

Microcytic Anemia Factor no Estudo das Anemias Microcíticas

J Teixeira¹, C Barros²

¹Análises Clínicas e Saúde Pública, Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Porto,
Gaia, PORTUGAL

²Laboratório Patologia Clínica, Hospital Pedro Hispano,
Matosinhos, PORTUGAL

¹jo_hana_1@hotmail.com, ²barros.clara@gmail.com

¹www.estsp.ipp.pt, ²www.ulsm.min-saude.pt

RESUMO

A anemia ferropénica e a β -Talassemia menor são as anemias microcíticas mais frequentes na prática laboratorial, sendo o seu diagnóstico de extrema importância clínica. O objectivo deste estudo consistiu na análise do poder discriminatório do MAF na caracterização destas anemias.

Foi desenvolvido um estudo caso-controlo, tendo sido analisados os hemogramas de um grupo de 47 indivíduos com anemia ferropénica e 37 com β -talassemia, e de um grupo controlo constituído por 58 indivíduos saudáveis.

Na diferenciação dos grupos patológicos, apenas a Hemoglobina, o VGM e o RDW apresentaram diferenças significativas. O MAF não demonstrou poder discriminatório relativamente às anemias microcíticas.

Palavras-chave: Anemia ferropénica, β -Talassemia menor, *Microcytic Anemia Factor* (MAF)

ABSTRACT

The iron-deficiency anemia and β -thalassemia minor are the most frequent microcytic anemia in laboratory practice and its clinical diagnosis is extremely important. The aim of this study was the analysis of the discriminatory power of MAF in the characterization of these anemias.

We developed a case control study and were analyzed the blood counts of a group of 84 anemic individuals: 47 with iron deficiency anemia and 37 with β -thalassemia, and a control group consisting of 58 healthy subjects.

In the differentiation of pathological groups, only the hemoglobin, the MCV and RDW showed significant differences. MAF has not demonstrated discriminatory power in relation to microcytic anemia.

Keywords: Iron deficiency anemia, β -thalassemia minor, *Microcytic Anemia Factor* (MAF)

1. INTRODUÇÃO

As anemias microcíticas são as anemias que se encontram com mais frequência na prática clínica. Os factores e causas etiológicas mais comuns são: a deficiência de ferro e as doenças hereditárias na síntese da hemoglobina, como as β -Talassemias (Ghosh, 2008; Iolascon et al, 2009; Thomas and Thomas, 2005).

A carência de ferro constitui a causa mais comum de anemia em todo o mundo (Hinzmann, 2003; Thomas and Thomas, 2002). Segundo a Organização Mundial de Saúde, estima-se que cerca de 4-5 biliões de pessoas possam manifestar esta deficiência, correspondendo a mais de 80% da população mundial. Em aproximadamente 2 biliões de indivíduos esta condição progride para anemia. É, no entanto, frequente associar-se a deficiência de ferro apenas aos países em desenvolvimento. Pelo contrário, esta é a única carência nutricional que é também significativamente prevalente em praticamente todos os países industrializados, sobretudo em crianças, mulheres em idade fértil e idosas (Hinzmann, 2002).

O objectivo principal na avaliação de um indivíduo ferropénico é identificar e tratar a causa subjacente. Geralmente, esta condição clínica é devida à depleção das reservas de ferro, e desenvolve-se quando: (1) a ingestão de ferro é insuficiente para as necessidades; (2) há uma má absorção do ferro; (3) há perda aumentada de ferro, geralmente como consequência de hemorragias uterinas ou gastrointestinais; (4) há uma combinação destes factores (Bain, 2007; Hinzmann, 2003; Thomas and Thomas, 2002).

Na ferropenia, como o fornecimento do ferro à medula óssea é insuficiente, a resposta proliferativa da medula óssea encontra-se diminuída e a síntese de hemoglobina é inibida. Muitas vezes, o ponto de partida no diagnóstico de uma anemia ferropénica é o aparecimento de uma anemia normocítica normocrómica, com anisocitose que, geralmente, precede o desenvolvimento de anisocromia, hipocromia e microcitose (Hillman et al, 2005; Bain, 2007).

No diagnóstico diferencial da anemia ferropénica deve ser sempre considerada a β -Talassemia menor. Este tipo de anemia tem uma ampla distribuição mundial, apresentando maior prevalência no continente Africano e em países Mediterrânicos, nomeadamente na Grécia e em Itália, onde chega a atingir 15 a 20% dos indivíduos (Hillman et al, 2005; Bain, 2007).

A β -Talassemia consiste num defeito hereditário, no qual uma mutação num gene da β -globina leva a uma diminuição (ou, mais raramente, à ausência) de produção das cadeias β da hemoglobina A. Como consequência, verifica-se um aumento da hemoglobina A₂ e da hemoglobina F.

A hiperplasia eritróide compensatória leva à produção de um grande número de eritrócitos com tamanho e conteúdo hemoglobínico reduzidos. A extensão dessa compensação eritróide depende da severidade da mutação relacionada com a síntese da cadeia β e se essa afecta apenas um ou ambos os genes que controlam a síntese da mesma (Anderson, 1980; Bain, 2007; Ghosh, 2008).

Na β -Talassemia menor apenas um gene é afectado. Este estado é, geralmente, caracterizado como uma anemia moderada, hipocrómica e microcítica, altamente resistente ao tratamento com ferro, sendo, em alguns casos, assintomático (Ghosh, 2008).

Por ser uma anemia microcítica moderada, a β -Talassemia pode ser diagnosticada como anemia por deficiência de ferro, quando o diagnóstico se baseia apenas em parâmetros hematológicos (Henneberg et al, 2008).

Daí que o diagnóstico diferencial destas anemias seja de extrema importância na prática clínica, uma vez que apresentam causa, patogénese, tratamento e prognóstico distintos (Matos et al, 2008).

Assim, a nível hematológico, indivíduos com β -Talassemia menor normalmente apresentam um Volume Globular Médio (VGM) baixo, apesar de hemoglobina normal ou ligeiramente diminuída. Também tem sido observado que, para um mesmo grau de anemia, os eritrócitos na β -Talassemia são mais microcíticos do que na anemia ferropénica (Anderson, 1980; Zhu et al, 2010). Relativamente ao *Red Cell Distribution Width* (RDW), este geralmente aumenta na anemia ferropénica, devido ao aumento da incidência de micrócitos na circulação, sendo normal na β -Talassemia. Porém, quando um paciente com β -Talassemia se torna anémico o RDW tende a aumentar. Uma Concentração de Hemoglobina Globular Média (CHGM) baixa é fortemente sugestiva de deficiência de ferro, uma vez que na β -Talassemia menor esta aparece geralmente normal (Melo et al, 2002; Bain, 2007; Henneberg et al, 2008; Zhu et al, 2010).

Embora o hemograma auxilie na distinção, o diagnóstico definitivo exige exames específicos (Anderson, 1980; Matos et al, 2008).

Numa anemia ferropénica sem complicações, o diagnóstico pode ser confirmado por uma concentração de ferritina sérica inferior a 20 $\mu\text{g/L}$ ou ferro sérico baixo, coexistindo com transferrina ou capacidade ferropénica sérica aumentada (Cook, 2005). É importante referir que a dosagem isolada do ferro é pouco útil, uma vez que apresenta pouca especificidade, podendo a sua diminuição ter outras etiologias, como inflamação ou neoplasias (Anderson, 1980; Cook, 2005).

Para o diagnóstico definitivo da β -Talassemia menor, são necessárias determinações adicionais como a electroforese das hemoglobinas, para excluir uma hemoglobina variante, e a demonstração do aumento da hemoglobina A₂. A Cromatografia Líquida de Alta Resolução – *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), por permitir dosar a hemoglobina A₂ e, simultaneamente, detectar a presença de hemoglobinas anormais é, actualmente, o método de eleição (Anderson, 1980; McPherson and Pincus, 2007).

O aumento da hemoglobina A₂ acima de 3,5% confirma o diagnóstico de β -Talassemia (McPherson and Pincus, 2007).

Vemos, portanto, que o diagnóstico diferencial destas anemias é de extrema importância clínica, porém, apresenta grande complexidade. Acresce, também, o facto de ser moroso e acarretar custos significativos (Melo et al, 2002; Matos et al, 2008).

Actualmente, os auto-analisadores são providos de índices hematológicos que conferem uma maior simplicidade e eficiência no diagnóstico diferencial destas anemias (Matos et al, 2008).

O *Microcytic Anemia Factor* (MAF) é um novo parâmetro hematológico que relaciona o conteúdo de hemoglobina dos eritrócitos com o seu volume, através da seguinte fórmula (Capel-Casbas et al, 2005):

$$MAF = (Hb \times VGM) / 100$$

Este parâmetro auxilia na classificação das anemias caracterizadas por microcitose, através da deficiência de ferro funcional e latente - MAF diminuído (Capel-Casbas et al, 2005).

Assim, o objectivo deste estudo foi estudar o poder discriminatório do parâmetro MAF na caracterização da anemia ferropénica e da β -Talassemia, relacionando este parâmetro com o grau de microcitose, anisocitose e anisocromia. Procurou-se, também, estabelecer padrões de diferenciação através da utilização de outros parâmetros hematológicos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Tipo de estudo

Efectuou-se um estudo caso-controlo a partir da recolha de registos de análises disponibilizados informaticamente.

2.2 Amostra

Estudou-se os dados de um grupo de 84 indivíduos com anemia: 47 com anemia ferropénica (33 mulheres e 14 homens) e 37 com β -Talassemia (26 mulheres e 11 homens), e de um grupo controlo constituído por 58 indivíduos saudáveis (31 mulheres e 27 homens).

Para os casos (doentes com anemia) utilizou-se os seguintes critérios de inclusão: idade igual ou superior a 18 anos, com VGM inferior a 80 fL e hemoglobina inferior a 12,0 g/dL para as mulheres e 13,0 g/dL para os homens. Relativamente ao grupo controlo foram incluídos indivíduos com idade igual ou superior a 18 anos, com parâmetros hematológicos normais e que não apresentavam qualquer quadro patológico.

Os dados estudados são provenientes de pacientes da Unidade Local de Saúde de Matosinhos (ULSM) e reportam a um período temporal compreendido entre Maio de 2009 e Abril de 2010.

2.3 Procedimento

Salvaguardo que o procedimento utilizado segue o algoritmo constado no manual de procedimentos do Laboratório de Hematologia do Hospital Pedro Hispano e que o mesmo se manteve inalterado ao longo de todo o estudo.

Os hemogramas foram realizados no auto-analisador *LH 780 Series* da Beckman Coulter®, a partir de amostras de sangue periférico, colhidas em ácido etilenodiaminotetracético-tripotássico (EDTA-K3). Com base nos resultados observados, os pacientes foram divididos em dois grupos: pacientes com anemia microcítica (casos) e pacientes saudáveis (controlos). Os doentes com anemia microcítica foram, por sua vez, classificados em dois grupos: doentes com anemia ferropénica e doentes com β -Talassemia. Foram classificados como indivíduos com anemia ferropénica quando, na ausência de diagnóstico confirmado, apresentavam ferro sérico < 25 μ g/dL nas mulheres e < 31 μ g/dL nos homens, e pelo menos um dos seguintes critérios: ferritina < 20 ng/mL; transferrina > 382 mg/dL nas mulheres e > 364 mg/dL nos homens; capacidade total de fixação do ferro – *Total Iron Binding Capacity* (TIBC) > 428 μ g/dL. Por outro lado, foram classificados como indivíduos β -Talassemicos os doentes que, na ausência de diagnóstico confirmado, apresentavam hemoglobina A₂ superior a 3,5%. O grupo controlo foi constituído por indivíduos com parâmetros hematológicos normais e sem patologias diagnosticadas.

2.4 Questões Éticas

Este estudo foi realizado após consentimento da Comissão de Ética do Hospital Pedro Hispano - Unidade Local de Saúde de Matosinhos (HPH-ULSM). Os procedimentos seguidos não colocam em causa os princípios estabelecidos pela Declaração de Helsínquia.

2.5 Análise Estatística

Para efeitos de tratamento e análise estatística dos dados obtidos foram utilizados os programas informáticos Microsoft® Office Excel 2007 e “Statistical Package for Social Sciences” (SPSS®), versão 17.0.

Utilizou-se estatística descritiva uni/bivariada: as variáveis categóricas foram descritas através de frequências absolutas e relativas (%); as variáveis contínuas foram descritas usando médias e desvios-padrão. A normalidade das distribuições foi testada segundo o teste de hipóteses de *Kolmogorov-Smirnov*. Para as variáveis que apresentaram distribuição normal foi utilizado o teste *One-Way ANOVA* quando as comparações envolveram mais de dois grupos simultaneamente e, posteriormente, o teste de *Bonferroni* para comparar médias entre dois grupos. Relativamente às variáveis que não seguiam uma distribuição normal, recorreu-se ao teste *Kruskal-Wallis* na comparação dos três grupos em simultâneo, seguido do teste de *Mann-Whitney* para verificar quais os grupos que diferiam entre si. Foram, ainda, calculadas correlações de *Pearson* para estudar a associação entre os vários parâmetros hematológicos.

O nível de significância estabelecido foi de 0,05.

3.RESULTADOS

O grupo de doentes com anemia ferropénica apresentou uma média de idade de $55 \pm 17,93$ anos, tendo sido composto por 14 indivíduos do sexo masculino e 33 indivíduos do sexo feminino. No grupo de doentes com β -Talassemia, a média de idade foi de $49 \pm 18,32$ anos e apresentava, na sua constituição, 11 doentes do sexo masculino e 26 doentes do sexo feminino. Finalmente, o grupo controlo foi constituído por 27 pacientes do sexo masculino e 31 do sexo feminino, tendo apresentado uma média de idade de $49 \pm 14,54$ anos. A distribuição por sexo e idade dos 142 indivíduos estudados é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1: Distribuição dos 142 indivíduos incluídos no estudo por sexo e idade

	Idade (anos)			Sexo		Total
	Média \pm DP	Mínimo	Máximo	Masculino	Feminino	
Anemia Ferropénica	$55 \pm 17,93$	27	90	14 (29,8%)	33 (70,2%)	47
B-Talassemia	$49 \pm 18,32$	19	86	11 (29,7%)	26 (70,3%)	37
Controlo	$49 \pm 14,54$	20	80	27 (46,6%)	31 (53,4%)	58

A Tabela 2 ilustra as médias e os desvios-padrão dos parâmetros hematológicos estudados. Os resultados obtidos indicam que as médias destes parâmetros nos indivíduos com anemia ferropénica e com β -Talassemia foram todos estatisticamente diferentes das médias obtidas para o grupo controlo.

Tabela 2: Distribuição dos parâmetros hematológicos nos três grupos

	<i>Anemia ferropénica</i> (n=47) <i>Grupo 0</i>	<i>B-Talassemia</i> (n=37) <i>Grupo 1</i>	<i>Controlo</i> (n=58) <i>Grupo 2</i>	<i>Comparação entre os grupos</i>		
				0 \times 1	0 \times 2	1 \times 2
				Valor de p		
Hb (g/dL)	$9,76 \pm 1,38$	$11,35 \pm 0,87$	$14,43 \pm 2,29$	p=0,00	p=0,00	p=0,00
VGM (fL)	$71,38 \pm 4,75$	$65,80 \pm 2,70$	$91,80 \pm 3,14$	p=0,00	p=0,00	p=0,00
MAF (%)	$7,00 \pm 1,21$	$7,50 \pm 0,78$	$13,07 \pm 1,35$	p=0,06	p=0,00	p=0,00
RDW (%)	$19,42 \pm 3,18$	$16,56 \pm 3,53$	$13,30 \pm 0,55$	p=0,00	p=0,00	p=0,00
CHGM (g/dL)	$31,78 \pm 1,52$	$31,88 \pm 0,48$	$33,72 \pm 0,44$	p=1,00	p=0,00	p=0,00

As duas patologias estudadas apresentaram um valor de hemoglobina significativamente mais baixo que o controlo. Relativamente à comparação entre os indivíduos com anemia ferropénica e os β -Talasémicos foi encontrado um valor significativamente inferior nos primeiros.

No que respeita ao RDW, os grupos patológicos apresentaram, também, valores inferiores ao grupo controlo, mas na comparação entre o grupo ferropénico e o grupo β -Talasémico, o primeiro demonstrou ter um RDW estatisticamente superior ao segundo.

O parâmetro VGM foi estatisticamente diferente entre os três grupos, com um valor médio de 71,38 fL para os indivíduos ferropénicos, 65,80 fL para os β -Talasémicos e 91,80 fL para o grupo controlo.

Em relação ao MAF, os valores médios dos grupos patológicos foram inferiores ao do grupo controlo. No entanto, não foram encontradas diferenças significativas na comparação entre os dois grupos patológicos ($\alpha > 0,05$). O mesmo se verificou com a CHGM.

Foram efectuadas as correlações de Pearson entre os parâmetros hematológicos estudados (Tabela 3). Observaram-se correlações positivas fortes entre o valor de MAF e o valor de hemoglobina ($R = 0,95$) e entre o valor de MAF e o de VGM ($R = 0,70$). No que respeita aos restantes parâmetros estudados, todos apresentaram correlações fracas.

Tabela 3: *Correlações entre os vários parâmetros hematológicos estudados*

	Hb (g/dL)	VGM (fL)	MAF (%)	RDW (%)	CHGM (g/dL)
Hb (g/dL)	1,00	0,49	0,95	-0,29	0,12
VGM (fL)		1,00	0,70	-0,25	0,14
MAF (%)			1,00	-0,29	0,18
RDW (%)				1,00	-0,39
CHGM (g/dL)					1,00

4. DISCUSSÃO

A anemia ferropénica é uma manifestação tardia da deficiência de ferro, quando este não é suficiente para manter valores de hemoglobina normais. Torna-se, assim, cada vez mais pertinente detectar essa deficiência antes do estabelecimento da anemia. Neste sentido, na avaliação da ferropenia é imprescindível a utilização de parâmetros ou marcadores suficientemente sensíveis para o seu diagnóstico precoce, assim como para a diferenciação de outras patologias, como a β -Talassemia.

O objectivo deste estudo focou-se, assim, no estudo do MAF como factor diferenciador das anemias microcíticas – anemia ferropénica e β -Talassemia. Procurou-se, ainda, estabelecer padrões de diferenciação através da utilização de outros parâmetros hematológicos.

Depois de determinadas as médias e os desvios-padrão dos índices hematológicos, foi possível demonstrar que os grupos patológicos apresentaram diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controlo, para todos os parâmetros, o que permite validar o grupo controlo.

Relativamente à hemoglobina, esta apresentou um valor menor na anemia ferropénica do que na β -Talassemia, o que está de acordo com o descrito na literatura.

Na β -Talassemia, o VGM é menor do que na anemia ferropénica, conseqüentemente, o grau de microcitose tende a ser maior na primeira, em relação ao valor de hemoglobina.

Neste estudo, foram encontrados valores de RDW significativamente mais elevados nos grupos patológicos do que no grupo controlo. No entanto, na anemia ferropénica este parâmetro hematológico assume um valor médio estatisticamente mais elevado do que na β -Talassemia. Estes resultados coincidem com os obtidos no trabalho de Henneberg et al, 2008, embora o valor médio de RDW nos indivíduos ferropénicos tenha sido inferior ao obtido no nosso estudo, uma vez que a média de hemoglobina no estudo de Henneberg et al, 2008, foi maior.

Contudo, os resultados do nosso estudo são contraditórios com os apresentados por Matos et al, 2008, onde não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas de RDW nos dois grupos, o que pode ser devido às diferentes metodologias utilizadas nos estudos.

O RDW corresponde ao coeficiente de variação do volume dos eritrócitos e reflecte o grau de anisocitose celular. Nas β -Talassemias, como há uma mutação nos genes das cadeias globínicas, todos os precursores são afectados, havendo sempre uma produção constante de eritrócitos microcíticos (Matos et al, 2008). Pelo contrário, os doentes com anemia ferropénica tendem a apresentar valores maiores de RDW, uma vez que a diminuição progressiva do ferro conduz à produção de eritrócitos com um volume menor, coexistindo várias populações de eritrócitos de vários tamanhos.

O valor elevado de RDW verificado no grupo de doentes com β -Talassemia pode ser explicado por Bain, 2007, que descreve que o mesmo tende a elevar-se nos pacientes que se tornaram anémicos. Efectivamente, neste estudo só foram englobados doentes β -Talassemicos com anemia, tendo sido excluídos todos os doentes β -Talassemicos sem anemia.

Relativamente à CHGM, verificou-se uma ligeira diminuição deste parâmetro nos grupos patológicos quando comparado com o valor obtido para o grupo controlo. Contrariamente ao descrito por Bain, 2007, no nosso estudo não obtivemos diferenças estatisticamente significativas de CHGM entre os grupos patológicos, o que se deve, mais uma vez, ao facto de o nosso estudo ter incluído apenas indivíduos anémicos.

No que concerne à comparação do MAF entre os grupos patológicos e o grupo controlo, verificou-se uma diminuição significativa nos primeiros. No entanto, não foram encontradas diferenças entre os indivíduos ferropénicos e os β -Talassemicos, sugerindo que o MAF não tem poder discriminatório entre estas duas patologias na presença de anemia. A explicação para tal reside no facto de o parâmetro MAF ser o resultado da multiplicação de dois parâmetros hematológicos – hemoglobina e VGM – os quais aparecem diminuídos quer na anemia ferropénica, quer na β -Talassemia. Além disso, as correlações fortemente positivas verificadas entre o valor de MAF e o valor de hemoglobina e entre o valor de MAF e o de VGM em ambos os grupos permitem, também, corroborar os resultados obtidos.

É, então, possível constatar que o MAF, apesar de ser um bom indicador das anemias microcíticas, não é capaz, por si só, de as diferenciar quando o valor de hemoglobina é inferior ao normal.

Segundo a literatura (Capel-Casbas et al, 2005), um valor de MAF diminuído é indicativo de deficiência de ferro latente, que se caracteriza por diminuição das reservas de ferro no organismo, ainda na ausência de anemia (com valores de hemoglobina no limiar inferior da normalidade). Neste sentido, sempre que o MAF apresente um valor diminuído, é aconselhável proceder-se ao doseamento da ferritina para corroborar a depleção de ferro. O estudo referido anteriormente conclui que o MAF poderá servir como um alerta para esta condição clínica, de forma a poder identificá-la e tratá-la, antes do surgimento da anemia e de complicações subsequentes.

De facto, no nosso estudo só foram englobados doentes microcíticos e já com anemia, contribuindo para que o MAF não apresente poder de diferenciação entre as duas patologias estudadas.

Este estudo não permitiu tirar conclusões mais pertinentes devido a várias limitações, nomeadamente:

- Desenho do estudo – deveriam ter sido englobados doentes β -Talassemicos sem anemia e doentes ferropénicos nos vários estádios da deficiência de ferro, de forma a calcular a sensibilidade e especificidade do MAF.
- Informação clínica insuficiente – poderiam coexistir ambas as patologias e/ou doentes em tratamento com ferro.
- Insuficiência de parâmetros analíticos em alguns doentes, o que condicionou os critérios pré-definidos na constituição dos grupos.

Seria interessante que, em futuras investigações, fossem estudadas as variáveis referidas anteriormente, entre outras, de modo a responder às dúvidas levantadas e tirar conclusões mais pertinentes.

5. CONCLUSÃO

Actualmente, os analisadores hematológicos fornecem, além dos parâmetros eritrocitários tradicionais, outros índices hematológicos que poderão ser úteis no estudo das anemias. O parâmetro MAF é obtido de forma simples e sem acarretar custos adicionais à realização do hemograma, tendo sido objectivo deste estudo avaliar o seu poder discriminatório nas anemias microcíticas.

Neste estudo não foram observadas diferenças estatisticamente significativas para o MAF entre os dois grupos de anemias microcíticas avaliados, o que sugere que este parâmetro não apresenta utilidade na diferenciação das mesmas. Constatou-se, ainda, que existem certos marcadores mais fiáveis destas condições

clínicas, nomeadamente a Hemoglobina, o VGM e o RDW; contudo, todos aparecem alterados em ambos os grupos, limitando, assim, a sua utilização como factores de diferenciação.

Este estudo demonstra claramente a complexidade do diagnóstico destas anemias, sinalizando para a necessidade de se envidar esforços no sentido do desenvolvimento de outro índice mais eficiente. Porém, enquanto tal não se concretiza, a utilização dos exames específicos tradicionais no diagnóstico diferencial continua imprescindível na prática clínica.

6. REFERÊNCIAS

- Anderson, J. R. (1980). *Muir's Textbook of Pathology* (11ª ed.). Londres: Edward Arnold.
- Ault, K., Hillman, R., & Rinder, H. (2005). *Hematology in Clinical Practice* (4ª ed.). McGraw-Hill.
- Bain, B., (2007). *Células Sangüíneas: Um Guia Prático* (4ª ed.). Porto Alegre: Artmed.
- Breaumont, Falco, L., & C. Iolascon, A., (2009). Molecular basis of inherited microcytic anemia due to defects in iron acquisition or heme synthesis. *Haematologica*, 94(3).
- Cançado, R., Melo, M., Purini, M., et al. (2002). Uso de Índices Hematimétricos no Diagnóstico Diferencial de Anemias Microcíticas: Uma Abordagem a ser Adotada?. *Rev Assoc Med Bras*, 48(3):222-4.
- Capel-Casbas, M., Diaz, J., Duran, J., et al. (2005). Latent Iron Metabolism Disturbances in Fertile Women and Its Detection with the Automated Hematology Instrument LH750®. *Blood*, 106.
- Cook, J., (2005). Diagnosis and management of iron-deficiency anaemia. *Best Practice & Research Clinical Haematology*, 18(2):319-332.
- Ghosh, A. (2008). *Mayo Clinic Internal Medicine Review* (8ª ed.).
- Henneberg, R., Leite, A., & Nascimento, A. (2008). Caracterização Eritrocitométrica Diferencial entre Portadores de Anemia por Deficiência de Ferro, Traço Falciforme e Beta Talassemia Menor. *Visão Acadêmica*, 9(2).
- Hinzmann, R. (2003). Iron Metabolism, Iron Deficiency and Anaemia From Diagnosis to Treatment and Monitoring. *Sysmex Journal International*. 13:2.
- Kaneshiro, M., & Kaunitz, J. Zhu, A., (2010). Evaluation and Treatment of Iron Deficiency Anemia: A Gastroenterological Perspective. *Dig Dis Sci*, 55:548-559.
- Matos, J., Dusse, L., Stubbert, L., et al. (2008). Índice de anisocitose eritrocitária (RDW): diferenciação das anemias microcíticas e hipocrômicas. *Rev. bras. hematol. Hemoter*, 30(2):120-123.
- McPherson, R., & Pincus, M., (2007). *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods* (21ª ed.). Saunders Elsevier
- Thomas, C., & Thomas, L. (2002). Biochemical Markers and Hematologic Indices in the Diagnosis of Functional Iron Deficiency. *Clinical Chemistry*. 48:7.
- Thomas, C., & Thomas, L. (2005). Anemia of Chronic Disease: Pathophysiology and Laboratory Diagnosis. *Laboratory Hematology*. 11, 14-23.

ICH Gaia-Porto 2010, ESTSP-IPP

Acordo de Publicação e Atribuição de Direitos de Autor

Contrato: Temos o privilégio de publicar seu artigo no 1º Congresso Internacional de Saúde Gaia-Porto (coletivamente "ICH Gaia-Porto/AA"). Pela apresentação do seu trabalho, decide conceder ao ICH Gaia-Porto/AA ICH todo o direito, título e interesse, incluindo direitos de autor no e para o artigo tal como aparece nas Actas do ICH Gaia-Porto/AA ("o Artigo"). A gestão dos direitos de autor de todos os artigos será mantida pelo ICH Gaia-Porto.

Direitos Reservados pelo Autor(es): Decide manter e reserva para si uma licença não-exclusiva: 1.) fotocopiar o Artigo para o seu uso próprio em actividades de ensino; e 2.) publicar o Artigo, ou permitir que este seja publicado, como parte de qualquer livro que possa escrever, ou em qualquer antologia de que seja um editor, na qual o seu Artigo é incluído ou que se expanda ou seja elaborada sobre o Artigo, a menos que a antologia seja feita principalmente a partir ICH Gaia-Porto/AA. Como condição de reserva desse direito, concorda que ao ICH Gaia-Porto/AA será dado crédito pela primeira publicação, e o apropriado aviso de direitos de autor será exibido no trabalho (tanto no trabalho como um todo como, quando aplicável, também no artigo) sempre que a publicação ocorra.

Direitos do ICH Gaia-Porto 2010, ESTSP-IPP: Este acordo significa que ICH Gaia-Porto/AA terá os seguintes direitos exclusivos, entre outros: 1.) licença para resumos, citações, extractos, separatas e / ou traduções da obra para publicação, 2.) licença para reedições do Artigo de terceiros para fotocópia de ensino; 3.) para conceder licenças a outros para criar resumos do Artigo 4.) para conceder licenças para editores secundário para que reproduzam o Artigo na impressão, microform, ou qualquer suporte informático legível, incluindo bases de dados electrónicas on-line. Isto inclui o licenciamento do Artigo para a inclusão em uma antologia do ICH Gaia-Porto/AA 2010

Garantias: Garante que o Artigo não tenha sido previamente publicado de nenhuma forma, que não concedeu nenhuma licença ou transferência para ninguém no que respeita à sua autoria no mesmo, e que é(são) o(s) autor(es) único(s) e, de forma geral têm o direito de fazer as concessões ao ICH Gaia-Porto/AA. Todas as excepções devem ser descritas a seguir. Garante que o Artigo não: prejudica/difama ninguém, invade a privacidade de ninguém, infringe direitos autorais de alguém, ou infringe qualquer lei ou direito comum a todos. Concorda em indemnizar o ICH Gaia-Porto/AA em relação a qualquer reivindicação ou acção alegando factos que, se verdadeiros, constitui uma violação de qualquer das garantias anteriores.

Relativamente aos Funcionários Governamentais: Algumas das concessões anteriores e garantias não se aplicam se o documento foi escrito por funcionários do Governo agindo no âmbito das suas funções. Os funcionários do Governo reservam-se o direito de reproduzir o livro para fins relacionados com o mesmo, fazendo um pedido no momento da submissão do Artigo. Se nenhum direito autoral pode ser afirmado neste trabalho e deve ser considerado no domínio público, o ICH Gaia-Porto/AA deve ser notificado no momento da submissão do artigo.

Conclusão: Esta é a totalidade do acordo entre o autor e o ICH Gaia-Porto/AA e só pode ser modificado por escrito. Ele não se aplicará se não publicar o seu artigo no ICH Gaia-Porto/AA 2010.