figura 7 e gráfico 46).

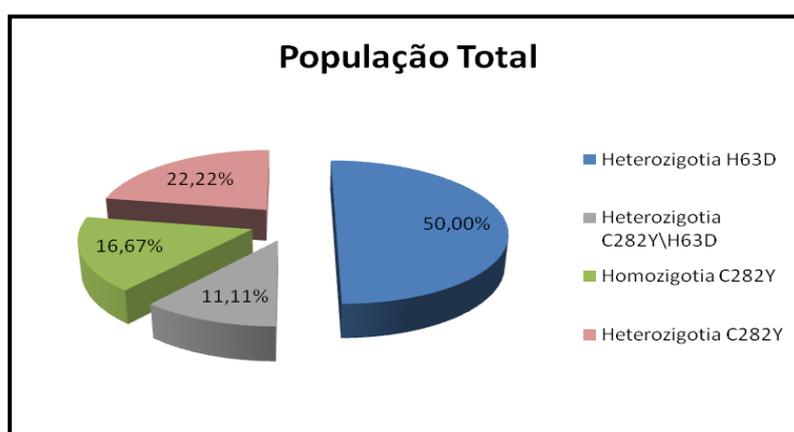


Figura 7 – Prevalência das mutações encontradas, em percentagem

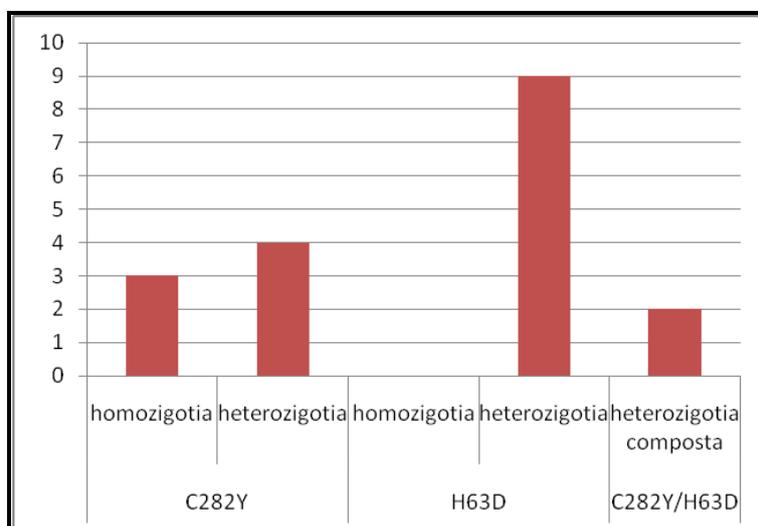


Gráfico 46- Distribuição numérica dos doentes por mutação genética

A prevalência das mutações em função do sexo revelou que, para os indivíduos do sexo masculino, a heterozigotia H63D foi a mais prevalente (63,64%), a homozigotia C282Y verificou-se em 27,27% dos doentes e a heterozigotia C282Y em 9,09%, sendo que a heterozigotia C282Y\H63D não foi encontrada (Gráfico 47). Nos doentes do sexo feminino, foi mais prevalente

a heterozigotia C282Y (42,86%), seguindo-se a heterozigotica H63D e a heterozigotia composta C282Y\H63D (28,57% dos doentes em ambos os casos); não foram encontradas mulheres homozigóticas para a mutação C282Y (Gráfico 48).

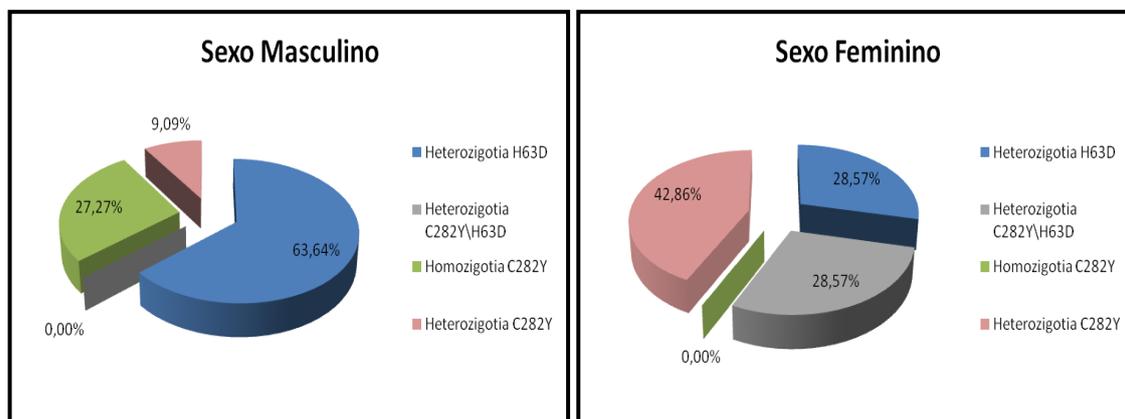


Gráfico 47 – Sexo Masculino

Gráfico 48 – Sexo Feminino

Do total de doentes, 11 doentes (61%) encontram-se inseridos em programas de flebotomias (gráfico 49). De notar que não há doentes em tratamento com agentes quelantes de ferro.

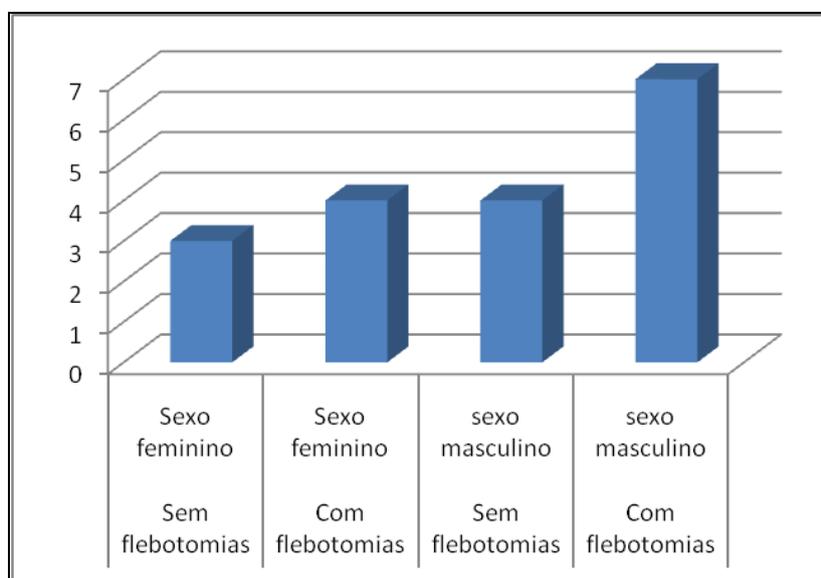


Gráfico 49- Distribuição por sexo em doentes com e sem tratamento (flebotomias)

Dos 4 doentes que já se encontravam em tratamento antes do início do estudo, 3 atingiram os valores analíticos alvo, pelo que se encontram a realizar flebotomias trimestrais de manutenção, o mesmo acontecendo com 3 dos 7 doentes que em 2009 iniciaram flebotomia intensiva; os valores alvos foram atingidos em menos tempo (5 a 9 meses) nos doentes heterozigóticos para a mutação H63D, com um período bem mais longo nos doentes com a mutação C282Y (entre 29 e 59 meses) (tabela 19).

Tabela 19 – Relação entre a mutação, o ferro removido no tratamento e o atingimento de valores analíticos alvo

Mutação	Quantidade de Ferro removido	Meses de tratamento	Atingimento de valores alvo
Het. C282Y	200	<1	não
Het. C282Y	3975	35	não
Het. H63D	2400	5	sim
Het. H63D	600	5	não
Homo. C282Y	4000	59	sim
Het. H63D	400	8	não
Het. H63D	1600	6	não
Het. H63D	3000	9	sim
Homo. C282Y	5550	36	sim
Homo. C282Y	2650	29	sim
Het. H63D	2800	8	sim

Em relação à eficácia do tratamento instituído, apenas em dois doentes é de esperar diminuição da sobrevida e menor eficácia nos sintomas e sinais focais, uma vez que um deles é diabético e outro cirrótico (tabela 20). De notar que este último doente apresentava também hábitos alcoólicos moderados a intensos.

Tabela 20 – Eficácia do tratamento

Boa	9 doentes
Moderada	1 doente (com DM)
Ausente	1 doente (com cirrose)

7. Discussão dos resultados

7. 1. Estudo Anemia Ferropriva

Foi verificado através deste estudo que as transfusões de glóbulos rubros são comumente administradas a doentes com anemia por deficiência de ferro (hemoglobina <10 g/dL). As alterações fisiológicas que ocorrem em resposta à anemia incluem o aumento do débito cardíaco, diminuição periférica da resistência vascular e o aumento da libertação de oxigénio. A literatura sugere que o limiar para transfusão de eritrócitos na ausência de distúrbios cardiovasculares subjacentes é de uma hemoglobina <6g/dL. Abaixo deste nível, a insuficiência cardíaca é bem reconhecida.

Na anemia ferropriva, o papel da transfusão de glóbulos rubros é controverso. O julgamento clínico determina a necessidade de transfusão de glóbulos rubros, mas este é complexa e subjectiva.

Ao contrário de muitas outras causas de anemia, a anemia por deficiência de ferro pode ser tratada com sucesso com suplementos de ferro.

Alguns profissionais argumentam que ferroterapia sem transfusão pode ser suficiente para superar os sintomas adversos associados à anemia por deficiência de ferro. Para outros clínicos a administração de ferro e um aumento da hemoglobina podem influenciar a decisão de transfundir.

No que diz respeito ao diagnóstico principal verificou-se que o diagnóstico mais predominante foi a infecção do tracto urinário. Quando ao diagnóstico secundário, a diabetes mellitus predominou. Verificou-se que consoante o tipo de tratamento dos 36 doentes em estudo a terapêutica com apenas transfusão ou com apenas ferro, a hemoglobina apresenta um aumento dos valores após terapêutica entre 2.5 a 3.0 g/dL.

É notório o melhoramento dos valores de hemoglobina apenas com ferro, seja este oral ou endovenoso, em comparação com os doentes que fizeram apenas transfusão, o que conclui-se quer a terapêutica com ferro ou só com apenas transfusão, os valores da hemoglobina são satisfatórios.

Relativamente ao ferro sérico, consoante o tipo de tratamento pode verificar-se que o grupo de doentes que apresenta média do valor do ferro sérico mais satisfatória após tratamento é o grupo de doentes que fez tratamento com ferro endovenoso.

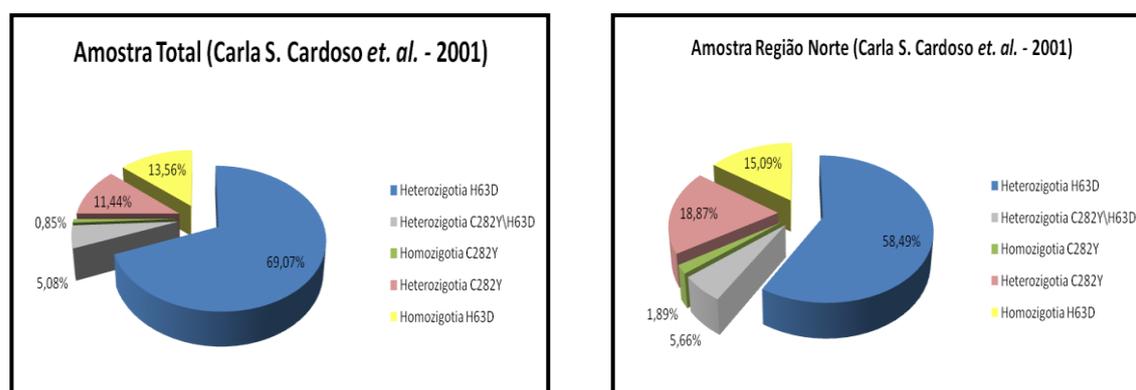
Verifica-se que a transfusão sanguínea não é um tratamento de 1ª linha na anemia ferropriva, salientando sempre o estado clínico do doente.

Em conclusão, as transfusões de glóbulos rubros são normalmente administradas a doentes com anemia por deficiência grave de ferro. A transfusão pode ser necessária para atenuar a morbidade grave, até ao momento em que a terapia com ferro torna-se clinicamente eficaz. No entanto, deve haver uma maior ênfase na estratégia e administração da transfusão.

7. 2. Estudo Hemocromatose Hereditária

A maioria dos doentes com HH foi referenciada à consulta de Hepatologia pelo médico assistente por apresentar história familiar. Esta constatação revela a importância de um diagnóstico precoce no prognóstico da doença.

A mutação do gene H63D foi a mais frequentemente encontrada, em heterozigotia, como se verifica em estudos realizados no nosso País, sobretudo na região Norte (gráficos 50 e 51).



Gráficos 50 e 51 - Estudo comparativo das mutações do gene HFE (C282Y e H63D) (Carla S. Cardoso *et al.* 2001).

Os doentes com a mutação H63D atingiram mais cedo os valores analíticos alvo necessários para passarem à fase de manutenção (flebotomias trimestrais) do que os possuem a mutação C282Y. Estes dados vão de encontro com o facto de a acumulação de ferro ser maior neste último, justificando o tratamento mais prolongado.

Dos 3 doentes sintomáticos, todos eles em tratamento actual, o prognóstico é apenas reservado em 1 deles pela presença de cirrose hepática de etiologia mista (pela HH e por etilismo crónico), sendo assim de esperar franca diminuição da sobrevida, bem como ausência de eficácia da flebotomia nos sintomas/sinais focais.

8. Conclusão

A Imuno-hemoterapia é das especialidades que mais evoluiu nos últimos anos e também das que precocemente se destacou, na implementação de uma prática referenciada a *standards*, dado os riscos inerentes ao sangue e ao acto transfusional e a consequente exigência em aumentar a segurança e a qualidade dos componentes sanguíneos.

Classicamente na maioria dos Serviços de Imuno-hemoterapia existem três grandes protagonistas: o dador, o receptor da transfusão e o doente da consulta. Para este último, o doente das consultas de flebotomias terapêuticas, com patologias de base como a hemocromatose.

Na ausência de patologias primárias na medula óssea ou qualquer outra deficiência hematológica, o fornecimento de ferro deficiente altera os seus valores analíticos dentro de 3-4 dias e um aumento inicial incremental na hemoglobina de 1-2 g/dL em 2 semanas. Doentes com deficiência de ferro sem outras complicações além da anemia, obtêm benefícios sintomáticos com reposição de ferro sem a necessidade de transfusão de glóbulos rubros.

Transfusões de glóbulos rubros podem ser adequadas a limiares mais baixos de hemoglobina, com base nos sintomas e morbidade do doente. No estudo, não se compara directamente tais características, e dá-se mais relevância a doentes com anemia por deficiência de ferro transfundidos versus não transfundidos e com terapêutica com ferro. No entanto, os dados apresentados sugerem que uma proporção significativa de transfusões pode ter sido evitadas com o fornecimento de informação oportuna e adequada terapia de reposição de ferro.

Outra consideração importante é a frequência de reacções adversas potencialmente evitáveis de transfusões de componentes sanguíneos. Embora o risco de adquirir infecções virais seja actualmente extremamente rara (por exemplo, as estimativas actuais de risco residual do HIV em transfusão estimado em menos de 1 em 9 milhões de unidades transfundidas), as complicações não infecciosas são ainda uma preocupação.

Os dados apresentados indicam que a transfusão de glóbulos rubros é um tratamento usado em demasia e potencialmente evitável utilizando outro método no tratamento da anemia por deficiência de ferro em muitos doentes. Contudo, isso é improvável de ser isolado, mas também é um indicativo de prática com cuidados de saúde. Aumentar a consciência dos clínicos para esta observação deve ajudar a preservar um recurso precioso e finito e reduzir os riscos associados ao acto transfusional.

O segundo estudo demonstra as importantes diferenças regionais na frequência da mutação C282Y e da mutação H63D em Portugal, e em relação ao concelho de Barcelos.

Além do interesse para a genética populacional, os resultados representam um lembrete da necessidade de tomar em consideração as diferenças regionais na elaboração de estratégias para a triagem da população da hemocromatose hereditária.

A Hemocromatose Primária é a doença autossómica recessiva mais comum na raça Caucasiana com maior prevalência no Norte da Europa, ocorrendo com uma frequência de 0,5% de homocigóticos e 10-13% de heterocigóticos. Em Portugal pode afectar duas a três pessoas em cada mil, com maior incidência no norte do país. Em cerca de 70% dos casos, os primeiros sintomas surgem entre os 40 e 60 anos. As manifestações clínicas estão relacionadas com a deposição tecidual excessiva de ferro, especialmente no fígado, coração, pâncreas, hipófise e articulações.

Afecta predominantemente o sexo masculino numa razão homem:mulher de 8:1.

Uma mutação do gene HFE é encontrada em homocigotia em mais de 85% dos doentes com hemocromatose descritos em várias partes do mundo. Sabe-se actualmente que a mutação C282Y é responsável pela maioria dos casos de HH, em homocigotia (80 a 95%), e em menor percentagem em heterocigotia composta C282Y/H63D. A mais elevada frequência alélica para a mutação C282Y foi encontrada no Norte da Europa, nomeadamente na Irlanda chegando aos 10% e para mutação H63D na Península Ibérica (acima de 20%). Em Portugal, a frequência alélica da mutação C282Y diminui do Norte para o Sul; já a mutação H63D encontra-se homogeneamente distribuída pelo país. Estas diferenças regionais na frequência da mutação C282Y poderão ser explicadas: pela origem mais recente da mutação C282Y (como mutação protectora na anemia num ancestral celta e origem mais antiga da mutação H63D; pela predominância dos Celtas no norte de Portugal (a distribuição geográfica da hemocromatose assemelha-se ao padrão de migração celta); pela ocupação Nórdica entre os séculos V e VI apenas no Norte do País ou pela possível origem Viking mais tardia.

Concluindo, a elevada frequência alélica C282Y no Norte de Portugal suporta a noção da actuação de forças selectivas. Sendo a HH uma patologia caracterizada por sobrecarga férrica, parece conferir vantagem selectiva aos doentes heterocigóticos em períodos de défice nutricional.

9. Bibliografia

1. Fraser, CG, e tal: Biologic variation of common hematologic laboratory quantities in the elderly. *Am J Clin Pathol* 92:465-470, 1989.
2. Carpenter CE & Mahoney A. Contributions of heme and nonheme iron to human nutrition. *Crit Rev Food Sc Nutr* 1992; 31: 333-367.
3. Fleming DJ, Jaques PF, Tucker KL, Massaro JM, D'Agostino RB, Wilson PW, y Wood RJ. Iron status of the free living, elderly Framingham heart study cohort: an iron-replete population with a high prevalence of elevated iron stores. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 638-646.
4. Petrukhin K, Ficher SG, Tanzi RE, e tal Mapping cloning and genetic characterization of the region containing the Wilson disease gene. *Nat Genet* 1993; 5: 338-43.
5. Hoffbrand AV, Pettit FE, Moss PAH. *Essential Haematology*. 5th ed. Oxford (UK): Blackwell Publishing; 2006. Chapter 3, Hypochromic anaemias and iron overload; p. 28-43.
6. Krishnamurthy P, Xie T, Schuetz JD. The role of transporters in cellular heme and porphyrin homeostasis. *Pharmacol Ther.* 2007;114(3):345-58.
7. Pietrangelo A. The ferroportin disease. *Blood Cells Mol Dis.* 2004;32(1):131-8.
8. Nairz M, Weiss G. Molecular and clinical aspects of iron homeostasis: From anemia to hemochromatosis. *Wien Klin Wochenschr.* 2006;118(15-16):442-62.
9. Lee JR. Microcitose e as anemias associadas com síntese prejudicada da hemoglobina. In: Lee GR et al. *Wintrobe – Hematologia Clínica*. 1998. p.884-919.
10. Hunt J.M. Reversing productivity losses from iron deficiency: the economic case. *J Nutr* 2002; 132: 794S-801S.

11. Grey, D., Finlayson, J. Red Cell Transfusion for iron-deficiency anaemia: a retrospective audit at a tertiary hospital. *Vox Sanguinis*, 2008; 94: 138-142.
12. Shortt, J., Cole-Sinclair, M., Borosak, M., Wood, E. Blood transfusions for iron deficiency anaemia: definitely time for a rethink! *Royal Australasian College of Physicians*, 2007:283.
13. Muñoz, M., García-Ercer, A., Gómez-Ramírez, S., Comin, J., Bisbe, E. Efficacy and safety of intravenous iron therapy as an alternative/junct to allogeneic blood transfusion, 2007; 94: 172–183.
14. Sav T, Tokgoz B, Sipahioglu MH, Deveci M, Sari I, Oymak O, Utas C. Is there a difference between the allergic potencies of the iron sucrose and low molecular weight iron dextran? *Ren Fail* 2007;29:423-6.
15. Paiva AA, Rondó PHC, Guerra-Shinohara EM. Parâmetros para avaliação do estado nutricional de ferro. *Rev Saúde Pública* 2000; 34: 421-426.
16. Beard JL, Dawson H, Piñero DJ. Iron metabolism: a comprehensive review. *Nutr Rev* 1996; 54: 295-317.
17. Auberbach, M., Goodnough, T., Picard, D. Maniatis, A. The role of intravenous iron in anemia management and transfusion avoidance, Review. *Transfusion*, 2008; 48: 988-1000.
18. Seed CR, Kiely P, Keller AJ. Residual risk of transfusion transmitted human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, hepatitis C virus and human T lymphotropic virus. *Intern Med J* 2005; 35: 592–8.
19. Brissot P, de Bels F. Current approaches to the management of hemochromatosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2006;36-41.
20. Bittencourt PL, Marin MLC, Couto CA et al. Analysis of HFE and non-HFE gene in Brazilian patients with hemochromatosis. *Braz J Med Biol Res* 2008.

21. Maier-Dobersberger T, Fenenci P, Kaserer K, et al. Detection of the His 1069Glu mutation in Wilson disease by rapid polymerase chain reaction. *Ann Intern Med* 1997; 127:21-6.
22. Loudianos G, Dessi V, Lilliu F, et al. Molecular characterization of Wilson disease in Sardinian population – evidence of a founder effect. *Human Mutat* 1999;14:294-303.
23. Petrukhin K, Ficher SG, Tanzi RE, et al. Mapping cloning and genetic characterization of the region containing the Wilson disease gene. *Nat Genet* 1993; 5: 338-43.
24. Ganz T. Heparin and its role in regulating systemic iron metabolism. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2006;507:29-35.
25. Gollan JL, Gollan TJ, Wilson disease in 1998: genetic, diagnostic and therapeutic aspects. *J Hepatol* 1998; 28 (suppl 1):28-36.
26. Cazzolla M, Della Porta MG, Malcovati L. Clinical Relevance of Anemia and Transfusion Iron Overload in Myelodysplastic Syndromes. *Am Soc Hematol Educ Program*, 2008; 166-175.
27. Bacon BR, Powell LW, Adams PC, Kresina TF, Hoofnagle JH: Molecular medicine and hemochromatosis: at the crossroads. *Gastroenterology* 1999; 116(1); 193-207.
28. Beutler E: The HFE Cys282Tyr mutation as a necessary but not sufficient cause of clinical hereditary hemochromatosis. *Blood* 2003; 101(9); 3347-50.
29. Cardoso C, Oliveira P, Porto G et al, Comparative Study of the two more frequent HFE mutations (C282Y and H63D): significant different allelic frequencies between the North and South of Portugal, *European Journal of Human Genetics* 2001; 9; 843-848.
30. Lucotte G. Frequency analysis and allele map in favor of the Celtic origin of the C282Y mutation of hemochromatosis, *Blood Cells, Molecules and Diseases*, 2001; 27; 549-556.
31. Milman N, Graudal N, Nielsen LS, Fenger K: HLA determinants in 70 Danish patients with idiopathic haemochromatosis. *Clin Genet* 1988; 33; 286-292.

32. Rochette J, Pointon JJ, Fisher C et al: Multicentric origin of hemochromatosis gene (HFE) mutations. *AM J Hum Genet* 1999; 64; 1056-1562.

33. Datz C, Haas T, Rinner H, Dandhofer F, Patsch W, Paulweber B: Heterozygosity for the C282Y mutation in the hemochromatosis gene is associated with increased serum iron, transferrin saturation, and hemoglobin in young women: a protective role against iron deficiency? *Clin Chem* 1988; 44; 2429-2432.

34. Parkkila S, Waheed A, Britton RS et al; Association of the transferrin receptor in human placenta with HFE, the protein defective in hereditary hemochromatosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94; 13198-13202.