

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS**

**COMPRIMIDOS MASTIGÁVEIS DE FERRO  
CARBONILA PARA TRATAMENTO DA ANEMIA  
FERROPRIVA DE CRIANÇAS MENORES DE SEIS  
ANOS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Iria Luiza Gomes Farias**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2006**

**COMPRIMIDOS MASTIGÁVEIS DE FERRO CARBONILA  
PARA TRATAMENTO DA ANEMIA FERROPRIVA DE  
CRIANÇAS MENORES DE SEIS ANOS**

**Por**

**Iria Luiza Gomes Farias**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração em Análises Clínicas e Toxicológicas, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Farmacêuticas.**

**Orientador: Prof. José Édson Paz da Silva**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2006**

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Dissertação de Mestrado

**COMPRIMIDOS MASTIGÁVEIS DE FERRO CARBONILA PARA  
TRATAMENTO DA ANEMIA FERROPRIVA DE CRIANÇAS  
MENORES DE SEIS ANOS**

Elaborada por  
**Iria Luiza Gomes Farias**

Como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Ciências Farmacêuticas**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

**José Édson Paz da Silva, Dr.**  
(Presidente/Orientador)

---

**Ângela Regina Maciel Weinmann, Dra., UFSM**

---

**Sergio Luiz Dalmora, Dr., UFSM**

Santa Maria, 20 de dezembro de 2006

À Anny,  
Como testemunho que a amizade verdadeira ultrapassa anos... décadas,  
e se mantém íntegra!

## **AGRADECIMENTOS**

Este trabalho foi especial pelo envolvimento das pessoas que dele participaram e, foram muitas:

Anny Maciel Trentini, do Herbarium Laboratório Botânico Ltda, pelas sugestões de produtos e incentivo;

Critina Beerends e equipe, da Fundação Herbarium de Pesquisa e Saúde, na avaliação e sugestões para o Protocolo Clínico;

Ana Carolina Asbhar e equipe, Herbarium Laboratório Botânico Ltda, pelo desenvolvimento dos comprimidos do estudo;

Maubert Moreira, Hematologista do Serviço de Hematologia/Oncologia do Hospital Universitário de Santa Maria, pela revisão do Protocolo Clínico;

Médicos de Família e Comunidade, Adriane Cramer, Carlos André Schimitz e Sonia Kraemer, pelo encaminhamento dos pacientes;

Enf<sup>as</sup>. Teodora Alves, Guiomar Danieli e Dayse Longaray, coordenadoras dos PSFs; pelo acolhimento e apoio ao trabalho;

Bioquímicas Salimara Botton, Adriana Carmo, Eliane Machado, Rosirene Silveira, Marisa Luchesi, Giselda Ambros, Vania Weber e Maria Aparecida Barrios, pela realização de exames laboratoriais;

Elisangela Colpo, nutricionista, pelas orientações nutricionais e auxílio nas coletas de dados;

Equipe de saúde do PSF São José, pelo recrutamento e acompanhamento dos pacientes: Marcio Correa, Cenira Farias, Cleonice Pilar, Adriana Machado, Adriane Felin,

Izonilda Rosa, Eliane Forner, Judy Silva, Liziane Brondani, Janete Pereira, Ângela Scremin, Alice Jahn, Emerson Guth, Ing Paines e Eliane Moro.

Equipe de Saúde do PSF Alto da Boa Vista pelo recrutamento e acompanhamento dos pacientes: Giliaine Schaff, Maria Claudete Ribeiro, Sonia Ribeiro, Solange da Silva, Kalen Aquino, Sandra Cardoso, Luciano Fontana, Noemi Rodrigues e Andréia Gomes.

Equipe de Saúde Santos pelo recrutamento e acompanhamento dos pacientes:

Acadêmicos do curso de Farmácia Francielle Pinheiro, Carlos Giovane Acosta, Mateus Ten Caten, Rodrigo Gindri, e funcionários do HUSM Antônio Nascimento e Cláudia Machado pelas coletas e companhia;

Colegas do Serviço de Hematologia/Oncologia do HUSM: Maria do Carmo Araújo e Valússia Scapin, pelo apoio e compreensão pelas horas de ausências no período de trabalho;

Renata Sutel, por Serviços administrativos.

Patrocinadores do estudo: Fundação Herbarium de Pesquisa e Saúde e Hospital Universitário de Santa Maria.

## **RESUMO**

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas  
Universidade Federal de Santa Maria

### **COMPRIMIDOS MASTIGÁVEIS DE FERRO CARBONILA PARA TRATAMENTO DA ANEMIA FERROPRIVA DE CRIANÇAS MENORES DE SEIS ANOS**

AUTORA: IRIA LUIZA GOMES FARIAS

ORIENTADOR: JOSÉ ÉDSON PAZ DA SILVA

Data e local da Defesa: Santa Maria, 20 de dezembro de 2006.

O objetivo deste estudo é verificar a eficácia, ocorrência de efeitos colaterais e aceitação de ferro carbonila em pó, na forma de comprimidos mastigáveis, para possibilitar uma alternativa ao tratamento convencional da anemia ferropriva com sulfato ferroso, para crianças menores de seis anos. A intervenção proposta para tratamento da anemia ferropriva de crianças, quase na totalidade das vezes, consiste em gotas de sulfato ferroso que não tem tido efetividade desejada. Vários estudos comprovam a baixa adesão ao tratamento em virtude dos efeitos colaterais do medicamento (intolerância gastrointestinal, alterações na cor e consistência das fezes, impregnação de ferro nas fraldas e dentes), do esquema de administração em dose diária por tempo prolongado, do sabor metálico do medicamento, além de aspectos socioculturais. Na escolha do preparado, deve ser considerado o conteúdo do íon ferro, tolerância, absorção intestinal, eficácia e custo. O ferro carbonila em pó é obtido pela decomposição a altas temperaturas do ferro pentacarbonil, resultando em ferro elementar ( $Fe^0$ ) extremamente puro, em forma de micro-esferas de 4-7 $\mu$ m, com boa biodisponibilidade, não tóxico e sem conferir sabor metálico às preparações. O desenho do estudo foi um ensaio clínico, randomizado, aberto. O grupo estudo (CA) recebeu comprimidos mastigáveis de Ferro Carbonila; o grupo controle (SF) recebeu solução de Sulfato Ferroso, na dose de 5mg/Kg/dia, por 90 dias. Participaram do estudo 73 crianças com diagnóstico comprovado de anemia ferropriva, atendidas em USFs de Santa Maria, RS. Foram realizadas coletas de sangue nos tempos 0, 30 e 90 dias de tratamento. Os hemogramas foram realizados em STKS Coulter, Ferro sérico e Capacidade Total de Ligação do Ferro, por química úmida (colorimetria) e Ferritina por quimioluminescência, todos por automação. Os dados analisados com programa EpiInfo, versão 3.3.2, do CDC/USA. O incremento de Hb após 30 dias de tratamento foi de 1,3g/dl (dp 0,92) no grupo CA e 1,2g/dl (dp 1,13) no grupo SF ( $p>0,05$ ). Após 90 dias de tratamento, as médias do Ht, VCM, HCM, CTLF e ferritina são significativamente melhores no grupo CA ( $p<0,005$ ). Nenhuma criança do grupo CA apresentou efeitos colaterais. No grupo SF, 62% tiveram diarreia e/ou vômito. O número de crianças que permanecia com Hb < 11g/dl, no grupo controle, era o dobro do que no grupo recebendo ferro carbonila. Pelos resultados de eficácia em 30 dias similares ao padrão sulfato ferroso e a superioridade em 90 dias de tratamento, aliados a segurança (baixa toxicidade) e ótima aceitação, o ferro carbonila deve ser considerado como uma importante opção terapêutica para tratamento da anemia ferropriva, de crianças menores de seis anos de idade.

**Palavras-Chave:** Ferro Carbonila em Pó; Ferro Elementar em Pó; Anemia Ferropriva.

## ABSTRACT

### CHEWABLE TABLETS OF CARBONYL IRON POWDER IN THE TREATMENT OF IRON DEFICIENCY ANEMIA IN CHILDREN UNDER SIX YEARS OF AGE

AUTHORESS: IRIA LUIZA GOMES FARIAS

ORIENTING: JOSÉ ÉDSON PAZ DA SILVA

Date and place of the defense: Santa Maria, December 20 of 2006.

The objective this study is verify the efficiency and occurrence of collateral effects with the use of carbonyl iron powder, in the form of chewable tablets, in order to enable the use of an alternative to the conventional treatment of iron deficiency anemia with ferrous sulfate, for children under 6 years of age. The intervention proposed for the treatment of iron deficiency anemia in children almost always consists of ferrous sulfate drops that do not have the desired effectiveness. Several studies have proven the low adherence to the treatment due to collateral effects of the medication (gastrointestinal intolerance, alterations in color and consistency of stools, impregnation of iron in diapers and teeth), to the prolonged daily administration in the form of drops, to the metallic taste, as well as to socio-cultural aspects. In choosing the preparation, the content of the iron ion, tolerance, absorption, effectiveness and cost must all be considered. Carbonyl iron powder is obtained by decomposition of Fe pentacarbonyl at high temperatures, resulting in extremely pure elemental Fe ( $Fe^0$ ), in the form of non-toxic micro-spheres of 4-7/ $\mu$ m, with bioavailability in relation to 58-70% ferrous sulfate and it does not confer a metallic taste to the preparation. An open randomized clinical assay was carried out. The group studied (CA) received Carbonyl Iron and the control group (SF) received a solution of Ferrous Sulfate, both at a dose of 5mg/Kg/day, for 90 days. Seventy-three children from Family Health Units (FHU) of Santa Maria, Brazil, participated in the study. Blood was collected at 0, 30 and 90 days of treatment. The hemograms were carried out in STKS (Coulter, USA), serum iron and TIBC, by colorimetric assay and ferritin by immunometric assay. The data was analyzed with the EpiInfo program, version 3.3.2, from CDC/USA. The increase in Hb after 30 days of treatment was of 1.3g/dl (SD 0.92) for group CA and of 1.2g/dl (SD 1.13) for group SF ( $p>0.05$ ). After 90 days of treatment, CA had favorable results for Ht, MCV, MCH, TIBC and ferritin ( $p<0.05$ ). None of the children from group CA presented side effects, in group SF, 62% of the children presented diarrhea and/or experienced vomiting. The number of children from the control group who continued to present a level of Hb lower than 11g/dl was two-fold that of the group that received carbonyl iron. Based on the results demonstrating the same effectiveness at 30 days as for the standard ferrous sulfate and the superior results at 90 days of treatment, together with the safety (low toxicity) and excellent acceptance, carbonyl iron should be considered an important option for the therapeutic treatment of iron deficiency anemia in children under the age of six.

**Key words:** Carbonyl iron powder, elemental iron powder, iron deficiency anemia

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Ferro Carbonila, microfotografia eletrônica.....	21
Figura 2 - Evolução eritrograma basal, 30 e 90 dias de tratamento, grupo estudo (CA) e controle (SF) .....	38
Figura 3 - Ferro sérico, CTLF, ST, Ferritina basal e 90 dias tratamento grupo estudo (CA) e controle (SF) .....	39

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela1 - Valores basais do eritrograma, Fe, ST e ferritina dos grupos de estudo (CA) e controle (SF), de crianças menores de 6 anos de idade .....	36
Tabela 2 – Increase of Hb as measure of effectiveness in different studies .....	37
Tabela 3 - Incremento de Hb como medida de eficácia de diferentes estudos .....	41

## SUMÁRIO

<b>AGRADECIMENTOS .....</b>	<b>4</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>6</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>7</b>
<b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES .....</b>	<b>9</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>10</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>1.1 Objetivo .....</b>	<b>13</b>
1.1.1 Objetivos específicos .....	13
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>14</b>
<b>2.1 Anemia ferropriva .....</b>	<b>14</b>
<b>2.2 Tipos de fármacos contendo ferro .....</b>	<b>17</b>
<b>2.3 Tratamento anemia ferropriva .....</b>	<b>18</b>
<b>2.4 Produto de estudo: ferro carbonila em pó .....</b>	<b>21</b>
2.4.1 Biodisponibilidade do ferro carbonila .....	22
2.4.2 Toxicidade .....	24
<b>2.5 Ensaios clínicos anteriores .....</b>	<b>25</b>
<b>3 ARTIGO .....</b>	<b>27</b>
<b>4 DISCUSSÃO .....</b>	<b>40</b>
<b>5 CONCLUSÃO .....</b>	<b>44</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>45</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O ferro é considerado um metal essencial para a maior parte dos organismos vivos, participando de uma ampla variedade de processos metabólicos, incluindo o transporte de oxigênio, participação nas funções do sistema imune, síntese de DNA e transporte de elétrons. Todavia, o excesso ou a deficiência deste mineral causam importantes desordens no organismo (LEHNINGER, 2000).

A suplementação medicamentosa com sais de ferro tem sido amplamente utilizada em nosso meio, tanto na forma curativa (em grupos ferro deficientes) como profilática (direcionada a grupos de risco). Na escolha do preparado, deve ser considerado o conteúdo do íon ferro, a tolerância, a absorção intestinal, a eficácia e o custo. A intervenção proposta, quase na totalidade das vezes, consiste em gotas de sulfato ferroso, que não tem tido a efetividade desejada (SIMIONATTO, 2003). Vários estudos comprovam a baixa adesão ao tratamento, em virtude dos efeitos colaterais do medicamento (intolerância gastrointestinal, alterações na cor e consistência das fezes, impregnação de ferro nas fraldas e dentes), do esquema de administração em dose diária por tempo prolongado, do sabor metálico do medicamento, além de aspectos sócios culturais (DEVICENSI et al., 1999).

Existem, no mercado brasileiro, cerca de 180 produtos farmacêuticos contendo compostos de ferro, de forma isolada ou em associações com outros minerais e vitaminas. Destes, a grande maioria é constituída de sulfato ferroso. Assim, apesar da grande quantidade de medicamentos comerciais, produzidos por diversas empresas farmacêuticas, existe uma limitada opção terapêutica. As formas farmacêuticas mais utilizadas para população adulta são comprimidos e cápsulas, havendo apenas dois produtos na forma de comprimidos mastigáveis, um contendo ferro bis-glicina quelato e outro hidróxido de ferro polimaltosado, em concentração correspondente a 100mg de ferro elementar. Para uso pediátrico, os

medicamentos estão sob forma de gotas ou xarope, quase que exclusivamente na forma de sulfato ferroso (SORIAK, 2001).

A maioria dos medicamentos pediátricos não têm tido efetividade, quer seja pelos efeitos colaterais (vômito, diarreia), que diminuem a absorção, quer seja pelas propriedades organolépticas, que dificultam a aceitação do sulfato ferroso pelas crianças. A alternativa disponível no mercado são os medicamentos contendo ferro quelato, porém limitada pelo alto custo para as populações de baixa renda, onde a incidência da anemia ferropriva é maior.

Estudos recentes indicam prevalências de anemia por deficiência de ferro em pré-escolares, variando ao redor de 50%; em adolescentes 20% e em gestantes, variando entre 15% e 30%, com uma grande homogeneidade nas diferentes regiões do país. (BRASIL, 1999). Utilizando os dados de Meyer da Silva et al. (2001), que evidenciou uma prevalência de 47,8% da anemia ferropriva, em crianças menores de 3 anos que freqüentavam creches em Porto Alegre, podemos fazer uma estimativa da gravidade da situação de saúde das crianças e da necessidade de medidas para minimizá-las. Torna-se necessário a busca de alternativas ao tratamento padrão para crianças menores de seis anos, para a melhorar a adesão ao esquema terapêutico e, conseqüentemente, obter uma melhor e mais rápida resposta terapêutica.

Uma opção terapêutica mais efetiva poderia ser a utilização de ferro carbonila em pó, na forma de comprimidos mastigáveis, com sabor agradável para as crianças, de fácil administração, ótima segurança e custo similar ao sulfato ferroso. Para isto, se faz necessário um estudo clínico que verifique a eficácia de ferro carbonila na forma de comprimidos mastigáveis para crianças de um a seis anos de idade.

O presente protocolo de pesquisa clínica é conduzido de acordo com o Protocolo Boas Práticas Clínicas (resolução 129/96 Grupo Mercado Comum) e requerimentos regulatórios (resolução 196, do CNS de 10 de outubro de 1996; resolução 251 do CNS, de 7 de agosto de 1997; RDC 219, da ANVISA, de 20 de setembro de 2004) e, assim, deverá prevalecer o bem-estar individual das pessoas submetidas ao estudo, acima dos interesses da ciência e da comunidade e com estrita observação dos princípios científicos reconhecidos.

## **1.1 Objetivo**

Verificar a eficácia de ferro carbonila em pó, na forma de comprimidos mastigáveis, para possibilitar uma alternativa ao tratamento convencional da anemia ferropriva, com sulfato ferroso em gotas ou xarope, para crianças menores de seis anos.

### **1.1.1 Objetivos específicos**

1. Verificar e comparar a aceitação, ocorrência de efeitos adversos gastrintestinais e adesão ao tratamento nos grupos estudo e controle.

2. Avaliar e comparar a resposta terapêutica (desfecho secundário) dos seguintes itens: níveis ferritina, ferro sérico e saturação da transferrina, dos grupos suplementados com ferro carbonila e sulfato ferroso.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Anemia ferropriva

Como a anemia é o indicador mais comumente usado em *screening* para deficiência de ferro, os termos deficiência de ferro e anemia por deficiência de ferro são usados normalmente como sinônimos. Existem, no entanto, discretas a moderadas formas de deficiência de ferro sem anemia, mas que prejudicam a função de alguns tecidos, como o cerebral (WHO, 2001). A deficiência de ferro ocorre em três estágios, de caráter progressivo: primeiro, há uma diminuição dos níveis de ferro no organismo, com redução nos seus depósitos, observada através da queda na ferritina sérica (<12,0 mg/L); a seguir, instala-se a segunda fase, com eritropoiese deficiente, caracterizada por diminuição do ferro sérico e saturação de transferrina abaixo de 16%; no terceiro estágio, ocorre queda na síntese de hemoglobina, instalando-se a anemia, na qual as hemácias tornam-se microcíticas e hipocrômicas. Estima-se que a prevalência da deficiência de ferro seja de 2,0 a 2,5 vezes a da anemia. É importante lembrar que a anemia ferropriva, já instalada, caracterizada por níveis baixos de hemoglobina, é considerada o terceiro e último estágio da depleção de ferro no organismo. Nos estágios anteriores, os níveis de hemoglobina permanecem inalterados. Assim, em populações com alta prevalência de anemia ferropriva (Hb<11,0 g/dl), pode-se considerar que praticamente toda a população seja ferro-deficiente. (PAIVA et al., 2000; DEVICENZI et al., 1999; GILMANN, 1996).

A anemia ferropriva pode ser causada por baixas reservas de ferro ao nascimento, ingestão e/ou absorção insuficientes e perda excessiva de ferro. Existe associação estatisticamente significativa entre baixo peso ao nascer e anemia (SZARFARC et al., 2004) e entre a transferência de ferro para o feto e a quantidade deste absorvido pela mãe, sob suplementação de ferro e folato (O'BRIEN et al., 2003). Após seis meses de idade, as crianças

são mais vulneráveis à anemia ferropriva, devido ao esgotamento das reservas de ferro provenientes da gestação e da baixa ingestão pela dieta. Nesse período, há aumento da demanda orgânica por ferro em virtude do acelerado ritmo de crescimento, especialmente nos primeiros dois anos de vida. A curta duração do aleitamento materno exclusivo, a introdução tardia de alimentos ricos em ferro e o consumo insuficiente e/ou inadequado de estimuladores da sua absorção podem ser considerados fatores predisponentes para o desenvolvimento de anemia ferropriva. (SZARFARC et al., 2004; DEVICENZI et al., 1999). A introdução precoce ou a substituição do leite materno por leite de vaca merece atenção especial, pois o leite de vaca apresenta baixa biodisponibilidade de ferro e proteínas de difícil digestão (OLIVEIRA & OSÓRIO, 2005). Algumas das propriedades bacteriostáticas do leite humano estão associadas à biodisponibilidade do ferro do leite materno e à concentração de ferro no leite, independente dos níveis maternos (DOREA, 2000).

Os efeitos adversos da deficiência de ferro foram definidos pela Organização Mundial de Saúde como:

1. Menor performance cognitivo: o comportamento e o crescimento físico de crianças pré-escolares ou em idade escolar são afetados pelos baixos índices de ferro no organismo. Em experimentos com animais, o ferro tem demonstrado ser elemento chave no funcionamento do cérebro. Muitas áreas cerebrais contêm ferro, algumas em grande quantidade. Animais deficientes de ferro demonstram alterações em atividades cerebrais e de comportamento, que usualmente não respondem a suplementação com ferro;

2. Deficiência do sistema imune e morbidade por processos infecciosos em todos os grupos etários: a morbidade por doenças infecciosas aumenta em populações deficientes de ferro. Nesta situação, os leucócitos têm uma reduzida capacidade de fagocitar os microorganismos e os linfócitos têm diminuída sua habilidade de replicarem-se, quando estimulados pela presença de um patógeno. Também diminui a concentração de células envolvidas na resposta imune mediada por células. A suplementação com ferro e alimentos fortificados tem reduzido a morbidade por doenças infecciosas em crianças;

3. Diminuição da energia e força muscular na capacidade física e desempenho no trabalho de adolescentes e adultos de todas as idades, especialmente mulheres grávidas;

4. Aumento dos riscos perinatais das mulheres e neonatos;

5. Aumento da mortalidade infantil (WHO, 2001).

O menor desempenho cognitivo acomete tanto crianças e adolescentes deficientes de ferro sem anemia quanto às anêmicas. Por isso, é fundamental a identificação dos baixos níveis de ferro, com técnicas sensíveis, para que não sejam excluídas da suplementação com sais de ferro essas crianças que se encontram no primeiro estágio de depleção de ferro (HALTERMAN et al., 2001).

O diagnóstico de anemia ferropriva pode ser feito através de hemograma (contagem eritrócitos - RBC; hematócrito - HT; hemoglobina - Hb; distribuição de tamanho dos eritrócitos - RDW) com análise dos índices hematimétricos, da contagem de reticulócitos, dosagem dos níveis séricos de ferro, capacidade total de ligação do ferro (CTLF), ferritina sérica, saturação da transferrina (ST), protoporfirina eritrocitária. (DUFFY, 2000; CDC, 1998).

Os índices hematimétricos e as fórmulas para cálculo são: hemoglobina globular média (HCM) =  $Hb \times 100 / RBC$ ; concentração de hemoglobina globular média (CHCM) =  $Hb \times 100 / Ht$ ; volume corpuscular médio (VCM) =  $Ht \times 100 / RBC$  (DUFFY, 2000).

A dificuldade de estabelecer valores críticos de Hb como ponto de corte da anemia torna fundamental associar a Hb com outros indicadores bioquímicos, bem como relacionar com os índices hematimétricos.

Estudo com crianças de 2 a 4 anos demonstrou que HCM e ST eram os parâmetros que demonstraram maior sensibilidade e especificidade para anemia ferropriva. Das crianças anêmicas, 97% eram identificadas pelo HCM menor que 25 pg e ST menor que 17,5%. Nenhuma das crianças sem deficiência de ferro apresentou HCM abaixo desses valores e apenas 6% tinham ST inferior ao ponto de corte (PIEDRAS et al., 1981; KOERPER & DALLMAN, 1977).

Szarfarc et al (2004), avaliando os níveis de ferro endógeno, demonstraram ser 11 g/dl de Hb o valor aceitável de normalidade para crianças menores de um ano de vida. Utilizando o ponto de corte de HCM de 24 pg, considerando  $Hb < 11 \text{ g/dl}$ , obtiveram sensibilidade de 91%, especificidade de 42%, valor preditivo positivo de 71%, valor preditivo negativo de 75% e acurácia de 72% para crianças até um ano de vida. Os estoques de ferro são esgotados pelo rápido crescimento na infância. Assim, o ponto de corte para deficiência de ferro aos 12 e 18 meses são ferritina  $< 16 \mu\text{g/l}$  e  $< 12 \mu\text{g/l}$ , respectivamente. (SHERRIFF1999).

O limite de normalidade para o VCM é variável com a idade. Para crianças de 1 ½ a 4 anos o valor limite do VCM é 74 fl e para crianças de 4 a 7 anos é 76 fl (KOERPER et

al.,1976). O HCM tem maior sensibilidade do que CHCM, que só detecta anemia hipocrômica e microcítica em estágio mais avançado (NASCIMENTO, 2004). Porém, nenhum índice deve ser usado individualmente e deve ser associado com determinação de ferro, saturação transferrina, ferritina sérica, receptor solúvel da transferrina ou zinco protoporfirina (WRIGHT et al 2004). Por exemplo, existe boa correlação RDW, VCM, HCM (LYNCH, 2005; HADLER et al., 2002; MELO et al., 2002; PAIVA et al., 2000; MAHU et al., 1990).

A tecnologia dos atuais aparelhos utilizados na automação de hemogramas permite a análise dos dados obtidos do canal de reticulócitos. Assim, a dispersão no histograma das hemácias e reticulócitos permite determinar o conteúdo de hemoglobina dos reticulócitos e percentual de hemácias hipocrômicas. A menor hemoglobinizacão dos reticulócitos na anemia ferropriva é condizente com uma atividade eritropoiética compensatória, limitada, porém, pela menor disponibilidade de ferro para a síntese de hemoglobina. O conteúdo de hemoglobina dos reticulócitos é um forte indicador de deficiência de ferro e uma alternativa promissora para diagnóstico precoce (KOTISAARI et al, 2002; BRUGNARA et al., 1999).

Rodrigues et al. (1997) estudaram a prevalência da anemia ferropriva em crianças de doze a dezoito meses atendidas em ambulatório do RJ. Encontraram prevalência de 50%, sendo que 13,2 % apresentaram anemia grave. Resultado semelhante foi encontrado por Szarfarc et al. (2004), em estudo envolvendo 5.146 crianças no primeiro ano de vida, atendidas para acompanhamento do crescimento e do desenvolvimento em serviços públicos de saúde, em cidades localizadas nas cinco regiões geográficas brasileiras, onde a incidência de anemia foi de 55,6%. Em nosso Estado, há o estudo de Meyer da Silva et al. (2001), com crianças de Porto Alegre de 0 a 36 meses, com uma prevalência de anemia de 47,8%.

## **2.2 Tipos de fármacos contendo ferro**

Os fármacos contendo ferro são classificados como: compostos de ferro solúveis em água (sulfato ferroso e lactato ferroso); pouco solúveis em água, mas solúveis em solução de ácido diluído (fumarato ferroso); pouco solúveis em água e ácido diluído (pirofosfato férrico, ferro elementar em pó) e ferro quelatos (ferro amino ácido quelato, NaFeEDTA) (KLOOTS et al., 2004).

Há três tipos de ferro elementar em pó ( $\text{Fe}^0$ ) utilizados como aditivos de alimentos, suplementos dietéticos ou medicamentos: ferro reduzido por hidrogênio ou monóxido de carbono, ferro eletrolítico e ferro carbonila, que diferem no processo de produção e resultam em pó finíssimo, de cor cinza escuro. Embora todos estejam na forma de ferro elementar ( $\text{Fe}^0$ ), diferem na morfologia e tamanho das partículas (FDA, 1997). As denominações acima não se referem à composição química dos produtos, mas ao processo de manufatura. Cada processo de manufatura produz um pó com distintas variações no tamanho das partículas, densidade, área superficial e forma, que pode afetar a biodisponibilidade do ferro (RBV). A redução do tamanho das partículas aumenta a biodisponibilidade. O Ferro carbonila, em que mais de 90% das partículas são menores que  $5\mu\text{m}$ , tem RBV médio de 56%, enquanto os pós-comerciais, com partículas de tamanho maior, em que mais de 80% são menores de  $20\mu\text{m}$ , tem RBV em torno de 39%. (HURREL et al, 2002).

### **2.3 Tratamento anemia ferropriva**

A OMS propõe que, para o enfrentamento da anemia ferropriva, devam ser usadas três formas de atuação: orientação nutricional, fortificação de alimentos e suplementação com sais de ferro (WHO, 1998; WHO, 2001).

No Brasil, está em vigor a RDC nº. 344, de 13 de dezembro de 2002 (BRASIL, 2002), devendo cada 100g de farinha de trigo e de farinha de milho fornecer no mínimo 4,2 mg de ferro e 150  $\mu\text{g}$  de ácido fólico. A norma prevê a utilização de sulfato ferroso desidratado (seco); fumarato ferroso; ferro reduzido - 325 *mesh Tyler*; ferro eletrolítico - 325 *mesh Tyler*; EDTA de ferro e sódio (NaFeEDTA) e ferro bis-glicina quelato.

Os ferros elementares em pó ( $\text{Fe}^0$ ) foram usados em programas de fortificação de alimentos em vários países, como por exemplo, Estados Unidos, Suíça e Dinamarca, sendo que Suíça e Dinamarca suspenderam o programa de fortificação. Ficou evidenciada a diferença na biodisponibilidade dos três ferros elementares em pó ( $\text{Fe}^0$ ), sendo que o ferro Carbonila e ferro eletrolítico foram melhores absorvidos (LYNCH, 2005; TURNER, 2002).

Apesar da aparente simplicidade da utilização de suplemento medicamentoso, vários fatores limitam a efetividade desta medida, tais como a pobreza do quadro sintomático da carência de ferro, de forma que os pacientes se sentem pouco motivados a tratar de um problema do qual raramente se queixam; o aparecimento de efeitos colaterais, derivados da

administração de sais de ferro, produzindo para o indivíduo sintomas mais notáveis que os relatados para a própria anemia, especialmente quando se administram altas doses de sais de ferro; a longa duração do tratamento e a manutenção da profilaxia (DEVICENSI et al., 1999).

Tratamentos alternativos, com doses semanais de ferro têm tido resultados semelhantes aos tratamentos com doses diárias de ferro, porém com menores efeitos colaterais e, portanto, maior adesão ao tratamento (MONTEIRO et al., 2002; LOPES et al., 1999; SCHULTINK, 1995). O gosto de metal e o aspecto escuro do produto tradicionalmente utilizado na rede de saúde são as maiores dificuldades para a assimilação do medicamento, nas formas farmacêuticas gotas e xarope por crianças pequenas, que ainda não podem utilizar a forma de comprimidos.

A suplementação oral com sais de ferro para crianças é preconizada na dose de 1-2 mg/Kg/dia de ferro elementar para profilaxia; 3mg/kg/dia para anemia discreta e 4-6 mg/kg/dia para crianças apresentando anemia grave (DUFFY,2000; CDC,1998). Doses profiláticas têm tido efetividade na redução da anemia, em população de risco (TORRES, 1994). Pelo critério OMS (WHO, 2001), o ponto de corte para anemia grave é de 7g/dl de hemoglobina. A OMS propõe uma dose oral de 60 mg/dia de ferro para crianças de 2 a 12 anos, com anemia grave, por um período de 03 meses.

Esses padrões terapêuticos não consideram a diferença de absorção dos diferentes compostos de ferro, apenas a concentração do íon ferro. Dessa maneira, a biodisponibilidade do composto de ferro deveria determinar a dose a ser recomendada (NAME & GUERRA, 2001).

A melhor absorção do ferro ocorre durante as primeiras semanas de tratamento. Uma resposta positiva à terapia com suplementação de ferro pode ser definida como um aumento diário na concentração de hemoglobina, da ordem de 0,1 g/dl a partir do 4º dia. A resposta completa em relação à concentração de hemoglobina se dá após dois meses, mas a terapia deve continuar por mais dois ou três meses, para elevar os estoques de ferro para cerca de 250-300 mg, ou a ferritina sérica para 30 µg/l (DEVICENSI et al., 1999; WHO, 1998). Um significativo aumento no RDW é observado após 5-7dias do início da terapia com ferro, que se mantém até a 4ªsemana da terapia (ASLAN et al, 2002). A eritrocitose, definida como contagem de eritrócitos  $>5 \times 10^6/\text{mm}^3$ , foi avaliada em estudo com crianças com anemia ferropriva, como resposta à suplementação com ferro (ASLAN et al, 2003).

O processo de absorção ocorre em três etapas: captura do ferro do lúmen pelo enterócito, através da membrana apical, transporte intracelular e transferência através da membrana basolateral para o plasma. As membranas celulares não são permeáveis para o ferro e o processo de absorção é um processo mediado por carreador, sendo um passo importante na regulação da absorção de ferro (ZAGO et al, 2001). O ferro é transportado para o interior das células epiteliais do duodeno pelo Transportador de Metal Divalente (DMT1, previamente denominado Nramp2 e DCT1). No interior da célula, o ferro entra em uma via comum, podendo formar ferritina ou ser exportado pela superfície basolateral. Para o ferro se ligar ao DMT1, é necessário ser solúvel e estar no estado ferroso. Os ferros elementares em pó são solubilizados no suco gástrico, primariamente pela ação do ácido clorídrico (LYNCH, 2002).

A absorção do ferro é regulada em três pontos principais. O primeiro refere-se à modulação da absorção, provocada pela quantidade de ferro ingerida, chamada bloqueio mucoso. O segundo ponto refere-se ao mecanismo regulador do estoque de ferro. Estados de sobrecarga de ferro levam a uma diminuição da absorção. O terceiro ponto é o regulador hematopoético, que modula a absorção de acordo com as necessidades de eritropoiese e parece envolver algum sinalizador solúvel transportado da medula óssea para o intestino, pelo plasma. (ZAGO et al., 2001).

A regulação da absorção dos diferentes fármacos contendo ferro é similar, sendo inversamente proporcional aos níveis de ferritina (BOVELL-BENJAMIN et al., 2000). Para ferro não-Heme, o transporte do ferro para o interior das células da mucosa é o sitio primário da regulação da absorção. Gunshin et al. (1997) demonstraram que camundongos submetidos à dieta pobre em ferro tinham elevada expressão de DMT1 na superfície apical do epitélio intestinal, responsável pelo transporte do ferro para o interior do enterócito.

Muitos estudos têm demonstrado a regulação gênica das proteínas ferritina e transferrina, receptor de transferrina, proteínas envolvidas no transporte cátions divalentes (intestino) e enzimas da via biossintética do Heme (ex. ALA D) por estruturas em alça, presentes na porção não traduzida da molécula RNA, chamadas elementos responsivos ao ferro - IREs (Iron Responsive Elements). Os IREs são reconhecidos por determinadas proteínas, conhecidas como Proteínas Responsivas ao Ferro – IRPs. Quando a concentração de ferro está aumentada, as IRPs se ligam ao ferro e não aos IREs. A diminuição da quantidade de ferro torna as IRPs disponíveis para se ligarem aos IREs. Dependendo da posição dos IREs na fita de RNA, posição 3' ou 5', pode ocorrer a estabilização da molécula

de RNA, favorecendo a tradução (ex. receptor transferrina e transportador de metal divalente-DMT1) ou inibição da tradução (ex. ferritina) respectivamente (ZAGO et al., 2001; THEIL & EISENSTEIN, 2000; CANONNE-HERGAUX et al., 1999; PONKA, 1997).

#### 2.4 Produto de estudo: ferro carbonila em pó

Ferronyl é o ferro carbonila em pó (Carbonyl Iron Powder) produzido por “International Speciality Products (ISP)”, Estados Unidos da América, reconhecido como seguro pelo “Food and Drugs Administration- FDA (GRAS)” (Fig.1).

O ferro carbonila em pó é obtido pela decomposição, em altas temperaturas, do pentacarbonil ferro, resultando em ferro elementar ( $\text{Fe}^0$ ), extremamente puro, em forma de micro-esferas de 4-7/ $\mu\text{m}$ .

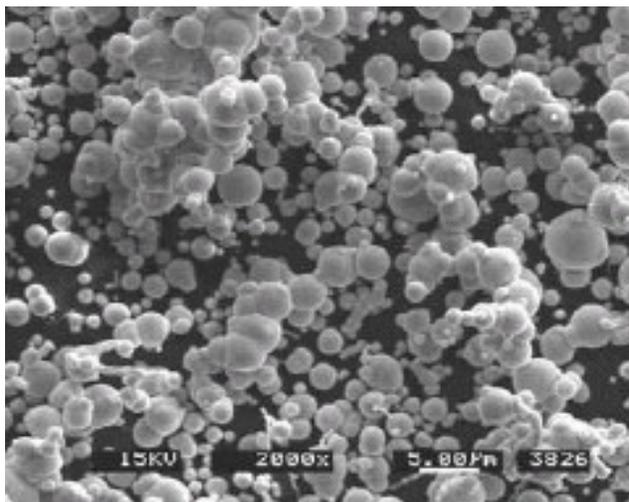
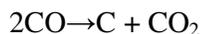
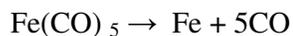


Figura 1 – Ferro Carbonila (Ferronyl®).

O ferro carbonila em pó é manufacturado diretamente de fragmentos de ferro, que reagem com monóxido de carbono, sob calor e pressão, para produzir ferro pentacarbonil. Este é então decomposto, sob condições controladas, resultando em ferro elementar em pó e

gás monóxido de carbono. Um segundo tratamento de redução com hidrogênio é necessário para remover impurezas de carbono, para produzir um pó contendo mais que 98% de ferro. As partículas de ferro carbonila são esferas densas, extremamente pequenas (2-10 $\mu$ m). (HURREL et al, 2002).

O ferro carbonila, comparado com os demais sais ferrosos, possui maior teor de ferro elementar. O sulfato ferroso (FeSO<sub>4</sub>, peso molecular 152g) contém 36% de ferro elementar; o fumarato ferroso (C<sub>4</sub>H<sub>2</sub>FeO<sub>4</sub>, peso molecular 170g) contém 32% de ferro elementar; o gluconato ferroso (C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>19</sub>Fe, peso molecular 446g) possui 12% e o ferro carbonila (Fe<sup>0</sup>, peso molecular 56g) contém 98% de ferro elementar. Como resultado, menores quantidades de ferro carbonila são necessários para obter as mesmas quantidades de ferro elementar que os demais sais ferrosos, resultando em comprimidos menores, de menor peso.

#### 2.4.1 Biodisponibilidade do ferro carbonila

A biodisponibilidade do ferro é o resultado de várias etapas, que podem ser divididas em três partes: primeiro, a solubilidade do ferro no trato gastrointestinal; segundo, a absorção do ferro e liberação na circulação e; terceiro, o metabolismo do ferro e sua incorporação em um tecido funcional. A biodisponibilidade é avaliada durante uma ou mais dessas etapas. Os métodos podem ser divididos em estudos de solubilidade, estudos de absorção, medidas de produto final (síntese de Hb) e modelos aritméticos (WIENK, 1999).

O Ferro carbonila, por ser pouco solúvel em água e ácido diluído, não pode entrar completa e rapidamente no pool comum de ferro não-Heme existente no interior das células da mucosa intestinal. O ferro carbonila (Fe<sup>0</sup>) passa a forma de íon na presença de ácidos do suco gástrico (Fe<sup>2+</sup>) e, desta forma, é absorvido na mucosa intestinal, através do DMT1. Estudos da década de 80 já demonstravam que a solubilização pelo suco gástrico é pré-requisito para absorção do ferro carbonila. A baixa solubilidade resulta em uma mais prolongada absorção, responsável pela baixa toxicidade do ferro carbonila (HUEBERS et al, 1986). Forbes et al (1989) e Swain et al (2003) verificaram que o percentual de ferro elementar em pó, solúvel em HCl diluído, pH1,1, era similar aos valores de biodisponibilidade relativa ao sulfato ferroso (RBV), demonstrando boa correlação dos testes *in vitro* e *in vivo*, utilizando modelo animal. Com relação aos ferros na forma elementar em pó (Fe<sup>0</sup>), também influencia na biodisponibilidade o tamanho das partículas, área superficial e

sua homogeneidade, pois estão diretamente relacionadas à solubilidade. O ferro carbonila possui partículas extremamente pequenas, esféricas e homogêneas, que resultam em melhor biodisponibilidade, com relação a outros ferros na forma elementar em pó, possuindo um valor biológico relativo (RBV em comparação com  $\text{FeSO}_4$ ) de 58 a 64%. (SWAIN et al., 2003; DEVASTHALI et al., 1991; SAKS & HOUCHIN, 1978).

Zinn et al. (1999) utilizou o modelo *in vivo* (porcos) de detecção de  $^{59}\text{Fe}$  para avaliar a biodisponibilidade relativa ao sulfato ferroso. O ferro carbonila teve RBV de 58%, sem efeitos em outros minerais (Zinco, cálcio, cobre).

A biodisponibilidade do ferro ingerido também depende da presença ou ausência de fatores da dieta que influenciam na sua absorção; entretanto, as necessidades de ferro do indivíduo determinarão o quanto será absorvido e distribuído pelo organismo. Assim, alimentos como chás, leite e alguns vegetais diminuem a absorção do ferro, enquanto sucos ricos em vitamina C e a carne favorecem a absorção. Isto porque parte do ferro forma sais insolúveis com os fitatos, tanatos e fosfatos presentes nos alimentos, sendo então excretados pelas fezes (LYNCH & STOLTZFUS, 2003; COOK, 1990).

O modelo cultura de células Caco-2 foi avaliado por Au & Reddy (2000) para estudo da biodisponibilidade de ferro não-Heme na presença de inibidores da absorção de ferro (fitatos, fenóis), facilitador (ácido ascórbico) e proteínas (albumina, caseína, carne, soja), demonstrando ser o modelo *in vitro* uma ferramenta importante para determinação da biodisponibilidade de ferro não-Heme, com boa correlação com estudos *in vivo* ( $r = 0.97$ ;  $P = 0.0001$ ). Como a biodisponibilidade do ferro não depende apenas da solubilidade no lúmen intestinal, a cultura de células Caco-2 tem caracterizado a expressão de proteínas envolvidas na absorção intestinal, sendo o modelo *in vitro* o que melhor se assemelha a absorção intestinal de ferro *in vivo*. Kloots et al (2004) realizaram diálise de diferentes fármacos contendo ferro. O ferro carbonil apresentou resultados similares ao sulfato ferroso, em farinha de trigo. Neste mesmo estudo, foi utilizada a cultura de células Caco-2 para avaliar a absorção dos diferentes compostos de ferro. A absorção relativa por células Caco-2 foi similar ao ferro carbonila e sulfato ferroso.

Hoppe (2006), utilizando como modelo de medida da absorção do ferro o aumento do ferro sérico através da análise da  $\text{AUC}_{0-6h}$ , validado em estudo anterior (HOPPE, 2004), avaliou a biodisponibilidade relativa de sete ferros elementares em pó em voluntários saudáveis. A biodisponibilidade relativa ao sulfato ferroso do ferro carbonila foi de 0,58. Este

estudo confirmou o efeito benéfico do ácido ascórbico, quando a adição de 50mg elevou o RBV do ferro eletrolítico de 0,65 para 0,99.

A determinação da biodisponibilidade relativa ao sulfato ferroso, de seis diferentes ferros elementares em pó, utilizando como medida as trocas na reposição de hemoglobina em ratos (modelo validado por *Association of official Analytical Chemists*, 1984), demonstrou a melhor RBV do ferro carbonila. A ordem dos resultados foi a seguinte: ferro carbonila (Ferronyl, EUA): 64% >; ferro eletrolítico (A-131, EUA): 54% >; ferro H-reduzido (AC-325, EUA): 42% >; ferro reduzido (ATOMED 95SP, Canadá): 24% >; ferro CO-reduzido (RSI 325- Suécia): 21% ( SWAIN et al, 2003).

#### 2.4.2 Toxicidade

Frente à dose elevada de medicamentos ou suplementos dietéticos contendo ferro solúvel ou em casos de intoxicação acidental, ocorre uma superação do bloqueio mucoso, tornando a relação dose/absorção uma função linear e proporcional (ZAGO et al., 2001).

De acordo com a “American Association of Poison Control Centers”, dos Estados Unidos da América, exposições acidentais a doses excessivas de ferro em crianças menores de 6 anos ainda ocorrem, mesmo com as instruções do “Food and Drugs Administration-FDA” para comprimidos contendo mais que 30 mg Fe/unidade (embalagens em doses individuais ou tampas resistentes ao manuseio de crianças, com advertências nas bulas sobre os riscos de intoxicação e morte). Exceção a essa regra é permitida ao ferro carbonila, por apresentar significativo menor risco de intoxicação e morte (FDA, 1997). Em 1997, o FDA realizou análise de diversos estudos de  $DL_{50}$  com diferentes modelos animais. Estes estudos estabeleceram a relação de toxicidade do ferro carbonila com outros sais ferrosos. Em ratos, a  $DL_{50}$  (mg Fe/Kg peso) do ferro carbonila era de 30.000mg contra 298mg a 1000mg de sulfato ferroso e 580mg a 2300mg de fumarato ferroso. Os sais ferrosos apresentaram uma toxicidade de 30 a 90 vezes superior ao ferro carbonila. Quando o animal usado no estudo era o cão, a  $DL_{50}$  do ferro carbonila era superior a 25.000mg contra 160mg de sulfato ferroso, uma diferença de toxicidade de 156 vezes (FDA, 1997).

Whittaker et al. (2002) avaliaram a toxicidade aguda do ferro carbonila ( $Fe^0$ ), comparada ao  $FeSO_4$ . A  $DL_{50}$  do  $FeSO_4$  era de 1,1g Fe/Kg, sendo 45 vezes mais tóxico que o ferro carbonila que tinha uma  $DL_{50}$  > que 50g/Kg. Assim, o ferro carbonila demonstrou menor

toxicidade e pôde reduzir a possibilidade de morte, especialmente a severidade da intoxicação em crianças menores de 6 anos. Saks & Houchin (1978) haviam demonstrado que ratos que receberam doses elevadas de ferro carbonila não apresentaram, na necropsia, lesões intestinais.

No período de 1980 a 1994, ocorreram 35 mortes por intoxicação acidental ou intencional por suplementos ou medicamentos contendo ferro nos Estados Unidos, nenhuma com ferro carbonila (FDA, 1997). Na necropsia de crianças intoxicadas com sulfato ferroso foram observados grandes depósitos de ferro nas mucosas do estômago e intestino delgado, associadas com necrose. Também foram observados depósitos de ferro nos vasos do sistema porta e fígado e podem estar relacionados com as subseqüentes hemorragias (PESTANER et al., 1999).

## **2.5 Ensaios clínicos anteriores**

A segurança e efetividade do ferro carbonila foram avaliados em estudo envolvendo voluntários. Um grupo de voluntários não anêmicos recebeu de 1000 a 10.000mg, em dose única de ferro carbonila e outro, de voluntários anêmicos, recebeu 1000 a 3000mg/dia por 8 a 28 dias. Altas doses de ferro carbonila foram bem toleradas pelos voluntários, sem evidência de toxicidade hematológica, hepática ou renal. (GORDEUK, 1986)

Em ensaio clínico, foi possível comparar os resultados do ferro carbonila e sulfato ferroso. Mulheres recebendo altas doses de ferro carbonila, 1800mg/dia, tiveram apenas efeitos colaterais leves (diarréia, dor abdominal, náusea, dor de cabeça), semelhantes aos observados no grupo controle recebendo sulfato ferroso em dose 10 vezes menor, 180mg/dia. Após 12 e 16 semanas, ambos os grupos tiveram aumento significativo em relação a Hb, VCM, ferro sérico, ferritina, ST e foi observada significante diminuição no TIBC. Comparando o grupo tratado com ferro carbonila e o grupo tratado com sulfato ferroso, não houve diferença significativa em nenhum dos índices testados (GORDEUK, 1987).

Resultados semelhantes foram observados por Devasthali et al. (1991), que realizaram estudos comparativos de ferro carbonil e sulfato ferroso, nas mesmas doses, em mulheres doadoras de sangue, com deficiência de ferro. Ambas as formas de ferro apresentaram resultados semelhantes ( $p>0,05$ ) para Hb, VCM, reticulócitos, ferro sérico, TIBC, ST e protoporfirina eritrocitária, após 16 semanas de terapia.

Em estudo randomizado, com ferro carbonil em baixas doses (100mg/dia) e placebo em doadoras de sangue, demonstrou-se a efetividade do elementar ferro carbonil em prevenir a anemia, sendo suficiente para repor o ferro perdido com a flebotomia em 85% das voluntárias. (GORDEUK et al., 1990).

Estudos clínicos com outras fontes de ferro tiveram resultados variados com relação à eficácia, considerada como incremento de Hb após terapêutica. Pineda et al. (1994) demonstraram, em pesquisa com adolescentes, que o ferro bis-glicina quelato apresenta boa biodisponibilidade. Uma dosagem de apenas 30 mg Fe/dia resultou em um incremento significativo nos níveis de Hb (112g/l -136 g/l) em apenas 4 semanas, comparável com os índices obtidos com 120 mg de FeSO<sub>4</sub>. Um estudo posterior, com crianças de 6 a 36 meses recebendo 5mg ferro/kg/dia por 28 dias, na forma de sulfato ferroso e ferro bis-glicina quelato, confirmou a melhor biodisponibilidade do ferro quelato, com aumento significativo dos níveis de ferritina sérica (PINEDA & ASHMEAD, 2001). Estudos com fumarato ferroso, em comparação com sulfato ferroso em dose única ou fracionada, tiveram resultados semelhantes entre os grupos de estudo, com relação ao incremento de Hb (ZLOTKIN,2001).

### 3 ARTIGO

#### **Chewable tablets of carbonyl iron in the treatment of iron deficiency anemia in children under six years of age.**

##### **Carbonyl iron in the treatment of iron deficiency anemia**

Farias, Iria L.G.<sup>I</sup>; Colpo, Elisangela<sup>II</sup>; Silva, José E.P.<sup>III</sup>; Cramer, Adriane F.<sup>IV</sup>; Schimitz, Carlos A.<sup>V</sup>; Botton, Salimara R.<sup>VI</sup>; Carmo, Adriana C.Z.<sup>VII</sup>; Machado, Eliane S.<sup>VIII</sup>; Silveira, Rosirene B.<sup>IX</sup>

<sup>I</sup> Master Student of Pharmaceutical Sciences, Biochemist of the Hemotological/Oncological Service of the Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), UFSM, Santa Maria-RS, Brazil.

<sup>II</sup> Master Student Biochemical Toxicology, UFSM, Santa Maria-RS, BR.

<sup>III</sup> Doctor, Professor Dept. Clinical Analyses, UFSM, Santa Maria-RS, BR.

<sup>IV</sup> Specialist, Family and Community Physician, Family Health Unit Vila Santos, Santa Maria- RS, BR.

<sup>V</sup> Specialist, Family and Community Physician, Family Health Unit Alto Boa Vista, Santa Maria- RS, BR.

<sup>VI,VII,VIII,IX</sup> Biochemical Pharmacist Clinical Analysis Laboratory, HUSM, Santa Maria-RS, BR

Institution: **Universidade Federal de Santa Maria - UFSM**

Corresponding Author:

Iria Luiza Gomes Farias

Av. Rodolfo Behr, 1795, Camobi

97.105-440 Santa Maria-RS

[irialuiza@smail.ufsm.br](mailto:irialuiza@smail.ufsm.br)

Phone:(55)3220-8542 Fax (55)3220-8591

Financial Support:

CNPq

Fundação Herbarium de Pesquisa e Saúde

## **Abstract**

**Objective:** To verify the effectiveness and occurrence of collateral effects with the use of carbonyl iron powder (CA), in the form of chewable tablets, in order to enable the use of an alternative to the conventional treatment of iron deficiency anemia with ferrous sulfate (SF).

**Methods:** An open randomized clinical assay was carried out. The group studied received CA and the control group received a solution of SF, both at a dose of 5mg/Kg/day, for 90 days. Seventy-three children from Family Health Units of Santa Maria, Brazil, participated in the study. Blood was collected at 0, 30 and 90 days of treatment.

**Results e discussion:** The increase in Hb after 30 days of treatment was of 1.3g/dl (SD 0.92) for group CA and of 1.2g/dl (SD 1.13) for group SF ( $p>0.05$ ). After 90 days of treatment, CA had favorable results for Ht, MCV, MCH, TIBC and ferritin ( $p<0.05$ ). CA presented better acceptance and fewer collateral effects.

**Conclusion:** Considering the increase of Hb, CA presents results similar to those for SF. In relation to ferritin, CA proved to be superior ( $p<0.05$ ) and should be considered as an important therapeutic option in the treatment of iron deficiency anemia.

## Introduction

The intervention proposed for the treatment of iron deficiency anemia in children almost always consists of ferrous sulfate drops that do not have the desired effectiveness. Several studies have proven the low adherence to the treatment due to collateral effects of the medication (gastrointestinal intolerance, alterations in color and consistency of stools, impregnation of iron in diapers and teeth), to the prolonged daily administration in the form of drops, to the metallic taste, as well as to socio-cultural aspects (Shultink *et al.* 1995). In choosing the preparation, the content of the iron ion, tolerance, absorption, effectiveness and cost must all be considered.

It is thus necessary to search for alternatives to the standard treatment for children under the age of 6, in order to improve the adherence to treatment and, consequently, obtain a better and faster response.

Carbonyl iron powder is obtained by decomposition of Fe pentacarbonyl at high temperatures, resulting in extremely pure elemental Fe ( $\text{Fe}^0$ ), in the form of non-toxic microspheres of 4-7/ $\mu\text{m}$  (FDA 1997), with bioavailability in relation to 58-70% ferrous sulfate (RBV) (Devasthali *et al.* 1991; Sacks & Houchin 1978). The choice of carbonyl iron powder as raw material was based on these characteristics, as well as on the fact that it does not confer a metallic taste to the preparation and it has fewer gastrointestinal side effects (Gordeuk *et al.* 1986).

## Methods

The objective of the study was to evaluate the effectiveness of carbonyl iron powder (CA), in the form of chewable tablets, in order to allow for an alternative to the conventional treatment for iron deficiency anemia with ferrous sulfate (SF) in drops or syrup for children between 06 months and 06 years of age. The acceptance of the medicine, the occurrence of adverse gastrointestinal side effects and adherence to the treatment were also analyzed.

The study consisted of an open, randomized and controlled clinical assay, utilizing ferrous sulfate as the iron standard. The group studied received CA and the control group received a solution of SF, both at a dose of 5mg/Kg/day, during a period of 90 days.

The medication was given to the children one hour before the lunch, in both the groups. All the mothers or legal guardian of the child had received slight knowledge from nutrition: rich foods in iron.

The chewable tablets of carbonyl iron were produced by Herbarium Laboratório Botânico Ltda., in accordance with the Good Manufacturing Practices of the National Agency of Sanitary Surveillance, ANVISA, Brazil, specifically for this study. Each tablet contained 25mg of elemental iron. The ferrous sulfate used was obtained from the Ministry of Health of Brazil at units of the Programa Saúde da Família (PSF) (Program of Family Health).

Blood was collected at days 0, 30 and 90 from the commencement of the treatment. The hemograms were carried out automatically on a Coulter STKS apparatus (Coulter Electronics, USA). Serum ferritin was measured automatically by immunometric assay in an IMMULITE apparatus (Diagnostics Products Corporation, DPC, USA). The serum iron and Total Iron Binding Capacity (TIBC) were measured by a colorimetric assay in a HITACHI 917 apparatus (Hitachi Co, Japan).

73 children diagnosed with iron deficiency anemia participated in the study. None had received iron orally in last the 30 days before the study. The following cut-off values were used to determine anemia: Hemoglobin (Hb)  $\leq 11$ g/dl; Mean Corpuscular Volume (MCV)  $\leq 75$ fl; Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH)  $\leq 25$ pg; Red Cell Distribution Width (RDW)  $\geq 14$ %; Transferrin Saturation (TS)  $\leq 17$ %. At least 4 of these variables would have to be positive for anemia.

The acceptance and adherence to the treatment and the occurrence of side effects were verified by an interview with a family member or legal guardian of the child at 30 days after the commencement of the treatment.

The data analyzed with EpiInfo program, version 3.3.2, of the CDC/USA. The statistical analysis was carried out by ANOVA and Mann-Whitney/Wilcoxon Two-Sample Test (Kruskal-Wallis test for two groups) when variances were not homogenous and ANOVA was not appropriate.

This project was approved by the Ethics Committee of UFSM, under the protocol number CAAE 0052.0.246.000-05. All had received and signed the term of free and clarified assent.

## Results

The average age of the children was 22 months (1 year and 10 months), with a minimum age of 6 months and a maximum age of 72 months (6 years), where 50% were  $\leq 18$  months. Exams of 142 children were collected in order to select the group, and of these, 86 (60.56%) had anemia using the criteria defined in the study. 3 children that presented  $\alpha$  thalassemia were excluded from the study, 1 that presented non-iron deficiency anemia was excluded, and 3 that presented accentuated eosinophilia were excluded. Of the 73 children that began the study, 62 returned at day 30 and 56 completed the 90 days of supplementation.

The study group (CA), 38 children, and control group (SF), 35 children, were selected randomly and the initial Hb of CA was 9.37 g/dl and of SF was 8.99 g/dl, not demonstrating a significant difference between the groups (ANOVA  $p=0.28$ ). The serum iron, TIBC, transferring saturation, and ferritin values also did not vary significantly between the groups ( $p>0.05$ ). The baseline values found for the groups can be seen in **Table 1**. After 30 days of treatment, hemoglobin for group CA increased by 1.3g/dl (SD 0.92) with a minimum value of 0.4 and a maximum value of 4.1g/dl. For group SF, there was an increase of 1.2g/dl (SD1.13, min.-0.9, max.4.9) (Kruskal-Wallis  $p=0.317$ ). In group CA, no children presented a decrease in Hb, however in group SF there were three children who presented a decrease in Hb. Considering a favorable response as an increase in Hb of  $> 1$ g/dl after 30 days of treatment, there was a 58.6% favorable response in group CA, whereas in group SF there was a 48.4% favorable response.

At 30 days, the percentage of children with a high erythrocyte count ( $RBC > 5 \times 10^6/\mu L$ ) for group CA went from 24% to 44%. For group SF, the percentage went from 25% to 33%. Group CA presented a significant difference in MCH in relation to RBC ( $p < 0.001$ ). 14 of the 32 children who presented a high erythrocyte count ( $> 5.10^6/\mu L$ ) presented lower MCH (19.56 fl,  $\pm 2.7$ ), whereas the 18 children did not present a high erythrocyte count ( $RBC < 5 \times 10^6/\mu L$ ) presented with higher MCH (23.31 fl,  $\pm 2.6$ ). Group SF did not present differences of MCH in relation to RBC ( $p = 0.209$ ).

The evaluation of acceptance of the pharmaceutical form presented extremely favorable results for group CA, where 31 individuals stated that there was very good acceptance for the items: flavor, aroma, hardness, size and pharmaceutical form. Only one child refused the medication (3.12 %) and this occurred after 20 days of treatment. 67.3% of the children from group SF refused to take the medication at some time.

None of the children from group CA presented side effects, except for darkening of the stools. In group SF, 20% of the children presented diarrhea, 36% experienced vomiting and/or spat out the medication, 6% experienced vomiting and diarrhea and 38% did not present any side effects.

For most of the children, supplementation with oral ferrous sulfate in the form of drops had been prescribed previous to this study by staff of the Family Health Units. Only children who had not been taking ferrous sulfate for at least 30 days participated in the study. Therefore, it was possible to make a comparison of the two medications. In the qualitative evaluation made by the mothers or guardians, the following positive aspects were confirmed for group CA: ease of administration; acceptance by the children in relation to the flavor; a lack of side effects; effectiveness of the treatment.

In the evaluation after 90 days, there was not a significant difference between the groups for the variables Hb, RBC and RDW (Kruskal-Wallis  $p>0.05$ ). Hb increased from 9.37g/dl to 11.36g/dl (SD 0.79) for group CA and from 8.99g/dl to 10.68g/dl (SD 1.42) for group SF. There were significant differences for Ht (Kruskal-Wallis  $p=0.05$ ), MCH (ANOVA  $p=0.03$ ) and MCV (ANOVA,  $p=0.01$ ). Of the remaining biochemical markers related to the levels of iron, there was a significant difference between the groups for ferritin (Kruskal-Wallis,  $p=0.005$ ) and TIBC (ANOVA,  $p=0.001$ ). In group CA, all the variables, except RBC presented significant differences with the group ( $p<0.01$ ), when compared with the initial values and those at 90 days of treatment. In group SF, RBC, ferritin and RDW all did not present significant differences. Ferritin showed an important increase in group CA, from 9.85ng/ml (SD 11.94) to 26.16ng/ml (SD 14.98) at the end of the treatment. For group SF, the increase in ferritin was small, going from 10.75ng/ml (SD 13.06) to 13.41ng/ml (SD 9.20). These data can be seen in **Figures 1 and 2**.

After the treatment, 3.7% of the children from group CA (1/27) continued to present Hb<10g/dl, whereas for group SF this percentage was 31% (9/29). When considering Hb<11g/dl, 33% of the children in group CA (9/27) and 59 % from group SF (17/29) presented this value.

## **Discussion**

Using the increase in Hb after 30 days of treatment as a measure of effectiveness, there was not a significant difference between the groups. Similar data has been found for other clinical assays with adults using carbonyl iron and ferrous sulfate as a control group

(Devasthali *et al.* 1991). When comparing the increase in Hb of the study group (carbonyl iron, group CA) with other studies that utilized other sources of iron or other therapeutic strategies, there were no important variations observed in the results. The only exception is the study carried out by Pineda *et al.* (2001), with ferrous bis-glycinate chelate, in which a high increase of Hb was obtained. Another study with prophylactic doses of ferrous sulfate demonstrated a smaller increase of Hb, which reveals the need for greater doses in the treatment of iron deficiency anemia. However, it should be considered that the initial Hb of this study was close to the cut-off point for anemia, defined as 11g/dl. (Torres *et al.*1994). This similarity between our results and those of the other studies demonstrates the therapeutic potential of carbonyl iron in the treatment of iron deficiency anemia. **Table 2** summarizes these results.

In the evaluation of side effects, the data found for group SF in relation to diarrhea are similar to other studies (Zlotkin *et al.*2001) reported that 18% of the children experienced diarrhea when using SF 5mg/Kg/day. In this study there was no variation between daily single doses and the same dose fractioned into 3 daily doses. In a study using a prophylactic amount of 12mg/day of iron, it was found that 12.4% of the children experienced diarrhea, which differs from our data possibly because of the difference in the dose (Torres *et al.* 1994).

In relation to the vomiting in group SF, the mothers reported that it occurred immediately after swallowing. The vomiting could be related to the flavor of the medication, which is difficult to mask at elevated doses. Therefore, vomiting was grouped together with the refusal to swallow the medication, which was the most common side effect reported by the mothers. According to Zlotkin *et al.* (2001), 74% of the children taking SF cried and/or refused to take the medicine. These data reflect an important aspect that is very favorable for group CA, which is the children's acceptance of the tablet.

These data may corroborate with the results observed after 90 days of treatment, where there are significant variations between the groups. Although there was not a difference between mean Hb of the two groups, there was a significant difference between levels of ferritin and TIBC. These data corroborate with a study carried out in 2003, which demonstrated the necessity to determine the quantity of corporal iron (Cook *et al.* 2003). In the study, the ratio of the serum transferrin receptor to serum ferritin was used to better evaluate the impact of supplementation with iron, because the determination of Hb was inappropriate to determine the status of iron. A patient reevaluation after an intervention with ferrous sulfate demonstrated no significant difference in Hb between groups, whereas when

the estimation of corporal iron was carried out, this difference was easily identified (Cook *et al.* 2003).

The determination of the hemoglobin content of the reticulocyte reflects the balance between iron and erythropoiesis and indicates that lower Hb in the reticulocyte in the state of iron deficiency anemia goes hand in hand with compensatory erythropoiesis, although it is limited by the lower availability of iron to synthesize hemoglobin (Brugnara *et al.* 1999). Studies have indicated that microcytosis and hypochromia are more severe in patients with high RBC values, regardless of the iron status. In the case of a high RBC, the iron available per cell in patients with a high erythrocyte count is less than in patients with a low RBC. Consequently, a high erythrocyte count may be accompanied by greater microcytosis and hypochromia (Aslan & Altay 2003). This can be observed in our study, where the response to iron supplementation was a significant increase in the number of children in group CA with a higher erythrocyte count than those children from group SF, and consequently, there was a small increase in the MCH level at 30 days. After 90 days of treatment, the variables for group CA were very near to the cut-off point for anemia, being that Hb, Ht, serum iron, TS, TIBC and ferritin exceeded these limits. In group SF, the distance from the cut-off point was greater. The mean value of ferritin for group CA (26.16ng/ml) was two-fold that for group SF (13.41ng/ml) and this difference may be reflected in the better results of the hematological values of group CA.

## **Conclusion**

In the evaluation of the effectiveness of the treatment after 30 days, carbonyl iron presented results similar to those for ferrous sulfate, at a dose of 5mg/Kg/day for children under the age of 6. After 90 days of treatment, group CA had a significantly improved response for the variables, Ht, MCH, MCV, ferritin and TIBC. The number of children from the control group who continued to present a level of Hb lower than 11g/dl was two-fold that of the group that received carbonyl iron. Based on the results demonstrating the same effectiveness at 30 days as for the standard ferrous sulfate and the superior results at 90 days of treatment, together with the safety (low toxicity) and excellent acceptance, carbonyl iron should be considered an important option for the therapeutic treatment of iron deficiency anemia in children under the age of six.

## Bibliographic References

- Aslan D, Altay C. (2003) Incidence of high erythrocyte count in infants and young children with iron deficiency anemia: re-evaluation of an old parameter. *J. Pediatrics Hematology Oncology* **25**(4), 303-6.
- Brugnara C, Zurakowski D, Di Canzio J, Boyd T, Platt O. (1999) Reticulocyte hemoglobin content to diagnose iron deficiency in children. *JAMA* **281**(23), 2225-30
- Cook JD, Flowers CH., Skikne BS. (2003) The quantitative assessment of body iron *Blood* **101**(9), 3359-3364.
- Devasthali SD, Gordeuk VR, Brittenham GM, Bravo JR, Hughes MA, Keating IJ.(1991) Bioavailability of carbonyl iron: a randomized, double-blind study. *European Journal of Haematology* **46**(5), 272-8.
- Food and Drug Administration – Department of Health and Human Service (1997) *Federal Register 21CFR* parts 101,111 and 310. Iron – Containing Supplements and Drugs: Label Warning Statements and Unit-Dose Packing Requirements; Final Rule. Wednesday January 15, 1997.
- Gordeuk VR, Brittenham GM, McLaren CE, Hughes MA, Keating LJ.(1986) Carbonyl iron therapy for iron deficiency anemia. *Blood* **67**(3), 745-52.
- Hoppe M, Hulthén L, Hillberg L.(2006) The bioavailability in humans of elemental iron powders for use in food fortification. *Eur J Nutr* **45**(1), 37-44
- Pineda O, Ashmead HD.(2001) Effectiveness of treatment of iron-deficiency anemia in infants and young children with ferrous bis-glycinate chelate. *Nutrition*. **17**(5),381-4.
- Sacks PV, Houchin D.(1978) Comparative bioavailability of elemental iron powders for repair of iron deficiency anemia in rats. Studies of efficacy and toxicity of carbonyl iron. *The American Journal of Clinical Nutrition*. **31**, 566-73.
- Schultink W, Gross R, Gliwitzki M, Karyadi D, Matulesi P.(1995)Effect of daily vs twice weekly iron supplementation in Indonesian preschool children with low iron status *Am. J. Clinical Nutrition* **61**, 111-5.
- Torres MA, Sato K, Juliano Y, Queiroz SS.(1994) Terapêutica com doses profiláticas de sulfato ferroso como medida de intervenção no combate à carência de ferro em crianças atendidas em unidades básicas de saúde. *Rev.Saúde Pública*. **25**(6)
- Zlotkin S, Arthur P, Antwi KY, Yeung G.(2001) Randomized, Controlled Trial of Single Versus 3-Times-Daily Ferrous Sulfate Drops for Treatment of Anemia. *Pediatrics*. **108**(3), 613.
- Zlotkin S, Antwi KY, Yeung G. (2001) Treatment of anemia with microencapsulated ferrous fumarate plus ascorbic acid supplied as sprinkles to complementary (weaning) foods 1–3. *Am J Clin Nutr* **74**(6), 791-5.

## TABLES

**Table 1:** Base values of the erythrogram, serum Iron, TS and ferritin for groups CA and SF of children under the age of 6

Group	RBC ( $\pm$ SD) $\times 10^6/\text{mm}^3$	Hb g/dl ( $\pm$ SD)	Ht% ( $\pm$ SD)	MCV fl ( $\pm$ SD)	MCH pg ( $\pm$ SD)	RDW % ( $\pm$ SD)	Iron $\mu\text{g}/\text{dl}$ ( $\pm$ SD)	TS % ( $\pm$ SD)	Fer ng/dl ( $\pm$ SD)
<b>CA</b>	4.62 ( $\pm 0.57$ )	9.37 ( $\pm 1.41$ )	29.78 ( $\pm 3.5$ )	65.05 ( $\pm 9.50$ )	20.59 ( $\pm 3.96$ )	18.15 ( $\pm 3.72$ )	27.60 ( $\pm 13.99$ )	7.99 ( $\pm 4.6$ )	9.51 ( $\pm 12.01$ )
<b>SF</b>	4.64 ( $\pm 0.60$ )	8.99 ( $\pm 1.54$ )	29.01 ( $\pm 4.0$ )	63.10 ( $\pm 9.77$ )	19.92 ( $\pm 4.02$ )	19.48 ( $\pm 5.25$ )	24.00 ( $\pm 12.66$ )	6.01 ( $\pm 3.0$ )	10.75 ( $\pm 13.06$ )
<b>ANOVA</b>	p 0.89	p 0.28	p 0.40	p 0.40	p 0.48	p 0.23	p 0.33	p 0.07	p 0.73

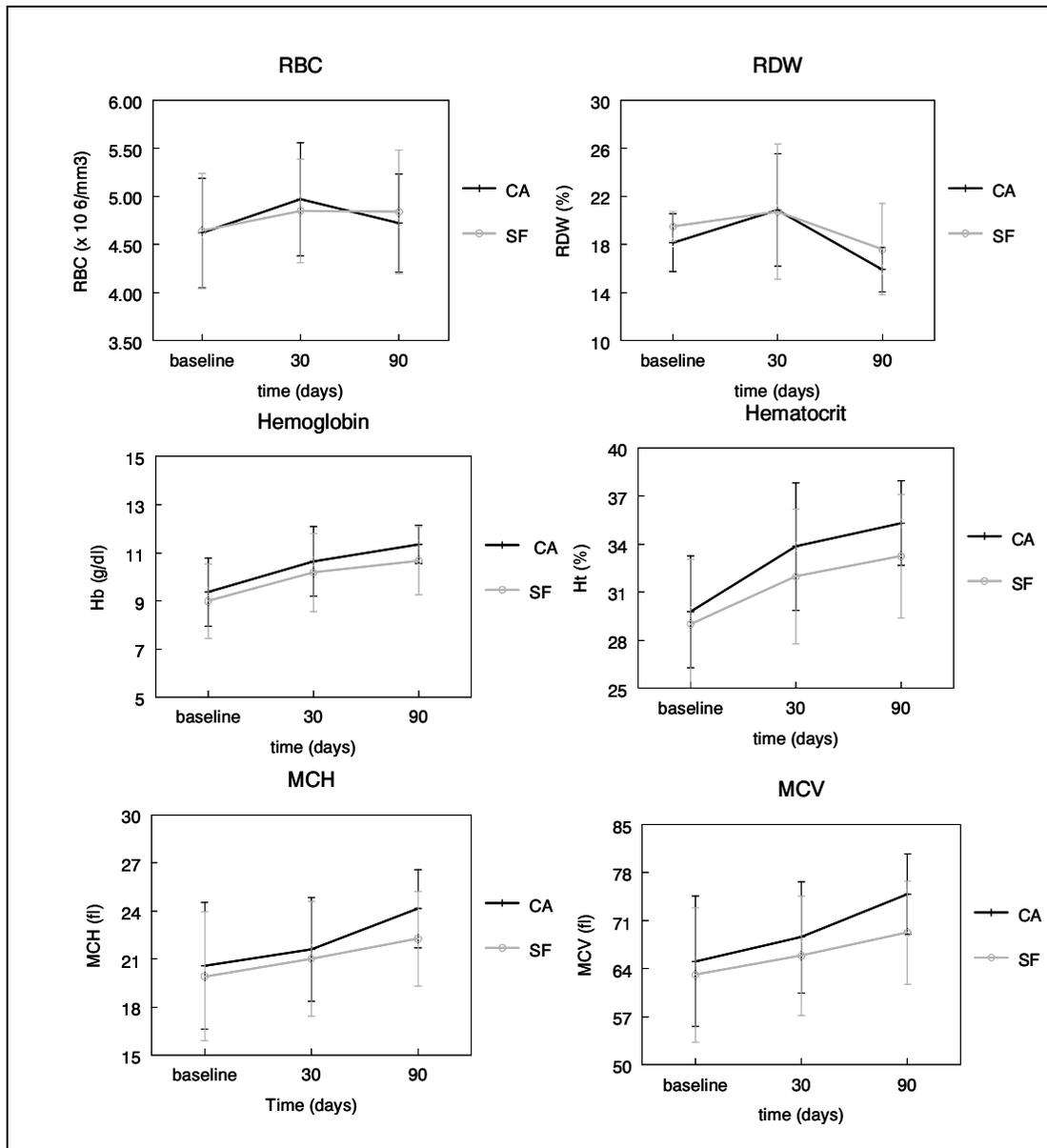
RBC: Red Blood Count; Hb: hemoglobin; Ht: hematocit; MCV: Mean Corpuscular Volume; MCH: Mean Corpuscular Hemoglobin; RDW: Red Cell Distribution Width; Iron: serum iron; TS: Transferrin saturation; Fer: serum ferritin

Clinical assay	Sample	Drug/dose	Hb Initial g/dl	Hb day 30 g/dl	IHb 30 days g/dl
Pineda, <i>et al</i> 2001	6-36 month old children	SF 5mg/kg/day	8.7	10.5	1.80
		Fe Bis-glycinate chelate 5mg/Kg/day	8.0	10.5	2.50
Torres, <i>et al</i> 1994	4-36 month old children	SF 12 mg/dia	10.6	11.28	0.68
Zlotkin, <i>et al</i> 2001	6-24 month old children	SF 5mg/kg/dia, 1xday	8.8	10.2	1.4
		SF 5mg/kg/dia, 3xday	8.7	10.0	1.3
Schultink, <i>et al</i> 1995	2-5 year old children	SF 30mg Fe 2x week	10.8	11.4	0.60
		SF 30 mg Fe daily	10.4	11.7	1.30
Zlotkin, <i>et al</i> 2001	6-18 month old children	Ferrous fumarate 5mg/kg/dia	8.7	10.2	1.5
		SF 5mg/kg/dia	8.7	10.0	1.3
Present Study	5-72 month old children	SF 5mg/kg/dia	8.99	10.18	1.19
		Carbonyl Iron ≈5mg/kg/dia	9.37	10.64	1.27

**Table 2:** Increase of Hb as measure of effectiveness in different studies.

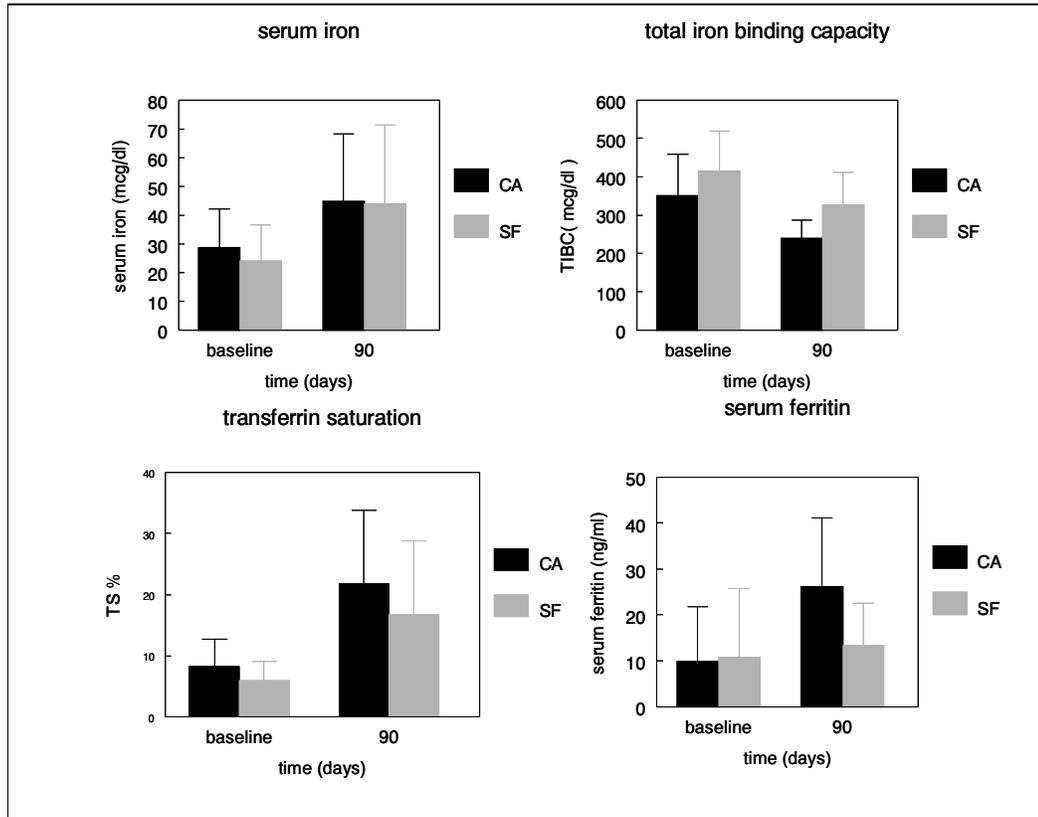
**FIGURES**

**FIGURE 1 :** Evolution initial erythrogram, 30 and 90 days of treatment, groups CA and SF.



RBC: Red Blood Count; RDW: Red Cell Distribution Width; Hb: hemoglobin; Ht: hematocrit; MCV: Mean Corpuscular Volume; MCH: Mean Corpuscular Hemoglobin.

**Figure 2:** Serum iron, TIBC, TS, initial ferritin and 90 days treatment CA and SF.



Iron: serum iron; TIBC: Total Iron Binding Capacity; TS: Transferrin saturation; CA: group studied received CA; SF: control group received SF.

## 4 DISCUSSÃO

Usando como medida de eficácia o incremento de Hb após 30 dias de tratamento, não foi encontrada diferença significativa entre os grupos, Dados semelhantes foram encontrados em outros ensaios clínicos, com adultos, utilizando ferro carbonila e sulfato ferroso como grupo controle. (DEVASTHALI, 1991). Avaliando o incremento de Hb com ferro carbonila, grupo CA e outros estudos que utilizaram outras fontes de ferro ou outros esquemas terapêuticos, não se observam variações importantes nos resultados. A exceção é o estudo de Pineda et al (2001), com ferro bisglicina quelato, que obteve um elevado incremento de Hb. Um estudo com doses profiláticas de sulfato ferroso apresentou reduzido incremento de Hb, demonstrando a necessidade de doses maiores para tratamento da anemia ferropriva, embora deva ser considerado que a Hb basal deste estudo era próxima ao ponto de corte para anemia, definido como 11g/dl. (TORRES et al, 1994). Essa semelhança dos resultados de nosso estudo com ferro carbonila e os demais demonstra o potencial terapêutico do ferro carbonila para tratamento da anemia ferropriva. A tabela 3 resume esses resultados.

**Tabela 3** - Incremento de Hb como medida de eficácia de diferentes estudos.

Ensaio clínico	População estudo	Fármaco/dose	Hb Inicial g/dl	Hb Final g/dl	IHb 30 dias g/dl
Torres, et al 1994	Crianças 4-36 meses	SF 12 mg/dia	10,6	11,28	0,68
Schultink, et al. 1995	Crianças 2-5 anos	SF 30mg Fe 2x semana	10,8	11,4	0,60
		SF 30 mg Fe diário	10,4	11,7	1,30
Pineda e Ashmead, 2001	Crianças 6-36 meses	SF 5mg/kg/dia	8,7	10,5	1,80
		Fe Bisglicina quelato 5mg/Kg/dia	8,0	10,5	2,50
Zlotkin, et al 2001	Crianças 6-18meses	Fumarato ferroso 5mg/kg/dia	8,7	10,2	1,5
		SF 5mg/kg/dia	8,7	10,0	1,3
Zlotkin, et al., 2001	Crianças 6-24meses	SF 5mg/kg/dia, 1x dia	8,8	10,2	1,4
		SF 5mg/kg/dia, 3xdia	8,7	10,0	1,3
Presente estudo	Crianças 5-72 meses	SF 5mg/kg/dia	8,99	10,18	1,19
		Ferro carbonila ≈5mg/kg/dia	9,37	10,64	1,27

Considerando uma resposta favorável como incremento de Hb > 1g/dl após 30 dias de tratamento, temos 58,6% de resposta favorável no grupo CA e 48,4% no grupo SF.

Outra medida da resposta terapêutica refere-se ao aumento do RDW, que foi observado nos dois grupos. No grupo CA, o RDW passou de 18,15% para 20,87% e no grupo SF de 19,48% para 20,73% ( $p > 0,05$ ).

Na avaliação da ocorrência de efeitos colaterais, os dados encontrados no grupo SF, em relação à diarreia, são semelhantes aos encontrados por Zlotkin et al. (2001), que relataram 18% de diarreia em crianças usando SF 5mg/Kg/dia. Neste estudo, não houve variação com relação à dose diária única ou fracionada (3xdia). Em estudo usando uma dose profilática de 12mg/dia de ferro, foi encontrada uma prevalência de 12,4% de diarreia, diferindo de nossos dados, possivelmente devido à diferença de dose. (TORRES et al., 1994).

Com relação ao vômito ocorrido no grupo SF, as mães referem que ocorre imediatamente após a deglutição. O vômito pode estar relacionado com o gosto do medicamento que, com doses elevadas torna-se difícil de ser mascarado. Desta forma, foi agrupada a ocorrência do vômito com a ocorrência de crianças que recusam deglutir a medicação, sendo o fato mais relatado pelas mães. No estudo de Zlotkin et al. (2001), 74% das crianças usando SF choravam e/ou se recusavam a tomar a medicação. Esses dados

refletem um aspecto importante e muito favorável ao grupo CA, que é a aceitação dos comprimidos por parte das crianças.

Para a maioria das crianças, já havia sido prescrito anteriormente a esse estudo a suplementação com ferro oral, com sulfato ferroso na forma de gotas, pela equipe de saúde dos PSFs e/ou UBs, lembrando que só participaram do estudo crianças que estavam no mínimo há 30 dias sem uso de sulfato ferroso. Desta forma, foi possível um comparativo com os dois medicamentos. Na avaliação qualitativa feita pelas mães ou responsáveis, em relação ao tratamento do grupo CA, confirma-se a como aspectos positivos os seguintes itens:

1. facilidade da administração do medicamento;
2. aceitação por parte das crianças, com relação ao sabor;
3. ausência de efeitos colaterais;
4. efetividade do tratamento.

Os depoimentos seguintes relatam esses itens:

O SF em gotas não *sentava* no estomago, vomitava. Os comprimidinhos *é melhor*, ele mesmo toma. O outro (SF) vomitava, não adiantava brigar. Foi muito melhor para ele. É 100% melhor. O remédio (SF) não adiantava. Até experimentei outros... não adiantava. Agora eu acho que vou conseguir acabar com essa anemia (Mãe LF).

Melhor o comprimido. Mais fácil, mais prático. Tem gosto. O sulfato ferroso ela não gostava e tinha que *dá, né*. Dava no suco. Tinha que escovar os dentinhos quando da gotinha, *né*. O comprimido não, *né*. Facilitou. Ela mesmo pedia, *né* e tomava o comprimido. E queria mais ainda, *né* (Mãe NP).

Eu achei melhor porque o líquido (SF) ela não tomava, era uma dificuldade. E o comprimidinho (CA) ela mesmo pega, chega na hora ela mesmo toma, ela mesmo busca e toma. Eu achei bom *daí*. É melhor. Porque ela toma desde que ela nasceu, que ela tinha anemia, logo assim, *né*. *Daí* quando surgiu esse estudo, que a agente de saúde falou ... *Aí* mudou, achou melhor. *Aí* ela também gostou, *né*. Porque o líquido não tinha jeito dela *tomá*. Ela cuspiu. Mas esse agora ela mesmo procura e toma. Chega na hora e ela então toma (Mãe LR).

Ele não conseguia *tomá* (SF). Ele botava na boca e vomitava tudo. E esse outro (CA) ele toma super bem. Ele adorou esse. Eu acho que não tem coisa melhor que esse remedinho. *Tá* comendo mais. Ele quase não comia nada. Ele agora come de tudo. Mistura tudo. Ele tava com 10Kg e agora *tá* com 11. Até engordar ele engordou (Mãe DS)

Possivelmente, esses dados corroboram para os resultados observados após 90 dias de tratamento, quando surgem variações significativas entre os grupos. Embora não havendo diferença na média da Hb entre os grupos, houve diferença significativa na ferritina e na CTLF. Esses dados conferem com estudo realizado em 2003, que evidencia a necessidade da

determinação da quantidade de ferro corporal. Neste estudo, foi utilizada a razão receptora de transferrina sérica e ferritina sérica para melhor avaliar o impacto da suplementação com ferro, pois a determinação da Hb foi imprópria para determinação do *status* de ferro. Em reavaliação de uma triagem clínica com intervenção com sulfato ferroso, na qual não havia diferença significativa na Hb entre os grupos, utilizando-se a estimativa de ferro corporal, essa diferença era facilmente identificada (COOK et al, 2003).

A determinação do conteúdo de hemoglobina dos reticulócitos indica que a menor hemoglobinação dos reticulócitos na anemia ferropriva é condizentes com uma maior atividade eritropoiética compensatória, limitada, porém, pela menor disponibilidade de ferro para a síntese de hemoglobina (BRUNARA et al, 1999). Estudos indicam que a microcitose e hipocromia são mais severas em pacientes com altos valores de RBC, independente do *status* de ferro. Em face de alta contagem de RBC, o ferro disponível por célula em pacientes com eritrocitose é menor do que em pacientes com baixos valores de RBC. Em conseqüência, a eritrocitose pode ser acompanhada de maior hipocromia e microcitose (ASLAN & ALTAY, 2003). Esses dados foram observados significativamente ( $p < 0,001$ ) no grupo CA, que teve como resposta a suplementação com ferro, um aumento no número de crianças com eritrocitose maior que o grupo SF e, conseqüentemente, ocorreu pequeno aumento do HCM com 30 dias de suplementação. Após 90 dias de tratamento, as variáveis do grupo CA estavam bastante próximas ao ponto de corte para anemia, sendo que Hb, Ht, Ferro sérico, ST, CTLF, ferritina ultrapassaram esses limites. No grupo SF, este distanciamento do ponto de corte era maior. O valor médio de ferritina do grupo CA (26,16ng/ml) era o dobro em relação ao grupo SF (13,41ng/ml) e essa diferença possivelmente está refletida nos melhores resultados dos índices hematimétrico do grupo CA.

## **5 CONCLUSÃO**

Na avaliação de eficácia após 30 dias de tratamento, o ferro carbonila apresenta resultados semelhantes ao sulfato ferroso, na dose de 5mg/Kg/dia, para crianças menores de 6 anos de idade. Com relação à aceitação da medicação, os comprimidos mastigáveis de CA tiveram aceitação muito superior à solução de SF, demonstrando ser uma forma farmacêutica apropriada a essa faixa etária. Os efeitos colaterais foram significativamente menores no grupo CA. Após 90 dias de tratamento, o grupo CA teve resposta significativamente melhor nas variáveis Ht, HCM, VCM, Ferritina e CTLF. O número de crianças que permanecia com Hb < 11g/dl, no grupo controle, era o dobro do que no grupo recebendo ferro carbonila. Pelos resultados de eficácia em 30 dias similares ao padrão sulfato ferroso e a superioridade em 90 dias de tratamento, aliados a segurança (baixa toxicidade) e ótima aceitação, o ferro carbonila deve ser considerado como uma importante opção terapêutica para tratamento da anemia ferropriva, de crianças menores de seis anos de idade.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASLAN, D.; ALTAY, C. Incidence of high erythrocyte count in infants and young children with iron deficiency anemia: re-evaluation of an old parameter. **J. Pediatrics Hematology Oncology**, v. 25, n. 4, p. 303-306, april 2003.

ASLAN, D.; GUMRUK, F.; GURGEY, A.; ALTAY, C. Importance of RDW value in differential diagnosis of hypochrome anemias. **American Journal of Hematology**, v. 69, n.1, p.31-3, jan 2002.

AU, A. P.; REDDY, M. B. Caco-2 cells can be used to assess human iron bioavailability from a semipurified meal. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 1329-1334, 2000.

BOVELL-BENJAMIN, A.; VITERI, F.; ALLEN, L. Iron absorption from ferrous bisglycinate and ferric trisglycinate in whole maize is regulated by iron status. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, n. 6, p.1563-9, June 2000.

BRASIL. **Compromisso Social para Redução da Anemia por Carência de Ferro no Brasil**. Aracaju/SE, Maio 1999.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. **Resolução 196**, de 10 outubro de 1996. Estabelece os requisitos para realização de pesquisa clínica de produtos para saúde utilizando seres humanos. Disponível em;< <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/php/home.php>>. Acesso em 18.jun.2005.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. **Resolução 251**, de 07 de agosto de 1997. Aprova as normas de pesquisa envolvendo seres humanos para a área temática de pesquisa com novos fármacos, medicamentos, vacinas e testes diagnósticos. Disponível em;< <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/php/home.php>>. Acesso em 18.jun.2005.

BRASIL. ANVISA. **RDC nº 344**, de 13 de dezembro de 2002. Aprova o Regulamento técnico para a fortificação das farinhas de trigo e das farinhas de milho com ferro e ácido fólico, constante do anexo desta Resolução. Disponível em;< <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/php/home.php>>. Acesso em 18 ju.2005.

BRASIL. ANVISA. **RDC nº219**, de 20 setembro de 2004. Aprova o regulamento para elaboração de dossiê para a obtenção de comunicado especial (ce) para a realização de

pesquisa clínica com medicamentos e produtos para a saúde. Disponível em;< <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/php/home.php>>. Acesso em 18jun.2005.

BRUGNARA, C.; ZURAKOWSKI, D.; DI CANZIO, J. et al. Reticulocyte hemoglobin content to diagnose iron deficiency in children. **JAMA**, v. 281, n. 23, June 1999.

CANONNE-HERGAUX, F.; GRUENHELD, S.; PONKA, P.; GROS, P. Cellular and subcellular localization of the Nramp2 iron transporter in the intestinal brush border and regulation by dietary iron. **Blood**, v. 93, n.12, p. 4406-4417, June 1999.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION – CDC. Recommendations to prevent and control iron deficiency in the United States. **Morbidity and Mortality Weekly Report**. v. 47, n.RR-3, April 1998.

COOK, J. D.; FLOWERS, C. H.; SKIKNE, B. S. The quantitative assessment of body iron. **Blood**. v. 101, n.9, p. 3359-3364, 2003.

COOK, J. D. Adaptation in iron metabolism. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.51, n. 2, p. 301-308, Feb.1990.

DEVASTHALI, S. D.; GORDEAUK, V. R.; BRITTENHAM, G. M. et al. Bioavailability of carbonyl iron: a randomized, double-blind study. **European Journal of Hematology**, v. 46, n.5, p.272-8, May 1991.

DEVICENZI, M. U.; RIBEIRO L. C.; SIGULEM, D. M. **Anemia ferropriva na primeira infância**. São Paulo: EPM, 1999. (coleção Compacta Nutrição).

DOREA, J. G. Iron and copper in human milk. **Nutrition**, v.16, p.209-220, 2000.

DUFFY, T. P. Anemias microcíticas. In: GOLDMAN, L.; BENETT, J.(editor). **Cecil textbook of medicine**, 21 st. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2000. p. 855-857.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICE. **FEDERAL REGISTER 21CFR** parts 101, 111 and 310. Iron – Containing Supplements and Drugs: Label Warning Statements and Unit-Dose Packing Requirements; Final Rule. Wednesday January 15, 1997.

FORBES, A. L.; ARNAUD, M. J.; CHICHESTER, C. O. et al. Comparison of in vitro, animal, and clinical determinations of iron bioavailability: International Nutritional Anemia Consultative Group Task Force report on iron bioavailability. **Am. J. Clinical Nutrition**, v. 49, p. 225-38, Feb 1989.

GILMANN, A. G. - Goodman & Gilman. **As bases farmacológicas da terapêutica**, 9. ed. Rio de Janeiro: Mac Graw-Hill, 1996.

GORDEUK, V. R.; BRITTENHAM, G. M.; HUGHES, M. A. et al. Prevention of iron deficiency with carbonyl iron in female blood donors. **Transfusion**, v. 30, n. 3., p. 1537-2995, 1990.

GORDEUK, V. R.; BRITTENHAM, G. M.; HUGHES, M. A. et al. High dose carbonyl iron for iron deficiency anemia: a randomized doubled-blind trial. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 46, n. 6, p. 1029-1034, december1987.

GORDEUK, V. R.; RITTENHAM, G. M.; McLAREN, C. E., HUGHES, M. A., KEATING, L. J. Carbonyl iron therapy for iron deficiency anemia. **Blood**, v. 67, n. 3, p. 745-52, 1986.

GRUPO MERCADO COMUM (MERCOSUL) **Resolução N° 129/96**. Boas Práticas Clínicas.1996 . Disponível em:< <http://www.bioetica.ufrgs.br/bpcmerco.htm>>. Acesso em 5.mai.2005.

GUNSHIN, H.; HACKENZIE, B.; BERGER, U. et al. Cloning and characterization of a mammalian proton coupled metal- iron transporter. **Nature**, v. 388, p. 482-488, 1997.

HADLER, M. C.; JULIANO, Y.; SIGULEM, D. Anemia do lactente:etiologia e prevalência. **J. Pediatria**, v. 78, n. 4, 2002.

HALTERMAN, J.; KACZOROWSKI, J.; ALIGNE, A. et al. Iron deficiency and cognitive achievement among school-aged children an adolescents in the United States. **Pediatrics**, v.107, n. 6, p. 1381, june 2001.

HOPPE, M.; HULTHÉN, L.; HALLBERG, L. The relative bioavailability in humans of elemental iron powders for use in food fortification. **European Journal of Nutrition**. V. 45n.1, p.37-44, 2006.

HOPPE, M.; HULTHÉN, L.; HALLBERG, L. The validation of using serum iron increase to measure iron absorption in human subjects. **British Journal of Nutrition**, v. 92, p. 485-488, 2004.

HUEBERS, H. A.; BRITTENHAM, G. M.; CSIBA, E.; FINCH, C. A. Absorption of carbonyl iron. **J Lab Clin Med**, n.108, v.5, p.473-478, 1986.

HURRELL, R.; BOTHWELL, T.; COOK, J. et al. The usefulness of elemental iron for cereal flour fortification: a SUSTEIN task force report. **Nutrition Reviews**, v. 60, n. 12, p. 391-406, December 2002.

KLOOTS, W.; DEN KAMP,D.; ABRAHAMSE,L. In Vitro Iron Availability from Iron-Fortified Whole-Grain Wheat Flour. **J. Agric. Food Chem**, v. 52, p. 8132-8136, 2004.

KOERPER, M. A.; DALLMAN, P. Serum iron concentration and transferrin saturation in the diagnosis of iron deficiency in children: normal developmental changes. **J Pediatr**, v. 91, n. 6, p. 870-4, dec 1977.

KOERPER, M. A.; MENTZER, W. C.; BRECHER, G.; DALLMAN, P. R. Developmental change in red blood cell volume: implication in screening infants and children for iron deficiency and thalassemia trait. **J Pediatr**, v. 89, n. 4, p. 580-3, oct 1976.

KOTISAARI, S.; ROMPPANEN, J.; PENTTILÄ, I. et al. The Advia 120 red blood cell and reticulocyte indices are useful in diagnosis of iron-deficiency anemia. **Eur J Haematol**, v.68, p.150-6, 2002.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 2000.

LOPES, M. C.; FERREIRA, L. O.; BATISTA, M. F. Uso diário e semanal de sulfato ferroso no tratamento de anemias em mulheres no período reprodutivo. **Cad. Saúde Pública**, v.15 n.4, p.799-808, 1999.

LYNCH, S. R. The Impacto of iron fortification on nutritional anemia. **Best Praticce & Reseach Clinical Haematology**, v. 18, n. 2, p. 33-346, 2005.

LYNCH, S.; STOLTZFUS,R. Iron and Ascorbic Acid: proposed fortification levels and recommended iron compounds. **J. Nutrition**, v.133, p. 978 - 2984, 2003.

MAHU, J. L.; LECLERCQ, C.; SUQUET, J. P. Usefulness of red cell distribution width in association with biological parameters in na epidemiological survey of iron deficiency in children. **Int. J. Epidemiol**, v. 19, n. 3, p. 646-654, 1990.

MELO, M.; PURINI, M. C.; CANÇADO, R. D. et al. Uso de índices hematimétricos no diagnóstico diferencial de anemias microcíticas: uma abordagem a ser adotada? **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 48, n.3, julho/set.2002.

MEYER DA SILVA, L. S.; GIUGLIANI, E. R.; CASTRO AERTS, D. R. Prevalência e determinantes de anemia em crianças de Porto Alegre. **Revista de Saúde Pública**, v.35, n.1, 2001.

MONTEIRO, C. A.; SZARFAC, S. C.; BRUNKEN, G. S.; GROSS, R.; CONDE, W. L. A.. Prescrição semanal de sulfato ferroso pode ser altamente efetiva para reduzir níveis endêmicos de anemia na infância. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 5, n.1, Abril 2002.

NAME, J. J.; GUERRA, J. F. Considerações sobre a biodisponibilidade do ferro como critério para o estabelecimento de recomendações de ingestão diária, com destaque para ferro bis-glicina quelato. **Food Ingredients**, n. 12, maio/junho 2001.

NASCIMENTO, M. A concentração de hemoglobina globular média não é o melhor indicador de hipocromia. **LAES&HAES**, fev/março2004.

O'BRIEN, K.; ZAVALETA, N.; ABRHAMS, S.; CAULFIELD, L. Maternal iron status influences iron transfer to the fetus during the third trimester of pregnancy. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 77, n. 4, p. 924-930, abril 2003.

OLIVEIRA, M.; OSÓRIO, M. Consumo de leite de vaca e anemia ferropriva na infância. **Jornal de Pediatria**, v. 85, n. 5, p. 361-370, 2005.

OLIVARES, M.; PIZARRO, F.; PINEDA, O; NAME, J. et al. Milk inhibits and ascorbic acid favors ferrous bis-glycine chelate bioavailability in humans. **The Journal of Nutrition**, v. 127, n. 7, p. 1407-11, july 1997.

PAIVA, A.; RONDÓ, P. H.; GUERRA-SHINOHARA, E. M. Parâmetros para avaliação do estado nutricional de ferro. **Revista de Saúde Pública**, v. 34, n. 4, agosto de 2000.

PESTANER, J. P.; ISHAK, K. G.; CENTENO, J. A. Ferrous sulfate toxicity: a review of autopsy findings. **Biol. Trace Elem. Res.**, v. 69, n. 3, p.191-198, september 1999.

PIEDRAS, J.; SOLEDAD, C. M.; ALVAREZ-HERNANDEZ, X. Usefulness of certain hematologic parameters in the diagnosis of iron deficiency anemia in children and women. **Bol Med Hosp Infant Mex**, v. 38, n. 6, p. 911-22, nov-dec 1981.

PINEDA, O.; ASHMEAD, H. D. Effectiveness of treatment of iron-deficiency anemia in infants and young children with ferrous bis-glycinate chelate. **Nutrition**, v. 17, n. 5, p. 381-4. May 2001.

PINEDA, O.; ASHMEAD, H. D.; PEREZ, J. M.; LEMUS, C. Effectiveness of iron amino acid chelate on the treatment of iron deficiency in adolescent. **J. Appl. Nutr.**, v. 46, p. 2-11. 1994.

PONKA, P. Tissue-specific regulation of iron metabolism and heme synthesis: distinct control mechanism in erythroid cells. **Blood**, v. 89, n. 1,1997.

RODRIGUES, C. R. M.; MOTTA, S. S.; CORDEIRO, A. A. et al. Prevalência de anemia ferropriva e marcadores de risco associados em crianças entre 12 e 18 meses de idade atendidas nos ambulatórios do Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira. **J. Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 73, p.189-194, 1997.

SACKS, P. V.; HOUCHIN, D. Comparative bioavailability of elemental iron powders for repair of iron deficiency anemia in rats. Studies of efficacy and toxicity of carbonyl iron. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 31, p. 566-573, april1978.

SCULTINK, W.;GROSS, R.; GLIWITZKI, M. et al. Effect of daily vs twice weekly iron supplementation in Indonesian preschool children with low iron status **Am. J. Clinical Nutrition**, v. 61, p.111-5, Jan 1995.

SHERRIFF, A.; EMOND, A.; HAWKINS, N.; et al. Haemoglobin and ferritin concentrations in children aged 12 and 18 months. **Arch Dis Child**, v. 80, p.153-7, February 1999.

SIMIONATTO, M.P.B.; SILVA, J.E.P.; Tempo de tratamento da anemia ferropriva no Hospital Universitário de Santa Maria-RS. 2003. Monografia (Especialização em Análises Clínicas) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2003.

SORIAK. **PR vade mécum**, 7. ed. São Paulo, 2001.

SWAIN, J.; NEWMAN, S.; HUNT, J. Bioavailability of elemental iron powders to rats is less than Bakery-Grade ferrous sulfate and predict by iron solubility and surface area. **J.Nutrition**, n. 133, p. 3546-3552, november 2003.

SZARFARC, S. C.; SOUZA, S. B.; FURUMOTO, R. V. et al. Concentração de hemoglobina em crianças do nascimento até um ano de vida. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 20, n.1, jan./fev 2004.

THEIL, E.; EISENSTEIN, R. Combinatorial mRNA regulation: iron regulatory proteins and iso-iron-responsive elements (Iso-IREs). **The Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n. 52, p. 40659-40662, december 2000.

TORRES, M. A.; SATO, K.; JULIANO, Y.; QUEIROZ, S. S. Terapêutica com doses profiláticas de sulfato ferroso como medida de intervenção no combate à carência de ferro em crianças atendidas em unidades básicas de saúde. **Rev. Saúde Pública**, v. 25, n. 6, 1994.

TURNER, L. Monterrey workshop summary: Evaluating the usefulness of elemental iron powders. **Nutrition Reviews**, v. 60, n. 7, p. S16-17, 2002.

WIENK, K. J. H.; MARX, J. J. M.; BEYNEN, A. C. The concept of iron bioavailability and its assessment. **European Journal of Nutrition**, v. 38, p. 51-75, 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION and UNICEF -INTERNATIONAL NUTRITIONAL ANEMIA CONSULTATIVE GROUP. **Guidelines for the use of iron supplements to prevent and treat iron deficiency anemia**. Washington, DC. 1998.

WHO/UNICEF/UNU. **Iron deficiency anaemia: assessment, prevention, and control**. Geneva, World Health Organization, 2001 (WHO/NHD/01.3). Disponível em ([http://www.who.int/nut/documents/ida\\_assessment\\_prevention\\_control.pdf](http://www.who.int/nut/documents/ida_assessment_prevention_control.pdf)), accessed 27.Jul.2005.

WITTAKER, P.; ALI, S. F.; IMAM, S. Z.; DUNKEL, V. C. Acute toxicity of carbonyl iron and sodium iron EDTA compared with ferrous sulfate in young rats. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v.36, p. 280-286, 2002.

WRIGHT, C. M.; KELLY, J.; TRAIL, A. et al. The diagnosis of borderline iron deficiency: results of a therapeutic trial. **Archives of Disease in Childhood**, v. 89, p. 1028-31, 2004.

ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R (editores). **Hematologia: fundamentos e práticas**. São Paulo: Atheneu, 2001.

ZINN, K. R.; CHAUDHURI, T. R.; MOUNTA, J. M. et al.  $^{59}\text{Fe}$  is retained from an elemental  $^{59}\text{Fe}$  powder supplement without effects on  $^{65}\text{Zn}$ ,  $^{47}\text{Ca}$  and  $^{67}\text{Cu}$  in young pigs. **American Society for Nutrition Sciences**, 1999.

ZLOTKIN, S.; ANTWI, K. Y.; YEUNG, G. Treatment of anemia with microencapsulated ferrous fumarate plus ascorbic acid supplied as sprinkles to complementary (weaning) foods 1-3. **Am J Clin Nutr**, v. 74, n. 6, p.791-795. 2001.

ZLOTKIN, S.; ARTHUR, P.; ANTWI, K. Y.; YEUNG, G. Randomized, controlled trial of single versus 3-times-daily ferrous Sulfate drops for treatment of anemia. **Pediatrics**, v.108, n.3, p.613, 2001.