



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

**AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO
ATRAVÉS DA DETERMINAÇÃO DE PRODUTOS
DA OXIDAÇÃO AVANÇADA DE PROTEÍNAS
(AOPP) EM PACIENTES COM ANEMIA
MICROCÍTICA E HIPOCRÔMICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Karina Danieli

**Santa Maria, RS, Brasil
2011**

**AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO ATRAVÉS
DA DETERMINAÇÃO DE PRODUTOS DA OXIDAÇÃO
AVANÇADA DE PROTEÍNAS (AOPP) EM PACIENTES
COM ANEMIA MICROCÍTICA E HIPOCRÔMICA**

Karina Danieli

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado do Programa de
Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade
Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para
obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas

Orientador: Prof. Dr. José Edson Paz da Silva

Santa Maria, RS, Brasil

2011

**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

**AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO ATRAVÉS DA
DETERMINAÇÃO DE PRODUTOS DA OXIDAÇÃO AVANÇADA
DE PROTEÍNAS (AOPP) EM PACIENTES COM ANEMIA
MICROCÍTICA E HIPOCRÔMICA**

elaborada por
Karina Danieli

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas

COMISSÃO EXAMINADORA:

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

Sandra Trevisan Beck, Dra. (UFSM)

Isabella Martins de Albuquerque, Dra. (UNISC)

Santa Maria, agosto, 2011.

Dedico este trabalho a minha família e meus amigos pelo amor, apoio, compreensão e companheirismo dedicados, por estarem comigo na dificuldade e na alegria, me ajudando a concretizar meus objetivos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelas oportunidades, pela força para superar as dificuldades e seguir em frente.

A toda a minha família, meus amigos (as), meu namorado, pelo amor, compreensão e carinho que sempre dedicaram a mim. Obrigada por me apoiarem, incentivarem e darem força nas minhas escolhas, estando ao meu lado em todos os momentos.

As minhas amigas Gabriela, Aline, Juliana, Jaqueline, Camila, Charlise, pelo apoio, conselhos, pela amizade e convivência imprescindíveis, e principalmente à Karine, pela ajuda, pelas dicas e sugestões, por estar sempre pronta a ajudar, obrigada amiga.

Ao Elehú de Oliveira, diretor do LAC-HUSM e aos funcionários da Hematologia, Bioquímica e Imunologia do LAC-HUSM pela paciência e dedicação, estando sempre dispostos a ajudar.

Ao professor Rafael Moresco e todos os colegas do laboratório de Bioquímica, pelo apoio, auxílio e dedicação na realização desse trabalho.

Às professoras Sandra Trevisan Beck e Isabella Martins de Albuquerque, por aceitarem o convite para compor a banca examinadora desta dissertação.

A UFSM e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela oportunidade de realizar este curso.

Ao professor José Edson pela orientação, pela sabedoria transmitida e por encaminhar na busca para o aprendizado. Muito obrigada!

RESUMO

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

AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO ATRAVÉS DA DETERMINAÇÃO DE PRODUTOS DA OXIDAÇÃO AVANÇADA DE PROTEÍNAS (AOPP) EM PACIENTES COM ANEMIA MICROCÍTICA E HIPOCRÔMICA

Autora: Karina Danieli
Orientador: José Edson Paz da Silva
Data e Local de defesa: Santa Maria, 31 de agosto de 2011.

A etiologia das anemias caracteriza-se pela síntese anormal de hemoglobina. A deficiência de ferro é caracterizada por eritrócitos microcíticos e hipocrômicos e por ferritina sérica baixa, sendo a carência nutricional mais prevalente em todo o mundo, responsável pela Anemia Ferropriva (AF). A Anemia de Doença Crônica (ADC) é considerada uma síndrome clínica, associada à inflamação crônica, doença infecciosa, traumática ou neoplásica, sendo a segunda causa mais freqüente de anemia. Ambas apresentam deficiência funcional de ferro. O objetivo deste trabalho foi avaliar parâmetros hematológicos e inflamatórios, bem como a presença de estresse oxidativo em pacientes com anemia. A análise hematológica foi feita através do hemograma, processado em analisador hematológico automatizado, Sysmex® (Automated Hematology Analyzer). O doseamento quantitativo da ferritina no soro foi feito em analisador IMMULITE. A dosagem de Proteína C-Reativa (PCR) e de Produtos da Oxidação Avançada de Proteínas (AOPP) foram realizadas no soro através do sistema automatizado Cobas MIRA® (Roche Diagnostics). A análise estatística foi realizada através do programa GraphPad Prism 5. Foram analisados 70 pacientes portadores de anemia microcítica e hipocrômica. Destes, 29 (41,43%) foram diagnosticados como anemia ferropriva e 41 (58,57%) com anemia de doença crônica. Como grupo controle, foram utilizadas amostras de 44 indivíduos com parâmetros hematológicos, níveis de ferritina, PCR e AOPP dentro da normalidade. Os valores de VCM, HCM e CHCM foram significativamente menores na anemia ferropriva. Os níveis de ferritina revelaram que ela pode ser considerada tanto uma medida das reservas de ferro quanto um marcador inflamatório. Na ADC há aumento da produção de citocinas inflamatórias, que, por sua vez, aumenta também a concentração de PCR. Os resultados do AOPP indicam que ambos os grupos com anemia apresentaram níveis aumentados deste marcador, o que indica a presença de estresse oxidativo, provavelmente causado por aumento na produção de radicais livres e declínio das atividades das enzimas do sistema de defesa antioxidante dos eritrócitos.

Palavras-chave: anemia ferropriva, anemia de doença crônica, ferritina, proteína C reativa(PCR), produtos de oxidação avançada de proteínas (AOPP).

ABSTRACT

Dissertation of Master's Degree
Graduation Program of Pharmaceutical Sciences
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

EVALUATION OF OXIDATIVE STRESS BY DETERMINATION OF ADVANCED OXIDATION PROTEIN PRODUCTS (AOPP) IN PATIENTS WITH ANEMIA MICROCYTIC AND HYPOCHROMIC

Author: Karina Danieli
Advisor: José Edson Paz da Silva
Place and Date: Santa Maria, August 31, 2011.

The etiology of anemia is characterized by abnormal hemoglobin synthesis. Iron deficiency is characterized by microcytic and hypochromic red cells and low serum ferritin, being the most prevalent nutritional deficiency worldwide, responsible for iron deficiency anemia (FA). Anemia of chronic disease (ACD) is considered a clinical syndrome associated with chronic inflammation, infectious disease, neoplastic or traumatic, being the second most frequent cause of anemia. The severity of anemia correlates with the degree of pathology. Both have functional iron deficiency. The objective of this study was to evaluate hematological and inflammatory, as well as the presence of oxidative stress in patients with anemia. The blood analyzer was done by the CBC, automated hematology analyzer processed, Sysmex® (Automated Hematology Analyzer). The quantitative determination of ferritin in serum was done in IMMULITE analyzer. Levels of CRP and AOPP were performed in serum by automated Cobas MIRA® (Roche Diagnostics). Statistical analysis was performed using GraphPad Prism 5. We analyzed 70 patients with microcytic and hypochromic anemia. Of these, 29 (41.43%) were diagnosed as iron deficiency anemia and 41 (58.57%) with anemia of chronic disease. As a control group, we used samples from 44 patients with hematological parameters, serum ferritin, CRP and AOPP normal. The values of MCV, MCH and MCHC significantly lower in iron deficiency anemia. Ferritin levels showed that it can be considered both a measure of iron store as an inflammatory marker. In ACD there is increased production of inflammatory cytokines, which, in turn, increases the concentration of C-reactive protein (CRP). The results indicate that AOPP in both groups with anemia showed increased levels of this marker, which indicates the presence of oxidative stress, probably caused by increased production of free radicals and decreases in enzyme activities of the antioxidant defense system of erythrocytes.

Keywords: iron deficiency anemia, anemia of chronic disease, ferritin, C-reactive protein (CRP), advanced oxidation protein products (AOPP).

LISTA DE ABREVIATURAS

Hb: hemoglobina

AF: anemia ferropriva

ADC: anemia de doença crônica

PCR: proteína C reativa

AOPP: produtos de oxidação avançada de proteínas

FS: ferritina sérica

fL: fentolitros

VCM: volume corpuscular médio

HCM: hemoglobina corpuscular média

CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média

RDW: red distribution width

IL: interleucina

ERO: espécie reativa de oxigênio

ERN: espécie reativa de nitrogênio

GSH: glutationa reduzida

GSH-PX: glutationa peroxidase

GSH-Rd: glutationa redutase

SOD: superóxido dismutase

CAT: catalase

O₂: oxigênio

CO₂: gás carbônico

LAC: Laboratório de Análises Clínicas

HUSM: Hospital Universitário de Santa Maria

OMS: Organização Mundial da Saúde

LISTA DE FIGURAS

RESULTADOS

Figura 1: Níveis de ferritina presentes nos grupos controle, anemia ferropriva e anemia de doença crônica 44

Figura 2: Níveis de PCR presentes nos grupos controle, anemia ferropriva e anemia de doença crônica 45

Figura 3: Níveis de AOPP presentes nos grupos controle, anemia ferropriva e anemia de doença crônica 45

LISTA DE TABELAS

RESULTADOS

Tabela 1. Dados hematológicos referentes aos grupos controle, anemia ferropriva e anemia de doença crônica42

Tabela 2. Resultados relativos à Ferritina sérica (FS), Proteína C-reativa (PCR) e Produtos de Oxidação Avançada de Proteínas (AOPP), referentes aos grupos controle, anemia ferropriva e anemia de doença crônica44

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	04
AGRADECIMENTOS	05
RESUMO	06
ABSTRACT	07
LISTA DE ABREVIATURAS	08
LISTA DE FIGURAS	09
LISTA DE TABELAS	10
1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	
2.1 Objetivo Geral.....	17
2.2 Objetivos Específicos.....	17
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
3.1 Anemia Ferropriva	19
3.2 Anemia de Doença Crônica	21
3.3 Metabolismo do Ferro.....	23
3.4 Epidemiologia.....	25
3.5 Diagnóstico.....	27
3.6 Controle e Tratamento.....	29
3.7 PCR.....	31
AOPP	32
4. MÉTODOS	37
5. Resultados	41
6. DISCUSSÃO	46

7. CONCLUSÕES	54
8. PERSPECTIVAS	56
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58

1. INTRODUÇÃO

Introdução

A etiologia das anemias caracteriza-se pela síntese anormal de hemoglobina (CARVALHO; BARACAT; SGARBIERI, 2006). Essa redução da concentração de hemoglobina sanguínea compromete o transporte de oxigênio (O_2) para os tecidos, resultando em sinais e sintomas como alterações da pele e das mucosas (palidez, glossite), alterações gastrintestinais (estomatite, disfagia), fadiga, fraqueza, palpitação, redução da função cognitiva, do crescimento e do desenvolvimento psicomotor, além de afetar a termorregulação e imunidade (OSORIO, 2002).

A anemia é uma anomalia caracterizada laboratorialmente pela diminuição de hemácias circulantes, da concentração da hemoglobina (Hb) e do hematócrito. Sob aspectos fisiológicos, anemia significa hipóxia, ou seja, redução na capacidade de transporte e trocas de O_2 e gás carbônico (CO_2) no sangue (BACCIN, 2008).

A quantidade de Hb dos eritrócitos é determinada por ações coordenadas entre as sínteses adequadas do heme e das cadeias de globina, associadas à disponibilidade do ferro. Se houver alguma alteração nesse processo, o resultado pode ser uma anemia microcítica e hipocrômica, que tem como principais diagnósticos: anemias ferroprivas, talassemias menor (α e β), anemias de doenças crônicas e intoxicação por metais pesados (chumbo e cádmio). Estas anemias, de maneira direta ou indireta, comprometem a disponibilidade do ferro (NASCIMENTO, 2010).

No grupo das anemias caracterizadas por apresentar distúrbios do metabolismo de ferro, podemos classificar a anemia ferropriva (AF) e a anemia de doença crônica (ADC) como sendo as mais comuns (CARVALHO; BARACAT; SGARBIERI, 2006).

Devido ao seu papel no transporte de O_2 e CO_2 , os eritrócitos estão continuamente expostos ao estresse oxidativo (BACCIN, 2008). O AOPP (Produtos da Oxidação Avançada de Proteínas) é considerado um marcador fidedigno para estimar o grau de dano protéico mediado por oxidação (BRAGA, 2004). O seu aumento tem sido associado a numerosas condições patológicas,

Introdução

sendo considerado um marcador precoce e fator de prognóstico (KRZYTEK - KORPACKA, 2008).

A análise hematológica, inflamatória e os distúrbios do ferro corporal são parâmetros importantes na diferenciação entre essas anemias. Quanto ao estresse oxidativo, a literatura oferece dados limitados sobre sua presença na anemia, tornando-se necessárias mais investigações, na busca do esclarecimento desse assunto.

2. OBJETIVOS

Objetivos

2.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi a determinação dos parâmetros hematológicos, inflamatórios e dos estoques de ferro corporal, e a avaliação da presença de estresse oxidativo, em pacientes com anemia microcítica e hipocrômica.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar os perfis hematológicos e suas diferenças entre os tipos de anemia;

- Avaliar as reservas de ferro, através dos níveis séricos de ferritina, nos diferentes tipos de anemia;

- Verificar a presença de processo inflamatório, pela dosagem de proteína C reativa (PCR);

- Avaliar o dano oxidativo protéico na anemia microcítica e hipocrômica, através da dosagem de Produtos da Oxidação Avançada de Proteínas (AOPP).

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Revisão Bibliográfica

3.1 Anemia Ferropriva:

Nas anemias por carência nutricional, a concentração de hemoglobina no sangue está anormalmente baixa, em consequência da falta de um ou mais nutrientes essenciais. Dentre os vários nutrientes, como folatos, proteínas, vitamina B12 e cobre, que contribuem para a ocorrência de anemias carenciais, o ferro é, indiscutivelmente, o mais importante (UNICEF, 1998). A falta de ferro é considerada a carência nutricional mais prevalente em todo o mundo (PAIVA; RONDÓ; GUERRA-SHINOHARA, 2000), sendo a causa da anemia ferropriva (AF), caracterizada por eritrócitos microcíticos e hipocrômicos, além das reservas de ferro baixas (JOHNSON-WIMBLEY, GRAHAM, 2011).

A deficiência de ferro ocorre em consequência de longos períodos de balanço negativo deste elemento químico, podendo levar ao esgotamento das reservas do organismo (CARVALHO; BARACAT; SGARBIERI, 2006). A redução da concentração de ferro no sangue causa uma síntese insuficiente de hemoglobina, com conseqüente redução na proliferação dos eritrócitos, acarretando em anemia. Além disso, a diminuição do tempo de sobrevivência da célula vermelha pode estar presente (ISLER et al., 2002).

Teoricamente, a carência de ferro ocorre no organismo de forma gradual e progressiva. Primeiramente a depleção de ferro afeta os depósitos (PAIVA, RONDÓ, GUERRA-SHINOHARA, 2000) e o aporte de ferro é incapaz de suprir as necessidades do organismo. A redução destes depósitos se caracteriza por ferritina sérica abaixo de 12 µg/L, sem alterações funcionais. (QUEIROZ, TORRES, 2000).

Posteriormente, a deficiência de ferro gera uma deficiência na produção dos eritrócitos e algumas alterações bioquímicas, resultantes da insuficiência de ferro, que é necessário para a produção normal de hemoglobina e outros compostos férricos. No entanto, a queda da concentração de Hb pode ainda não estar presente (PAIVA, RONDÓ, GUERRA-SHINOHARA, 2000).

Revisão Bibliográfica

Essa fase é caracterizada por diminuição do ferro sérico, saturação da transferrina abaixo de 16% e elevação da protoporfirina eritrocitária livre (QUEIROZ, TORRES, 2000).

E o terceiro e mais grave estágio, conhecido como anemia ferropriva, é desenvolvido quando a quantidade de ferro está suficientemente restrita, prejudicando a síntese de hemoglobina, a ponto de sua concentração ficar abaixo dos valores de referência, estabelecidos para a idade e o sexo (PINTO, 2008).

Além das seqüelas mais evidentes, resultantes da anemia, como fraqueza, fadiga, palidez e taquicardia, evidências científicas indicam que essa deficiência também pode afetar adversamente processos metabólicos, como a síntese de DNA, o metabolismo de várias enzimas e o transporte de elétrons, provocando alterações na resposta imune (UMBELINO, ROSSI, 2006).

A deficiência de ferro é uma patologia sistêmica com múltiplos sintomas, atingindo praticamente todas as células do organismo, pois esse elemento participa de várias reações de óxido-redução, além de ser fundamental para o sistema imunológico (VICARI, FIGUEIREDO, 2010). Sem a sua presença, podem ocorrer alterações na resposta imune, com diminuição da atividade bactericida dos neutrófilos e do número de linfócitos T (CARVALHO; BARACAT; SGARBIERI, 2006), alterações no metabolismo de hormônios tireoidianos, na função muscular lisa e estriada e no metabolismo oxidativo (FIGUEIREDO, 2010). Além disso, alterações no comportamento e conseqüências econômicas, devido a menor habilidade cognitiva nas crianças e diminuição da capacidade de trabalho em adultos são observadas (MATOS et al, 2008).

Portanto, a anemia por deficiência de ferro não pode ser considerada uma simples carência, facilmente combatida com uma terapia adequada, devendo ser entendida como uma enfermidade sistêmica que afeta vários órgãos e sistemas, possivelmente de forma irreversível (UMBELINO, ROSSI, 2006).

Revisão Bibliográfica

Entre as principais causas da deficiência de ferro destacam-se a ingestão inadequada, absorção deficiente, aumento das necessidades deste elemento ou falhas no metabolismo (PINTO, 2008), problemas decorrentes da interação dos constituintes da dieta com o ferro, além de perda sanguínea crônica, perdas urinárias e aumento do volume sanguíneo (CARVALHO; BARACAT; SGARBIERI, 2006). Uma importante causa em mulheres em idade fértil é a menstruação excessiva (JOHNSON-WIMBLEY, GRAHAM, 2011).

O teor de ferro na alimentação é determinado pela quantidade deste nos alimentos e pela sua biodisponibilidade, pois a forma química em que o ferro se encontra nos alimentos influencia na sua absorção (Ministério da Saúde, 2007). Nos países em desenvolvimento, a baixa biodisponibilidade de ferro da dieta é a principal causa de AF, no entanto, nos países desenvolvidos, fatores que levam à diminuição da absorção de ferro e perdas de sangue são as etiologias mais prováveis de deficiência de ferro (JOHNSON-WIMBLEY, GRAHAM, 2011).

3.2 Anemia de Doença Crônica:

A Anemia de Doença Crônica (ADC) é considerada uma síndrome clínica, sendo a segunda causa mais freqüente de anemia, após a anemia por deficiência de ferro (CANÇADO, CHIATTONE, 2002), sendo mais comum em pacientes hospitalizados (VICARI, FIGUEIREDO, 2010).

A anemia de doença crônica é definida como uma anemia leve associada à inflamação crônica, doença infecciosa, traumática ou neoplásica (BARTAL et al, 1993).

Revisão Bibliográfica

Na patogênese desse tipo de anemia atuam pelo menos três mecanismos: alterações na eritropoese, diminuição da sobrevivência das hemácias e resposta inadequada da medula à hemólise (CARVALHO, BARACAT, SGARBIERI, 2006). A ADC é caracterizada pela produção inadequada de eritropoietina, inibição da proliferação das células progenitoras eritróides da medula óssea e por distúrbios da distribuição do ferro (THOMAS, THOMAS, 2002), uma vez que o mesmo é retido no sistema fagocítico mononuclear, o que ocasiona uma diversificação do tráfego do ferro, da circulação para o compartimento de estoque, a ferritina (PAINO, 2008).

Normalmente, os macrófagos adquirem ferro por fagocitose de hemácias fracas, das quais a Hb é retirada e catabolizada. A ocorrência de um bloqueio na liberação de ferro dos macrófagos, diminuindo o ferro disponível para a síntese da Hb, parece ser o principal fator relacionado a estas alterações. Portanto, apesar do nível de ferro dos macrófagos encontrar-se normal ou aumentado, o fluxo ao plasma parece estar parcialmente bloqueado, fazendo com que o ferro acumule-se no macrófago, privando a medula de suprimentos adequados para a eritropoese (CARVALHO, BARACAT, SGARBIERI, 2006).

Além disso, ocorre um estado de hiperatividade do sistema mononuclear fagocitário desencadeado por processo infeccioso, inflamatório ou neoplásico, que leva à remoção precoce dos eritrócitos circulantes e, portanto, à diminuição da sobrevivência das hemácias, que varia de 80 a 90 dias, considerando o normal de 110 a 120 dias (CANÇADO, CHIATTONE, 2002). Com isso, mais eritrócitos serão fagocitados, mas o ferro proveniente deles não é liberado para a circulação. A ADC é uma anemia geralmente normocítica e normocrômica, embora em 50% dos casos sejam hipocrômicas e, em 20 a 50%, microcíticas (CANÇADO, 2002). A gravidade desta anemia correlaciona-se com o grau da patologia de base, que inclui doenças autoimunes, neoplasias hematológicas, tumores, doenças cardíacas e reumáticas (PAINO, 2008).

3.3 Metabolismo do Ferro

Os compostos de ferro presentes no organismo humano podem ser agrupados em duas categorias: os que exercem funções metabólicas ou enzimáticas (UMBELINO, ROSSI, 2006) e os armazenados na forma de depósito (PINTO, 2008).

A maior parte, em torno de 70% a 80% do ferro corporal, desempenha funções metabólicas e oxidativas, estando principalmente na forma de hemoglobina e mioglobina, além de participar da formação de enzimas e circular no plasma ligado à transferrina. O restante (20% a 30%) encontra-se sob a forma de armazenamento no fígado, baço e medula óssea, como ferritina e hemossiderina (QUEIROZ, TORRES, 2000; JOHNSON-WIMBLEY, GRAHAM, 2011).

Algumas enzimas anti-oxidantes, que catalisam a reação de destruição das espécies reativas de oxigênio (ERRO), contem ferro em sua composição, destacando-se a Catalase e a Glutathione Peroxidase, que catalisam o peróxido de hidrogênio; e ainda a Superóxido Dismutase, que catalisa a conversão do superóxido em peróxido de hidrogênio e O₂, prevenindo a lesão celular provocada pela acumulação deste anion altamente reativo (TEIXEIRA, 2010).

A presença do ferro na molécula de hemoglobina é de fundamental importância para o transporte de O₂ e dióxido de carbono (CO₂), essenciais à respiração celular aeróbica. É importante também no funcionamento do sistema imunológico (CARVALHO, BARACAT, SGARBIERI, 2006), além de estar envolvido nas reações de liberação de energia na cadeia de transporte de elétrons; na conversão de ribose a desoxirribose (PINTO, 2008); na síntese de purinas, que são compostos estruturais do DNA e RNA; de carnitina; do colágeno e de neurotransmissores, como dopamina, serotonina e norepinefrina (UMBELINO, ROSSI, 2006).

A quantidade total de ferro no corpo humano é de, em média, 3,5 a 4,0g.

Revisão Bibliográfica

(JOHNSON-WIMBLEY, GRAHAM, 2011). Cerca de 10% do ferro ingerido na dieta é absorvido pelo intestino diariamente, podendo esta quantidade ser aumentada quando há carência de ferro, chegando a até 26% de captação (BACCIN, 2008). A quantidade de ferro absorvida é regulada conforme as necessidades do organismo, através de mudanças na expressão do transportador divalente de metal 1 (DMT-1), envolvido na captação de ferro, e da ferroportina, que controla a saída de ferro da célula para o plasma (FERNANDEZ, 2007).

Os alimentos da dieta apresentam duas formas de ferro: forma ferrosa ou ferro heme (presente em carnes, aves e peixes), que é altamente biodisponível, sendo bem absorvido no lúmen intestinal, e a forma férrica ou ferro inorgânico (encontrado em cereais, feijão e alguns vegetais), que é menos absorvido (JOHNSON-WIMBLEY, GRAHAM, 2011).

A biodisponibilidade do ferro depende de sua forma, da composição na dieta e fatores como secreção gástrica, motilidade intestinal e patologias gastrointestinais (SALDANHA, 2009). A presença de alguns compostos, como o ácido ascórbico, açúcares e aminoácidos, formam quelatos de baixo peso molecular com o ferro, reduzindo a forma férrica para ferrosa, tornando-se mais biodisponível e facilitando sua absorção intestinal. Por outro lado, alguns fatores podem reduzir sua biodisponibilidade e absorção, tais como, as fibras alimentares que aceleram o trânsito dos alimentos no lúmen, o fitato e os polifenóis que formam quelatos insolúveis com o ferro (SIQUEIRA, ALMEIDA, ARRUDA, 2006).

O ferro da dieta é absorvido na mucosa das células duodenais intestinais e combina-se com a apotransferrina, formando a transferrina, que circula no plasma e é incorporada à hemoglobina, ao músculo na forma de mioglobina e em outros tecidos sob a forma de enzimas e citocromos (BACCIN, 2008). No citosol o ferro ferroso é enzimaticamente removido do ferro heme e combina-se com a apoferritina para formar a ferritina. Esta proteína atua como estoque intracelular de ferro e o transporta até a membrana basolateral, onde por transporte ativo o ferro é movido para o sangue (UMBELINO, ROSSI, 2006).

Revisão Bibliográfica

Se houver desequilíbrio entre quantidade absorvida e consumo, ou se ocorrerem perdas, através da menstruação, gestação, hemorragias, doenças inflamatórias intestinais, parasitoses, poderá resultar em diminuição dos estoques de ferro. A deficiência de ferro prejudica a síntese de Hb, resultando em formação de eritrócitos com conteúdo inadequado de Hb (BACCIN, 2008).

Com a falta de ferro ocorre comprometimento do sistema imune, com aumento da predisposição a infecções, além de redução da produtividade, do apetite e da capacidade de concentração; maior risco de mortalidade relacionada à gestação e ao parto, maior risco de morbidade e mortalidade fetal, prematuridade e baixo peso ao nascer (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007).

3.4 Epidemiologia

Mais de 2 bilhões de pessoas em todo o mundo sofrem de anemia, dos quais 1,3 bilhões de casos devem-se à deficiência de ferro (PLANTE, BLANCHET, ROCHETTE, 2011). A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que em torno de 66 a 80% da população do mundo apresente deficiência de ferro (FERRARI et al, 2011). Esta deficiência afeta populações de quase todos os países em diferentes graus, correspondendo a aproximadamente um terço da população do mundo (LIRA et al, 2010).

A anemia, embora encontrada em todos os países, é mais prevalente em países em desenvolvimento do que nos industrializados. Estima-se que 90% das anemias sejam causadas por carência de ferro (FABIAN et al, 2007). Outros relatos indicam que a porcentagem de indivíduos anêmicos, em que a causa é a deficiência de ferro é de 26% em países em desenvolvimento, sendo mais alta do que a observada na Europa (10,9%) e nos Estados Unidos (8%) (PINTO, 2008).

Estudos demonstram que, em termos globais, a deficiência de ferro afeta 50% das mulheres grávidas ou crianças com idade entre um e dois anos; 25%

Revisão Bibliográfica

das crianças em idade pré-escolar; 40% das crianças com idade escolar; 30-55% dos adolescentes; e 35% das mulheres em idade fértil (PINTO, 2008).

Dados gerais da América Latina e Caribe indicam uma prevalência de anemia de 40% nas mulheres grávidas e 30% nas não-grávidas (FABIAN et al, 2007).

Estimativa feita pela Organização Panamericana de Saúde, com base em estudos locais ou estaduais, aponta o Peru como o país com maior prevalência de anemia em toda América Latina, seguido do Caribe, com 57% e do Brasil, onde 35% das crianças de 1 a 4 anos eram anêmicas (NEUMAN et al, 2000).

Informações sobre a prevalência da anemia no Brasil ainda são poucas e dispersas. Dados apontam prevalências de anemia de até 50% em crianças de 6 a 60 meses, 15 a 30% em gestantes, 20% em mulheres em idade fértil e 20% em adolescentes (UMBELINO, ROSSI, 2006).

Sabe-se que as mulheres estão entre os grupos de alto risco para anemia ferropriva. Segundo Cançado et al (2007), ao analisar dados da OMS e de publicações nacionais, no Brasil, afirma que a deficiência de ferro acometa cerca de 20% da população feminina e cerca de 5% da população masculina, sendo que essas porcentagens tendem a ser ainda mais elevadas nas regiões mais pobres do País, como o Norte e o Nordeste.

Em estudo realizado por Fabian et al (2007), envolvendo mulheres na média de 39,5 anos, a prevalência de anemia foi de 19,2%. Restringindo-se a amostra apenas às mulheres em idade reprodutiva, a prevalência de anemia foi ainda maior, de 21,4%. Plante e colaboradores, em 2011, concluíram que, nas mulheres participantes do estudo, no Canadá, a anemia esteve presente em 43% e em 21% a anemia foi resultado da deficiência de ferro.

Em estudo com crianças no município de Criciúma, SC, encontrou-se uma prevalência de 54% de anemia, seguindo os critérios da OMS (NEUMAN et al, 2000). Das crianças analisadas no nordeste brasileiro, 92,4% apresentavam anemia e encontrou-se deficiência de ferro em 51,5% delas (LIRA et al, 2010).

Revisão Bibliográfica

No estudo de Ferrari et al (2011), a prevalência geral de anemia entre adolescentes europeus foi de 4,4%. Destes, o percentual de anemia por deficiência de ferro foi de 1,3%, com um valor (não significativamente) maior em meninas, e a anemia por outras causas, não sendo devido à deficiência de ferro, foi de 3,1%.

3.5 Diagnóstico

O exame físico clássico toma por base a presença de sinais clínicos e sintomas de anemia, tais como: palidez cutânea, da conjuntiva, dos lábios, da língua e das palmas das mãos, além de respiração ofegante, dificuldade na deglutição (disfagia), fraqueza (astenia) e perda de apetite (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007). Os critérios indicados pela OMS para diagnosticar anemia baseiam-se na concentração de Hb, considerando-se anêmicos homens, mulheres em idade fértil e gestantes com valores inferiores a 13 g/dL, 12 g/dL e 11 g/dL, respectivamente (PAIVA, RONDÓ, GUERRA-SHINOHARA, 2000). Para crianças, o nível de Hb é de 11,0 g/dL em menores de seis anos e 12 g/dL para crianças de 6 a 14 anos (QUEIROZ, TORRES, 2000).

Não há consenso internacional completo sobre os indicadores a serem utilizados para avaliar o estado de ferro, já que cada indicador tem suas próprias limitações devido a uma baixa sensibilidade ou especificidade, ou porque sofre alguma modificação em diferentes condições da deficiência de ferro (FERRARI et al, 2011).

A concentração de Hb é, atualmente, o parâmetro mais utilizado como indicativo das conseqüências fisiopatológicas da anemia. No entanto, essa medida não possui boa especificidade e sensibilidade para avaliar o estado

Revisão Bibliográfica

nutricional do ferro, uma vez que pode se encontrar alterada em diversas condições patológicas, como em processos infecciosos e inflamatórios, hemorragia, desnutrição protéico-calórica, uso de medicamentos e tabagismo (BARBOSA, ARRUDA, DINIZ, 2006).

Além da Hb, que é universalmente utilizada, outros parâmetros importantes são analisados no hemograma, dentre eles estão: o volume corpuscular médio (VCM), que avalia o tamanho médio dos eritrócitos; a amplitude de variação do tamanho dos eritrócitos ou red distribution width (RDW), que avalia a variabilidade no tamanho dos eritrócitos; a hemoglobina corpuscular média (HCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), que avaliam a concentração de hemoglobina no eritrócito (CARVALHO; BARACAT; SGARBIERI, 2006).

A anemia com presença de hemácias microcíticas e hipocrômicas (VCM<80fL e HCM<27pg) é característica de distúrbios na fase de hemoglobinizacão, o que pode ser decorrente da deficiência de ferro, mas também de outras condições como hemoglobinopatias e anemia da inflamação (GROTTO, 2010).

Portanto, parâmetros que avaliam o estado nutricional de ferro devem ser investigados. Apesar de a biópsia da medula óssea continuar sendo o padrão ouro para o diagnóstico (JOHNSON-WIMBLEY, GRAHAM, 2011), pois através dela é possível avaliar a hemossiderina presente na medula óssea, é considerado um método invasivo, e, portanto, não é apropriado para ser utilizado como triagem (PAIVA, RONDÓ, GUERRA-SHINOHARA, 2000).

Entre os testes bioquímicos, o nível de ferritina sérica (FS) é considerado o mais específico em relação às reservas de ferro corporal total, sendo uma medida útil por utilizar sangue periférico e apresentar forte correlação com o ferro depositado nos tecidos, além do fato de métodos com alta precisão serem utilizados nas análises (PAIVA, RONDÓ, GUERRA-SHINOHARA, 2000).

Os métodos para determinação da ferritina sérica atualmente utilizados são imunoenzimáticos, utilizando anticorpos anti-ferritina humana, através de

Revisão Bibliográfica

técnicas de ELISA ou eletroquimioluminescência, disponibilizados em reagentes comerciais (GROTTO, 2010).

A ferritina é uma proteína com massa molecular de aproximadamente 450kDa, que circunda um núcleo sólido formado por átomos de ferro e O₂. Seu substrato é o Fe⁺² que é oxidado a Fe⁺³ dentro da ferritina e representa o estoque de ferro nesta proteína. O ponto de corte que geralmente é aceito para o nível de ferritina sérica é 15 mg/L, abaixo do qual os estoques de ferro são considerados deficientes (SALDANHA, 2009). Porém, o nível de FS pode ser enganoso, na presença de inflamação aguda ou crônica, não podendo excluir-se a possibilidade de que haja deficiência de ferro mesmo quando a ferritina sérica é normal ou elevada, na presença de um processo inflamatório (JOHNSON-WIMBLEY, GRAHAM, 2011), pois trata-se de uma proteína de fase aguda, estando a síntese de apoferritina aumentada em condições inflamatórias, infecciosas e malignidade, principalmente devido ao estímulo das IL-1 e IL-6 (GROTTO, 2010).

O diagnóstico diferencial entre ADF e ADC requer uma cuidadosa avaliação do status de ferro corporal. Além disso, pode-se incluir um marcador de inflamação como a PCR, por ser encontrada em várias patologias e por estar presente após seis horas do início do processo inflamatório. A determinação dos níveis de PCR é recomendada também em processos infecciosos e inflamatórios crônicos (PAINO, 2008).

3.6 Controle e tratamento

Primeiramente, mudanças nos hábitos alimentares devem buscar o aumento do consumo de ferro, melhorando a ingestão de alimentos ricos neste mineral. Em agosto de 2001, o Ministério da Saúde decidiu tornar obrigatória a

Revisão Bibliográfica

fortificação com ferro de todas as farinhas de trigo e milho, disponíveis para a venda no mercado brasileiro, com valor correspondente a 30% da ingestão diária recomendada (IDR) de ferro, representando 4,2 mg de ferro em 100 g de farinha. Além disso, a utilização de suplementação medicamentosa com sais de ferro pode ser usada como medida de prevenção ou para tratar a anemia já instalada em indivíduos deficientes em ferro, sendo a forma de administração oral a de preferência (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007).

Os principais suplementos de ferro disponíveis e comercializados em diferentes países, inclusive no Brasil, são: sais ferrosos, sais férricos, ferro aminoquelado, complexo de ferro polimaltosado (ferripolimaltose) e ferro carbonila (CANÇADO, LOBO, FRIEDRICH, 2010).

Os suplementos de ferro mais utilizados são aqueles que contêm a forma de ferro ferroso, dado que é melhor absorvido do que o férrico. Os tipos de suplementos de ferro ferroso, normalmente administrados são o sulfato ferroso, fumarato ferroso e gluconato ferroso (JOHNSON-WIMBLEY, GRAHAM, 2011), que contêm 20%, 33% e apenas 12% de ferro elementar, respectivamente (CANÇADO, LOBO, FRIEDRICH, 2010).

Entre eles, o sulfato ferroso (Fe SO_4) é um dos mais utilizados e de menor custo, sendo absorvido rapidamente em situações ideais de administração. Apesar de normalmente ser o medicamento de escolha, possui como limitantes as intercorrências gastrointestinais e a interferência da dieta na absorção do sal de ferro. Pode ser usado na forma de tabletes ou solução líquida, sendo esta última mais indicada no caso de crianças (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007).

Após estudo comparativo, Farias et al (2008), concluíram que a administração de ferro carbonila (CA) na forma de comprimidos mastigáveis, como alternativa para melhor adesão ao tratamento de crianças com anemia ferropriva, obteve melhor aceitação, em relação ao sulfato ferroso em solução (SF), tradicionalmente utilizado. Além disso, ao final do estudo, 67% das crianças recebendo CA e 41% do grupo SF não apresentavam mais anemia.

A dose diária recomendada de tratamento por parte dos Centros para

Revisão Bibliográfica

Controle e Prevenção de Doenças varia de 150 mg / dia a 180 mg / dia de ferro elementar administrada em doses divididas duas a três vezes por dia (JOHNSON-WIMBLEY, GRAHAM, 2011).

Ferro administrado por via intravenosa é uma abordagem para a reposição das perdas de ferro em pacientes com sangramento gastrointestinal crônico em que a perda de sangue superior a 10 ml / dia (cerca de 5 mg de ferro). A suplementação com ferro oral fornece 60-80 mg de ferro / dia, enquanto que o ferro intravenoso fornece 80-160 mg de ferro / dia (JOHNSON-WIMBLEY, GRAHAM, 2011). As três principais formas disponíveis são: ferro com dextran (o mais usado nos Estados Unidos), o gluconato de ferro sódico (disponível na Europa e Estados Unidos) e o sacarato de ferro (disponível no Brasil – sacarato de hidróxido de ferro III, Noripurum[®]) (THOMÉ, 2000).

Nos casos de anemia de doença crônica, a presença da anemia é também chamada de anemia secundária, por ser um dos sinais ou sintomas associados à doença de base. Por isso é considerada uma anemia refratária à terapêutica anti-anêmica, e a sua melhora coincide com a da doença básica (NASCIMENTO, 2010).

3.7 Proteína C-Reativa (PCR) e Inflamação

A proteína C-reativa (PCR) é um marcador de inflamação sistêmica, muito utilizada na abordagem clínica das doenças inflamatórias (BRAGA, 2004). A PCR aparece como resposta de fase aguda frente a dano tecidual, infecção, inflamação e neoplasia maligna (PEPYS, HIRSCHFIELD, 2003), aumentando rapidamente sua concentração e permitindo a detecção destas antes mesmo do diagnóstico clínico (HADLER, JULIANO, SIGULEM, 2002). A PCR é encontrada apenas em pouca quantidade em pessoas saudáveis (JOHNSON, 1990).

Essa proteína foi assim nomeada por causa de sua capacidade de precipitar o polissacarídeo C somático de *Streptococcus pneumoniae*, sendo a

Revisão Bibliográfica

primeira proteína de fase aguda a ser descrita e considerada um sensível marcador sistêmico de inflamação e lesão dos tecidos (PEPYS, HIRSCHFIELD, 2003).

A principal função biológica da PCR é reconhecer e promover a defesa contra patógenos, como bactérias, e eliminar células necróticas e apoptóticas, tendo importante papel na imunidade inata de defesa do hospedeiro (BRAGA, 2004).

A PCR humana tem um peso de 115 a 135 Da e é formada por cinco polipeptídios não glicosilados idênticos. É esta estrutura protéica que reconhece os resíduos fosfocolina do polissacarídeo C do *Streptococcus pneumoniae*, assim como outros ligandos intrínsecos e extrínsecos, formando complexos capazes de ativar a via clássica e a via alternativa do sistema do complemento (PÓVOA, 2005). Ela interage com os receptores das células levando ao aumento da secreção das citocinas proinflamatórias que por sua vez intensificam a resposta inflamatória (BRAGA, 2004).

Nos adultos saudáveis a concentração plasmática da PCR apresenta uma média de 8 mg/L, sendo menor do que 10 mg/L em 99% dos indivíduos saudáveis. Após um estímulo inflamatório, a concentração pode ultrapassar os 50 mg/dL. As elevadas concentrações de PCR persistem enquanto o estímulo existir (PÓVOA, 2005).

A ADC incide em indivíduos com patologias inflamatórias crônicas devido aos elevados níveis de citocinas inflamatórias, que interferem na utilização da eritropoetina e no metabolismo do ferro (VICARI, FIGUEIREDO, 2010). Esse aumento na produção de citocinas, por sua vez, causa uma elevação na concentração de proteína C-reativa (PCR), que é um marcador inflamatório (THOMAS, THOMAS, 2002).

Portanto, doenças crônicas são caracterizadas por níveis elevados de marcadores inflamatórios como a interleucina-6 (IL-6) e PCR, podendo este estado inflamatório, ser capaz de promover o desenvolvimento de anemia. (FERRUCCI et al, 2010).

3.8 Produtos de Oxidação Avançada de Proteínas (AOPP) e Estresse Oxidativo

Radicais livres são moléculas que possuem um ou mais elétrons desemparelhados, que podem estar centrados em um átomo de hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, carbono, enxofre ou metais de transição. Essas espécies radiculares estão envolvidas nos mecanismos de reações inflamatórias ou atuam como segundos mensageiros para manter diversas funções celulares (ROVER JÚNIOR, HÖEHR, VELLASCO, 2001). É este não-emparelhamento de elétrons da última camada que confere alta reatividade a esses átomos ou moléculas (FERREIRA, MATSUBARA, 1997).

Os radicais livres cujo elétron desemparelhado encontra-se centrado nos átomos de oxigênio ou nitrogênio são denominados espécies reativas de oxigênio (EROs) ou espécies reativas de nitrogênio (ERNs), respectivamente (VISIOLI, KEANEY, HALLIWELL, 2000). O organismo humano sofre ação constante de ERO e ERN geradas em processos inflamatórios, por alguma disfunção biológica ou proveniente dos alimentos (BARREIROS, DAVI, 2006). Essas espécies, altamente reativas, são subprodutos produzidos normalmente e constantemente durante o metabolismo celular, os quais podem ocasionar danos a proteínas, lipídios e DNA (BACCIN, 2008). Esses átomos são produzidos pela mieloperoxidase liberada pelos neutrófilos ativados, através de desequilíbrio nos mecanismos antioxidantes, como ações inadequadas das enzimas antioxidantes, auto-oxidação e acúmulo de metabólitos não eliminados pelos fagócitos (BRAGA, 2004).

O Estresse Oxidativo está envolvido na patogênese de diversas doenças, podendo ser a causa ou o fator agravante do quadro geral (BARREIROS, DAVI, 2006). É caracterizado como um desequilíbrio, proveniente de um aumento de radicais livres ou de uma diminuição das defesas antioxidantes do organismo (AKINCI et al, 2008), o que gera um estado pró-oxidante que favorece a ocorrência de lesões oxidativas em

Revisão Bibliográfica

macromoléculas e estruturas celulares, modificando sua estrutura ou função, inclusive podendo resultar na morte celular (ROVER JÚNIOR, HÖEHR, VELLASCO, 2001).

A ocorrência desse fenômeno vem sendo observada em processos inflamatórios e imunológicos associados, como na insuficiência renal, em doenças neurológicas, reumatológicas e cardíacas, levando à oxidação de moléculas como proteínas, lipídios, açúcares e ácido desoxirribonucléico (DNA) (BRAGA, 2004).

Para proteger o organismo existem sistemas de defesa antioxidante, como enzimas específicas que inativam algumas das ERO, como por exemplo, a catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutathiona peroxidase (GSH-Px), que atuam como detoxificadoras do agente antes que ele cause lesão (FERREIRA, MATSUBARA, 1997).

O eritrócito humano é uma célula simples, com vida média em torno de 120 dias na circulação periférica. Os eritrócitos são responsáveis pelo transporte de oxigênio (O_2) e gás carbônico (CO_2), através da hemoglobina, e devido a isso, estão constantemente expostos às EROs e ao estresse oxidativo (JOZWIK et al., 1997).

Apesar de os eritrócitos serem equipados por eficazes sistemas de defesa antioxidante, enzimáticos e não-enzimáticos (BACCIN, 2008), é relatado que essa capacidade antioxidante torna-se reduzida na anemia ferropriva (ISLER et al, 2002). Pacientes com anemia ferropriva apresentam distúrbios no sistema de defesa antioxidante e redução na imunidade celular, o que pode contribuir para uma inadequada sobrevivência do eritrócito (ISLER et al, 2002).

Estudos também têm demonstrado que eritrócitos deficientes em ferro, além de terem conteúdo inadequado de hemoglobina, também apresentam maior rigidez da membrana e maior susceptibilidade à hemólise causada por inibidores de grupamento sulfidril e por peróxido de hidrogênio (BACCIN, 2008).

O ferro faz parte da composição das flavoproteínas e das heme proteínas catalase e peroxidase (presentes nos eritrócitos e hepatócitos).

Revisão Bibliográfica

Essas enzimas podem ser apontadas como responsáveis pela redução do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) produzido no organismo (QUEIROZ, TORRES, 2000).

A oxidação dos eritrócitos tem sido estudada como um modelo de dano oxidativo de biomembranas. Tem sido demonstrado, por exemplo, que os radicais livres atacam as membranas de eritrócitos para induzir a oxidação de lipídios e proteínas e, eventualmente, podem levar à hemólise (KONDO, TAKAHASHI, NIKI, 1997).

A identificação e quantificação direta das EROs seria a forma lógica de analisar a presença de estresse oxidativo, porém, não é praticável, porque as EROs têm meia-vida biológica muito curta e concentrações muito baixas. Por isso, opta-se pela análise de produtos finais da oxidação, que são mais estáveis e que, portanto, podem ser usados como biomarcadores, uma vez que correspondem ao resultado da ação do estresse oxidativo sobre biomoléculas importantes, como proteínas, lipídios e DNA (TEIXEIRA, 2010).

Um novo marcador denominado de Produto da Oxidação Avançada de Proteínas (AOPP) foi descrito pela primeira vez por WITKO-SARSAT e colaboradores, em 1996, após ser detectado no plasma de pacientes urêmicos crônicos. O AOPP é gerado através da ação do estresse oxidativo sobre proteínas e aminoácidos, pela ação de oxidantes clorados, principalmente ácido hipocloroso e cloraminas (KALOUSOVÁ, SKRHA, ZIMA, 2002).

Esses oxidantes são produzidos pela mieloperoxidase liberada pelos neutrófilos ativados, através de um desequilíbrio nos mecanismos antioxidantes, como ações inadequadas de enzimas, autooxidação e acúmulo de metabólitos não eliminados pelos fagócitos. Como consequência, esses radicais livres e ROS agem sobre as proteínas produzindo' AOPP (BRAGA, 2004).

Vários estudos têm relacionado AOPP com diferentes doenças, como: Diabetes mellitus (KALOUSOVÁ, SKRHA, ZIMA, 2002), Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA) (WITKO-SARSAT et al., 1998); Doença de Alzheimer (MARKESBERRY, 1997), em neonatos prematuros (BUONOCORE

Revisão Bibliográfica

et al., 2002), e em situações específicas como a gravidez (FIALOVA et al., 2003) e sugerido como provável fator patogênico na aterosclerose (KANEDA et al., 2002). O AOPP é considerado um marcador fidedigno para estimar o grau de dano protéico mediado por oxidação (BRAGA, 2004).

Em pacientes com HIV, doença marcada por um estado de desregulação imune profunda, observou-se níveis plasmáticos muito elevados de AOPP. Nessa condição clínica, caracterizada por um acentuado estresse oxidativo, na ausência de insuficiência renal, o AOPP mostrou-se um requintado marcador de estresse oxidativo, correlacionado com o grau de ativação de monócitos (WITKO-SARSAT et al, 1998).

O aumento da formação de AOPP tem sido associado e reconhecido como um marcador precoce e fator de prognóstico para numerosas condições patológicas. A utilização da concentração de AOPP na monitorização de pacientes em estado crítico também tem sido proposta (BRAGA, 2004).

Ao contrário do que ocorre com os lipídios, as reações de proteínas com diversos oxidantes não têm sido extensivamente estudadas, e muitas vezes considerou-se o fato de que as proteínas não seriam suscetíveis a danos causados pelos radicais livres. Esta hipótese foi invalidada, e agora está claro que os aminoácidos, peptídeos e proteínas são vulneráveis a ataques por uma variedade de radicais livres e oxidantes relacionados (WITKO-SARSAT et al, 1996). A literatura apresenta escassez de relatos de estudos sobre a presença de AOPP em pacientes com anemia, patologia com dados controversos quanto ao tema estresse oxidativo, pois já foi descrito que esse estado pode produzir estresse oxidativo, apesar da presença de mecanismos protetores anti-oxidantes.

Métodos

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e pesquisa (CEP) sob registro no CAAE. - 0281.0.243.000-10.

O delineamento desse estudo baseia-se em uma análise transversal.

4.1 Coletas das amostras e preparação

Essa pesquisa foi realizada com amostras de pacientes do Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), no município de Santa Maria/RS, obtidas no período entre junho e dezembro de 2010. Foram incluídos todos os pacientes que, pela análise hematológica, apresentaram características de anemia microcítica e hipocrômica, apresentando os seguintes resultados: Hb menor que 13g/dL para homens, menor que 12g/dL para mulheres e menor que 11g/dL para crianças e VCM menor que 85 fentolitros. Foram excluídos pacientes portadores do vírus HIV, câncer, LES (Lúpus Eritematoso Sistêmico), diabetes mellitus, insuficiência renal e gestantes.

Foram obtidas amostras de 70 pacientes que compareceram ao Laboratório de Análises Clínicas (LAC) do HUSM, para realização de exames de hemograma e análises bioquímicas. Após a realização do hemograma, as amostras de sangue total foram centrifugadas a 3000 RPM durante 15 minutos, para obtenção de plasma. Alíquotas de soro desses pacientes foram obtidas do setor de Bioquímica do LAC-HUSM.

Dos 70 pacientes portadores de anemia microcítica e hipocrômica, incluídos no estudo, 29 (41,43%) foram diagnosticados como anemia ferropriva (13 homens e 16 mulheres, com idade média de 39 anos) e 41 (58,57%) com anemia de doença crônica (25 homens e 16 mulheres, com idade média de 48 anos). A análise dos níveis de ferritina sérica foi utilizada como fator auxiliar no diagnóstico diferencial, sendo classificados como anemia ferropriva os pacientes com ferritina abaixo dos valores de referência e como anemia de doença crônica de causa desconhecida (já que foram excluídos pacientes pertencentes à grupos bem caracterizados como causadores de ADC), quando a ferritina apresentou-se elevada. Para controles foram utilizadas amostras de

Métodos

indivíduos com valores normais de hemograma e de ferritina, sem doença de base conhecida, totalizando 44 amostras (18 homens e 26 mulheres, com idade média de 43 anos).

4.1 Hemograma

A análise dos dados hematológicos foi realizada através do hemograma, nas amostras de sangue total, coletadas em tubo contendo EDTA, processadas em analisador hematológico automatizado, o Sysmex[®] (Automated Hematology Analyzer; Kobe, Japan), que fornece os valores da contagem total de eritrócitos, a porcentagem de hematócrito, a concentração de hemoglobina e dos índices hematimétricos, como volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração da hemoglobina corpuscular (CHCM) e Red Cell Distribution Width (RDW).

4.2 Ferritina sérica

O doseamento quantitativo da ferritina no soro foi feito em analisador IMMULITE[®], por imunoenensaio de quimioluminescência.

4.3 Proteína C-Reativa (PCR):

A dosagem de PCR foi realizada no soro através do sistema automatizado Cobas MIRA[®] (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland) através de método imunoturbidimétrico. Os reagentes utilizados foram do PCR Bioclin.

4.4 Produtos de Oxidação Avançada de Proteínas:

A medida do AOPP foi realizada em plasma, através do sistema automatizado Cobas MIRA® (Roche Diagnostics Basel, Switzerland), conforme o método descrito por Selmeçci et al (2005).

4.5 Análise estatística:

A análise estatística dos dados foi realizada através da utilização do programa estatístico GraphPad Prism 5 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA). A análise de variância (ANOVA) foi empregada para investigar a presença de diferença significativa entre os grupos. Posteriormente, o teste de Tukey foi aplicado. Os resultados foram expressos em média \pm erro padrão da média (EPM).

Resultados

5.1 Parâmetros Hematológicos

Os resultados apresentados na Tabela 1 demonstram que houve uma diminuição significativa nos níveis de Hb, HCM, CHCM, VCM e RDW nos pacientes com anemia ferropriva e anemia de doença crônica quando comparados ao grupo controle ($p < 0.0001$). Além disso, os pacientes com anemia ferropriva mostraram valores significativamente menores de HCM, CHCM e VCM quando comparados aos pacientes com anemia de doença crônica ($p < 0.0001$).

Tabela 1. Dados hematológicos referentes aos grupos controle, anemia ferropriva e anemia de doença crônica.

	Controle (n=44)	Anemia Ferropriva (n=29)	Anemia de Doença Crônica (n=41)
Hb (g/dL)	13.92±0.0985	9.07±0.4153*	8.80±0.2325*
HCM (pg)	30.41±0.1124	20.68±0.7628*#	24.24±0.3917*
CHCM (%)	32.89±0.0972	29.27±0.4287*#	31.13±0.2261*
VCM (micra³)	92.53±0.2818	70.47±1.1958*#	77.82±0.8944*
RDW (%)	12.84±0.06298	20.39±2.1610*	18.24±0.4342*

Hb: hemoglobina; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média; VCM: volume corpuscular médio; RDW: red distribution width. (* $p < 0.0001$ comparados ao controle; # $p < 0.0001$ comparado à anemia de doença crônica). Diferença estatisticamente significativa avaliada através de ANOVA de uma via seguida de Teste de Tukey.

Os dados relacionados aos itens 5.2 FS; 5.3 PCR e 5.4 AOPP encontram-se na Tabela 2, com representação gráfica nas Figuras 1, 2 e 3.

5.2 Ferritina sérica (FS):

Os resultados encontrados para a dosagem de ferritina foram significativamente menores no grupo de anemia ferropriva quando comparados ao grupo controle ($p < 0.0001$). Por outro lado, os pacientes com anemia de doença crônica apresentaram níveis significativamente elevados de FS quando comparados aos grupos controle e com anemia ferropriva ($p < 0.0001$).

5.3 PCR:

Observou-se um aumento nos níveis de PCR no grupo de anemia de doença crônica quando comparado aos grupos controle e de anemia ferropriva ($p < 0.0001$). Já os pacientes com anemia ferropriva não apresentaram diferença significativa na análise deste parâmetro.

5.4 AOPP:

Os valores encontrados na análise do AOPP em nosso estudo demonstraram um aumento nos níveis desse marcador nos pacientes com ambos os tipos de anemia, quando comparados ao grupo controle ($p < 0.01$).

Resultados

Tabela 2. Resultados relativos à Ferritina sérica (FS), Proteína C-reativa (PCR) e Produtos de Oxidação Avançada de Proteínas (AOPP), referentes aos grupos controle, anemia ferropriva e anemia de doença crônica.

	Controle (n=44)	Anemia Ferropriva (n=29)	Anemia doença crônica (n=41)
FS (ng/mL)	178.30±24.87	7.35±0.92*	370.30±42.29* #
PCR (mg/L)	9.086±3.86	16.34±5.24	99.26±16.31*#
AOPP (µmol/L)	82.08±5.45	123.0±16.61**	123.40±11.84**

(*p<0.0001 quando comparado ao controle; **p< 0.01 comparado ao controle; #p<0.0001 comparado aos resultados da anemia ferropriva). Diferença estatisticamente significativa avaliada através de ANOVA de uma via seguida de Teste de Tukey.

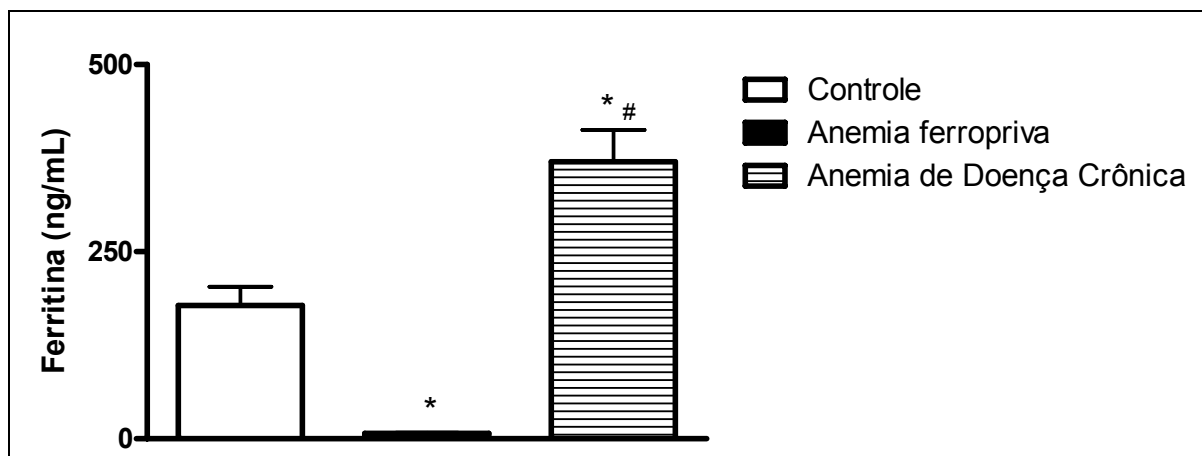


Figura 1: Níveis de ferritina presentes nos grupos controle, anemia ferropriva e anemia de doença crônica.

*p< 0.0001 comparado ao grupo controle.

p< 0.0001 comparado ao grupo de anemia ferropriva

(ANOVA de uma via seguida de Tukey's Multiple Comparison Test)

Resultados

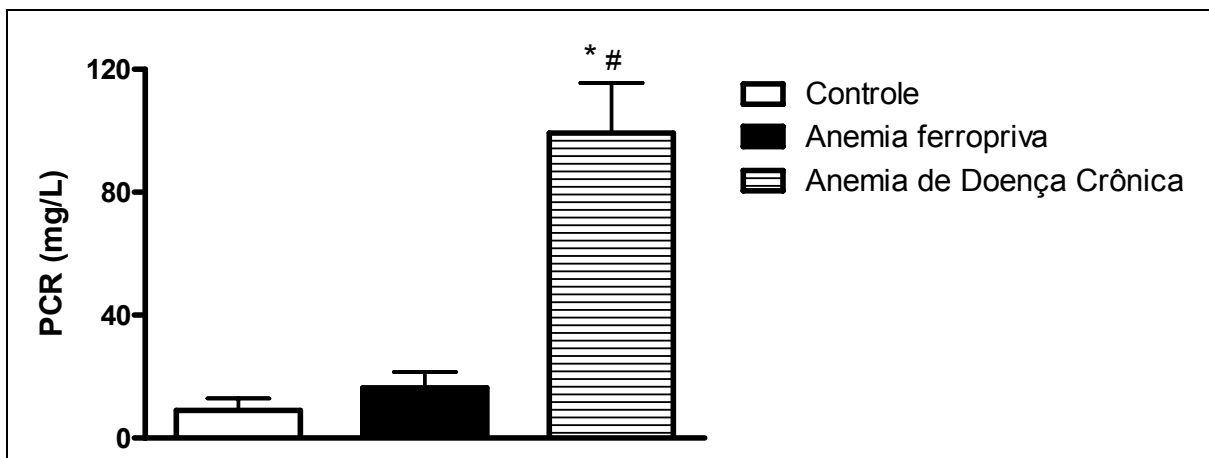


Figura 2: Níveis de PCR presentes nos grupos controle, anemia ferropriva e anemia de doença crônica.

* $p < 0.0001$ quando comparado ao grupo controle

$p < 0.0001$ qdo comparado ao grupo de anemia ferropriva

(ANOVA de uma via seguido de Tukey's Multiple Comparison Test)

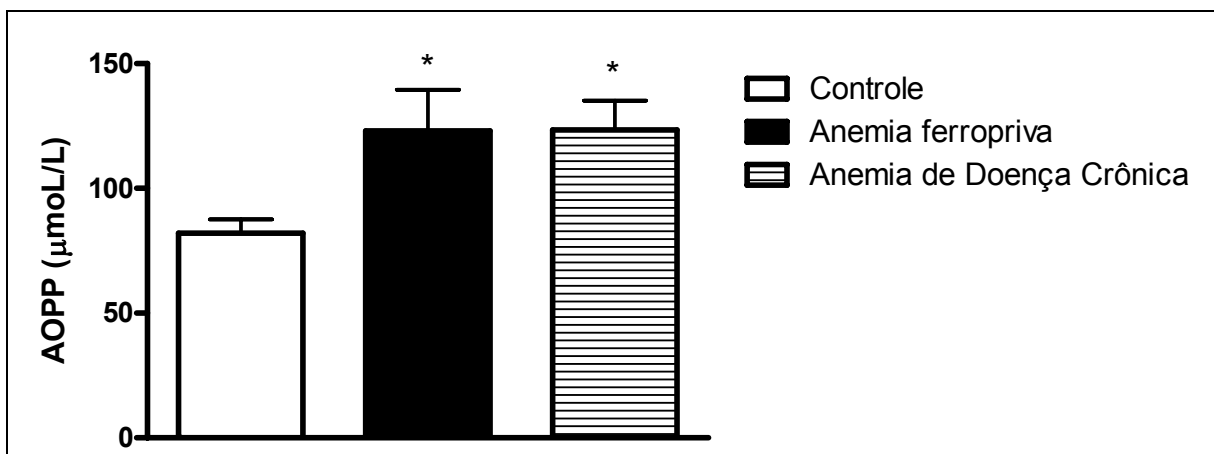


Figura 3: Níveis de AOPP presentes nos grupos controle, anemia ferropriva e anemia de doença crônica.

* $p < 0.01$ quando comparado ao grupo controle

(ANOVA de uma via seguido de Tukey's Multiple Comparison Test)

Discussão

Através do hemograma, foi possível concluir que, em comparação ao grupo controle, todos os dados hematológicos avaliados (hemoglobina, RDW, VCM, HCM e CHCM) apresentaram-se significativamente menores ($p < 0.0001$) nos dois grupos de anêmicos estudados.

Utilizamos a dosagem da concentração sanguínea de hemoglobina por ser mais confiável que os níveis de hematócrito, para definir anemia (RIBEIRO-ALVES, GORDAN, 2007). Esses dados demonstraram que, nos dois grupos com anemia, os valores de hemoglobina estão abaixo dos recomendados, independente da causa, pois não houve diferença significativa entre eles.

A maior quantidade de Ferro do organismo encontra-se na hemoglobina (PINTO, 2008), portanto, sua deficiência na AF, explica a ocorrência de síntese anormal de hemoglobina. Além disso, macrófagos ativados por sinais inflamatórios na ADC, são responsáveis pela eliminação acelerada de eritrócitos, pela redução do tempo de vida das hemácias e pela diminuição da concentração de Hb (BÁRÁNY, 2001).

Os valores de HCM e CHCM permitem identificar a quantidade de hemoglobina existente dentro da hemácia, classificando-a em hipocrômica, normocrômica ou hiperocrômica (RIBEIRO-ALVES, GORDAN, 2007). Os valores desses parâmetros diminuídos indicam presença de hipocromia nos dois grupos com anemia, apresentando maiores alterações na anemia ferropriva, visto que o HCM e o CHCM foram significativamente menores nesse grupo.

Semelhante ao nosso estudo, Barbosa et al, em 2006, utilizando o CHCM como indicador de severidade da deficiência de ferro, demonstrou que, dos casos de anemia ferropênica em idosos, a maioria apresentou expressiva alteração de CHCM, com valores diminuídos, sugestiva de um quadro de carência severa e evidente hipocromia.

Analisando o VCM, a diferença foi significativa tanto nos grupos de anemia em relação ao controle, quanto entre si. Sendo o VCM o volume corpuscular médio, esse resultado demonstra que o tamanho médio das hemácias na anemia ferropriva é menor, sendo a microcitose mais evidente. Na anemia de doença crônica, a microcitose, quando ocorre, não é tão acentuada

Discussão

como na anemia ferropriva, sendo que o VCM raras vezes se encontra abaixo de 72 fentolitros (fL) (CARVALHO, BARACAT, SGARBIERI, 2006).

O VCM abaixo de 80 fL parece ser um indicador confiável da redução da síntese de hemoglobina. Entretanto, esse indicador, por considerar o tamanho médio das células vermelhas, não fornece uma idéia da variabilidade do tamanho dessas células no sangue periférico. Por isso, deve ser utilizado em conjunto com o RDW. (PAIVA, RONDÓ, GUERRA-SHINOHARA, 2000).

O VCM indica a média do tamanho dos eritrócitos e os classifica em normocíticos, macrocíticos ou microcíticos, e o RDW indica a interpretação da população de células eritróides, no que diz respeito à homogeneidade ou não da distribuição morfológica da massa eritrocitária (BARBOSA, ARRUDA, DINIZ, 2006).

O RDW foi elevado nos dois grupos de pacientes com anemia, o que mostra a heterogeneidade de distribuição do tamanho dos eritrócitos (MATOS et al, 2008), resultando na coexistência de eritrócitos normocíticos e microcíticos presentes no sangue periférico (MELO et al, 2002), fato que não ocorreu nos pacientes do grupo controle.

Diferenças entre a distribuição de tamanhos dos eritrócitos (RDW) têm sido descritas, com maior anisocitose em casos de anemia ferropriva (MELO et al, 2002). Outros trabalhos demonstraram que o RDW apresenta pequeno poder discriminatório e contribuição limitada na diferenciação dos estados microcíticos, como no estudo realizado por Matos e colaboradores em 2008, em que não foi verificada diferença significativa para o RDW entre os três grupos de anemias microcíticas avaliadas, indicando ter este índice uma limitada utilidade para a diferenciação entre anemia ferropriva, talassemia menor e anemia de doença crônica.

Em nosso estudo o RDW, apesar de ter sido mais elevado na anemia ferropriva, não demonstrou ser um parâmetro discriminatório entre os grupos de anemias microcíticas, pois quando foram comparados, não houve diferença significativa entre seus valores na anemia ferropriva e de doença crônica.

A anemia ferropriva apresenta dificuldades em seu diagnóstico quando

Discussão

analisados apenas os índices hematimétricos, devendo ser realizada uma investigação laboratorial complementar para um diagnóstico mais apropriado (MELO et al, 2002). Por isso utilizamos a dosagem de ferritina sérica, para avaliação dos estoques corporais de ferro, e a PCR para avaliar a presença ou não de processo inflamatório.

Observou-se que nos pacientes com anemia ferropriva a ferritina esteve diminuída, abaixo do valor de referência, já nos pacientes com anemia de doença crônica tanto a ferritina quanto a PCR são elevadas.

Em estudo realizado por Saldanha (2009) o valor médio de ferritina encontrado para indivíduos aparentemente saudáveis foi de 167,18 ng/dL para homens e de 81,55 ng/dL para mulheres. A média da ferritina dos indivíduos utilizados como controle nesse estudo ficou nessa faixa, sendo de 178,3ng/dL.

A dosagem de ferritina sérica é um importante indicador dos estoques de ferro do organismo, pois é diretamente proporcional à quantidade dos níveis de ferro corporal (QUEIROZ, TORRES, 2000). Valores reduzidos da concentração de ferritina sérica são um forte indicador de depleção de ferro, e valores elevados podem ser observados na presença de inflamações, infecções, neoplasias, doenças hepáticas, leucemias, ingestão de álcool e hipertireoidismo (PAIVA, RONDÓ, GUERRA-SHINOHARA, 2000).

Nos pacientes com anemia ferropriva, os níveis de ferritina encontrados foram abaixo dos valores de referência, o que significa deficiência dos estoques de ferro (BERMEJO, GARCIA-LOPEZ, 2009).

A perturbação da homeostase do ferro é a principal característica da ADC, pois este é retido no sistema fagocítico mononuclear, o que ocasiona uma diversificação do tráfego do ferro, da circulação para o compartimento de estoque (PAINO, 2008). Por isso, nos casos de ADC, a ferritina encontrou-se aumentada, mas isso não significa que haja um estoque adequado de ferro, sendo necessários outros exames laboratoriais, para auxiliarem no diagnóstico (RIBEIRO-ALVES, GORDAN, 2007).

Discussão

O que ocorre é que a ferritina, além de ser a principal molécula de armazenamento para o ferro, é também um reagente de fase aguda, ou seja, a sua concentração sérica tende a aumentar moderadamente, na presença de inflamação. Esses achados indicam que a ferritina sérica pode ser considerada tanto uma medida das reservas de ferro quanto um marcador inflamatório (RAMBOD, KOVESDY, KALANTAR-ZADEH, 2008).

Na patogênese da anemia de doença crônica atuam pelo menos três mecanismos: alterações na eritropoese, diminuição da sobrevivência das hemácias e resposta inadequada da medula à hemólise. Quanto às alterações na eritropoese, a ocorrência de um bloqueio na liberação do ferro dos macrófagos, levando à diminuição do ferro disponível para a síntese da hemoglobina, parece ser o principal fator relacionado a estas alterações (CARVALHO, BARACAT, SGARBIERI, 2006).

Na ADC, os níveis de ferritina refletem não só o aumento de estoque e a retenção de ferro pelo SRE (sistema retículo endotelial), mas também o aumento de ferritina devido à ativação imune. Quanto maior o componente inflamatório da doença do paciente, maior será a ferritina (FIGUEIREDO, 2010). A ferritina começa a subir dentro de horas após o início da doença e pode permanecer elevada por várias semanas, mesmo se a doença regredir (JHONSON, 1990).

Enquanto que na AF, o fornecimento de ferro depende da quantidade dos estoques, na ADC a oferta depende de sua taxa de mobilização, podendo ocorrer deficiência funcional de ferro mesmo na presença de grandes estoques, quando sua liberação é prejudicada (THOMAS, THOMAS, 2002).

A Ferritina sérica é considerada uma proteína de fase aguda e pode aumentar seus níveis de duas a quatro vezes em resposta à inflamação (BÁRÁNY, 2001).

Discussão

As anemias adquiridas estão relacionadas a processos infecciosos e inflamatórios, em que a presença de citocinas, como a interleucina 6 (IL-6), bloqueia a ação da ferroportina, resultando em acúmulo de ferro nos hepatócitos e macrófagos e elevação da ferritina. Por um mecanismo de autorregulação há redução na absorção do ferro da dieta, levando à eritropoiese reduzida, pela produção inadequada de hemoglobina (SALDANHA, 2009).

Em relação à PCR, houve diferença significativa ($p < 0.0001$) apenas na ADC, apresentando níveis elevados quando comparada tanto ao controle quanto à anemia ferropriva. Isso porque na ADC ocorre ativação dos sistemas imune e inflamatório, com aumento da produção de citocinas, que, por sua vez, aumentam também a concentração de proteína C-reativa (THOMAS, THOMAS, 2002).

No estudo de Lira (2010), a concentração de ferritina foi significativamente maior em crianças que apresentaram proteína C-reativa aumentada, quando comparada com as que tiveram níveis normais da PCR. Em nosso estudo, observamos essa mesma relação positiva.

Embora a PCR raramente tenha valor diagnóstico específico, sua medida pode ser útil para diferenciar anemia por deficiência de ferro de doenças crônicas (JOHNSON, 1990).

Os resultados relacionados ao AOPP indicam que ambos os grupos com anemia apresentaram níveis aumentados desse marcador, em relação ao grupo controle ($p < 0.01$), o que indica a presença de estresse oxidativo na anemia, independente da causa, pois houve diferença significativa apenas entre os grupos de anemia em relação ao controle, mas não entre si.

A literatura oferece dados contraditórios e limitados sobre o estresse oxidativo e defesa antioxidante em pacientes com anemia ferropriva (ISLER et al, 2002). Dois possíveis fatores podem elevar a taxa de peroxidação lipídica: o aumento na produção de radicais livres e o declínio das atividades das enzimas do sistema de defesa antioxidante dos eritrócitos (AMIRKHIZI, 2008).

Discussão

Eritrócitos são equipados com um sistema de defesa antioxidante altamente eficaz. No entanto, é relatado que essa capacidade antioxidante é reduzida na AF, levando a aumento de peroxidação lipídica (ISLER et al, 2002).

A deficiência de ferro não afeta apenas a produção de Hb, mas também a produção de outras proteínas contendo ferro, tais como mioglobina, citocromos, catalase e peroxidase (BACCIN, 2008). Comprometimento do sistema de defesa antioxidante e redução da imunidade celular e da atividade da mieloperoxidase foram previamente relatados em pacientes com anemia ferropriva (ISLER et al, 2002).

Bartal et al (1993) relataram que eritrócitos de pacientes com anemia ferropriva foram mais suscetíveis à oxidação, mas tiveram boa capacidade de recuperação. Outras pesquisas, como a de Isler e colaboradores (2002), mostraram diminuição de atividades de enzimas antioxidantes, como SOD, GSH-Px e catalase, em pacientes com anemia ferropriva, o que pode ser causado por nutrição insuficiente e estresse oxidativo sob condição de hipóxia.

A auto-oxidação constante da hemoglobina gera radicais superóxido, que através da dismutação espontânea ou enzimática, gera peróxido de hidrogênio (AMIRKHIZI, 2008).

Pesquisas sugerem que eritrócitos deficientes em ferro apresentam alterações, que podem gerar um defeito metabólico, permitindo que o dano oxidativo na membrana possa ocorrer. (BACCIN, 2008).

Em seu estudo, Amirkhizi (2008) demonstrou que a atividade da enzima SOD diminuiu significativamente no grupo com anemia ferropriva, o que pode estar relacionado ao aumento do estresse oxidativo, pois sabe-se que espécies reativas de oxigênio, especialmente peróxido de hidrogênio, inibem a atividade da SOD. Os níveis plasmáticos de TAC (capacidade antioxidante total) também foram investigados e revelaram-se mais baixos em mulheres com deficiência de ferro do que em mulheres saudáveis. Esses dados indicam que a atividade das enzimas eritrocitárias

Discussão

citoprotetoras diminuem na anemia ferropriva, havendo um aumento do estresse oxidativo.

Como na ADC há uma deficiência funcional, por haver uma inadequada utilização do ferro (NASCIMENTO, 2010), presume-se que, assim como na anemia ferropriva, também possa haver uma deficiência na produção das enzimas do sistema de defesa antioxidante, possibilitando a ocorrência de estresse oxidativo.

Além disso, sugere-se que, na anemia, devido à baixa concentração de hemoglobina, ocorra um excesso de cadeias globínicas que se auto-oxidam, produzindo superóxido oito vezes mais que a hemoglobina normal (BACCIN, 2008).

Porém, maiores estudos devem ser realizados a fim de elucidar este mecanismo, pois os dados do presente estudo, sugerem que tanto na AF quanto na ADC, os mecanismos anti-oxidantes não foram suficientes para que ocorresse a compensação do estresse oxidativo provocado nessas patologias.

A partir dos resultados obtidos, podemos concluir que:

- Em relação ao hemograma, apenas o volume corpuscular médio (VCM) e os parâmetros que avaliam a concentração de hemoglobina presente na hemácia (HCM e CHCM), foram significativamente menores na anemia ferropriva em relação à anemia de doença crônica, indicando que a microcitose e a hipocromia, respectivamente, são mais evidentes na anemia ferropriva.

- A diminuição do fornecimento de ferro na anemia ferropriva, devido ao aumento nas perdas ou à ingestão e/ou absorção inadequada, levam a uma deficiência deste mineral, refletida na diminuição dos estoques, na forma de ferritina. Na anemia de doença crônica, há uma inadequada utilização do ferro, pois este fica armazenado nos compartimentos de estoque, aumentando os níveis de ferritina, o que pode refletir a presença de um processo inflamatório.

- A PCR é uma medida útil na diferenciação entre anemia ferropriva e anemia de doença crônica, pois nesta, essa proteína encontra-se aumentada, devido às citocinas inflamatórias presentes.

- O AOPP esteve presente nos dois grupos de pacientes portadores de anemia, indicando a presença de estresse oxidativo em ambos. Por ser considerado um marcador fidedigno para estimar o grau de dano protéico, mediado por oxidação, em estados patológicos já relatados, deve-se ter o cuidado para também levar em consideração o nível de anemia em que se encontra o paciente, para assim validar a utilidade desse marcador. Entretanto, mais análises devem ser incluídas para melhor esclarecimento desse fenômeno.

Há interesse em dar continuidade a este estudo, na busca de maiores esclarecimentos sobre os resultados obtidos, avaliando os seguintes pontos:

- Dosagem de outros marcadores relacionados ao balanço do ferro no organismo, como ferro sérico e saturação da transferrina;

- Análise da presença de citocinas inflamatórias, como a interleucina-6;

- Avaliação de enzimas do sistema antioxidante, como a catalase (CAT), Superóxido Dismutase (SOD) e Glutathione Peroxidase (GSH-PX).

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKINCI, M. et al. Oxidant/antioxidant balance in patients with thyroid cancer. **Acta Cir. Bras.**, v. 23, n. 6, p. 551-554, 2008.

AMIRKHIZI, F. Assessment of lipid peroxidation and activities of erythrocyte cytoprotective enzymes in women with iron deficiency anemia. **JRMS**; v. 13, n. 5, p. 248-254, 2008.

BACCIN, A. C.; Avaliação do estresse oxidativo em pacientes idosos com anemia ferropênica. Dissertação de Mestrado, UFRGS, 2008.

BÁRÁNY, P. Inflammation, serum C-reactive protein, and erythropoietin resistance. **Nephrol Dial Transplant** , v. 16, n.7, p. 224-227, 2001.

BARBOSA, D. L. ARRUDA, I. K. G., DINIZ, A. S. Prevalência e caracterização da anemia em idosos do Programa de Saúde da Família. **Rev. bras. hematol. Hemoter.**; v. 28, n. 4, p. 288-292, 2006.

BARREIROS, A. L. B. S., DAVID, J. M. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim. Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BARTAL, M. et al. Iron deficiency anemia: recovery from in vitro oxidative stress. **Acta Haematol.**, v. 90, n. 2, p. 94-98, 1993.

BERMEJO, F.; GARCIA-LOPEZ, S. A guide to diagnosis of iron deficiency and iron deficiency anemia in digestive diseases. **World J Gastroenterol** , v. 15, n. 37, p. 4638-4643, 2009.

BRAGA, C. Y. Y. Avaliação da Concentração Plasmática do Produto Protéico de Oxidação Avançada (AOPP) e da Proteína C-Reativa de Alta Sensibilidade (hs-PCR) em Pacientes com Doença Reumática Valvar Crônica. 2004. 74f. Dissertação Universidade Federal do Paraná (UFPR).

BUONOCORE, G. et al. Oxidative stress in preterm neonates at birth and on the seventh day of life. **Pediatr Res.**, v, 52, n. 1, p. 46-49, 2002.

CANÇADO, R. D.; CHIATTONE, C. S. Anemia de Doença Crônica. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 24, n. 2, p. 127-136, 2002.

CANÇADO, R. D. et al. Avaliação da eficácia do uso intravenoso de sacarato de hidróxido de ferro III no tratamento de pacientes adultos com anemia ferropriva. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**; v. 29, n. 2, p. 123-129, 2007.

CANÇADO, R. D.; LOBO, C.; FRIEDRICH, J. R. Tratamento da anemia ferropriva com ferro por via oral. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 32, n. 2, p. 114-120, 2010.

CARVALHO, M. C.; BARACAT, E. C. E.; SGARBIERI, V. C. Anemia Ferropriva e Anemia de Doença Crônica: Distúrbios do Metabolismo de Ferro. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 13, n. 2, p. 54-63, 2006.

FABIAN, C. et al. Prevalência de anemia e fatores associados em mulheres adultas residentes em São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, n. 23, v. 5, p. 1199-1205, 2007.

FARIAS, I. L. G. et al. Comprimidos mastigáveis de ferro carbonila como alternativa para melhor adesão ao tratamento da anemia ferropriva: análise de dois estudos. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**; v. 30, n. 6, p. 496-497, 2008.

FERNANDEZ, L. L. Ferro e neurodegeneração. **Sci. Med.**, v. 17, n. 4, p. 218-224, 2007.

FERRARI et al, Evaluation of iron status in European adolescents through biochemical iron indicators: the HELENA Study. **Eur J Clin Nutr.**, v. 65, n. 3, p.340-9, 2011.

FERREIRA A.L.A., MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev. Ass. Med. Brasil.**, v. 43, n. 1, p. 61-8, 1997.

FERRUCCI, L. et al. Proinflammatory state, hepcidin, and anemia in older persons. **BLOOD**, v. 115, n. 18, p. 3810-16, 2010.

FIALOVA, L. et al. Levels of Advanced oxidation products (AOPP) in the first trimester of pregnancy. **Sb Lek.**, v. 104, n. 1, p.95-102, 2003.

FIGUEIREDO M. S. Impacto da inflamação na regulação do ferro e deficiência funcional de ferro. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 32, n. 2, p. 18-21, 2010.

GROTTO, H. Z. W. Diagnóstico laboratorial da deficiência de ferro. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 32, n. 2, p. 22-28, 2010.

HADLER, M. C. C. M., JULIANO, Y., SIGULEM, D. M. Anemia do lactente: etiologia e prevalência. **J Pediatr.**, v. 78, n. 4, p. 321-6, 2002.

ISLER, M. et al. Superoxide Dismutase and Glutathione Peroxidase in Erythrocytes of Patients with Iron Deficiency Anemia: Effects of Different Treatment Modalities. **Croat Med J**, v. 43, n. 1, p. 16-19, 2002.

JOHNSON, M. A. Iron: Nutrition Monitoring and Nutrition Status Assessment. **J Nutr.**, n. 120, n. 11, p. 1486-1491, 1990.

JOHNSON-WIMBLEY, T. D.; GRAHAM, D. Y. Diagnosis and management of iron deficiency anemia in the 21st century. **Ther. Adv. Gastroenterol.**, v. 4, n. 3, p. 177-84, 2011.

JOZWIK, M. et al. Antioxidant defence of red blood cells and plasma in stored human blood. **Clin Chim Acta**, v. 267, n. 2, p. 129-142, 1997.

KALOUSOVÁ, M.; SKRHA, J.; ZIMA, T. Advanced Glycation End-Products and Advanced Oxidation Protein Products in Patients with Diabetes Mellitus. **Physiol. Res.**, v. 51, n. 2, p. 597-604, 2002.

KANEDA, H. et al. Increased level of advanced protein products in patients with coronary artery diseases. **Atheroscler.**, v. 162, n. 1, p.221-225, 2002.

KONDO, H.; TAKAHASHI, M.; NIKI, E. Peroxynitrite-induced hemolysis of human erythrocytes and its inhibition by antioxidants. **FEBS Lett**, v. 413, n. 2, p. 236-38, 1997.

KRZYSZEK-KORPACKA, M. et al. Enhanced Formation of Advanced Oxidation Protein Products in IBD. **Inflamm Bowel Dis**, v. 14, n. 6, p. 794-802, 2008.

LIRA, P. I. C. et al. Diagnosis of iron deficiency anemia in children of Northeast Brazil. **Rev Saúde Pública**; v. 44, n. 3, p. 513-9, 2010.

MARKESBERRY, W.R. et al. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer disease. **Free Radic Biol Med**, v. 23, n. 1, p. 134-47, 1997.

MATOS, J. F. et al. Índice de anisocitose eritrocitária (RDW): diferenciação das anemias microcíticas e hipocrômicas. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**; v. 30, n. 2, p. 120-123, 2008.

MELO, M. R. et al. Uso de índices hematimétricos no diagnóstico diferencial de anemias microcíticas: uma abordagem a ser adotada. **Rev Assoc Med Bras**, v. 48, n. 3, p. 222-4, 2002.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Cadernos de Atenção Básica - nº 20, Carências de Micronutrientes. Brasília – DF 2007.

NASCIMENTO, M. L. P. Anemias Microcíticas Hipocrômicas, Metabolismo do Ferro e Zinco Protoporfirina Eritrocitária. **NewsLab** , edição 102, p. 146-152, 2010.

NEUMAN, N. A. et al. Prevalência e fatores de risco para anemia no sul do Brasil. **Rev. Saúde Pública**; v. 34, n. 1, p. 56-63, 2000.

OSORIO, M. M. Fatores determinantes da anemia em crianças. **J Pediatr.**; v. 78, n. 4, p. 269-78, 2002.

PAINO, I. M. M. Status férrico e algumas funções do estresse oxidativo de fagócitos em idosos anêmicos ou não, portadores de doenças inflamatórias crônicas. 129f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

PAIVA, A. A., RONDÓ, P. H. C., GUERRA-SHINOHARA, E. M. Parâmetros para avaliação do estado nutricional de ferro. **Rev. Saúde Pública**; v. 34, n. 4, p. 421-6, 2000.

PEPYS, M. B.; HIRSCHFIELD, G. M. C-reactive protein: a critical update. **J. Clin. Invest.**; v. 111, n. 12, p. 1805–1812, 2003.

PINTO, G. M. Deficiência de Ferro: resistência ou suscetibilidade a infecções. **Rev. Méd. Minas Gerais**; v. 18, n. 3, p. 191-196, 2008.

PLANTE, C. B., BLANCHET, C., ROCHETTE, L., et al. Prevalence of anemia among Inuit women in Nunavik, Canada. **Int J Circumpolar Health.**; v. 70, n. 2, p. 154-65, 2011.

PÓVOA, P. Proteína C-reativa como Indicador de Infecção. Porque não Experimentar. **Rev. Bras. Ter. Intensiva**, v. 17, n. 3, p. 207-11, 2005.

QUEIROZ, S. S.; TORRES, M. A. A. Anemia ferropriva na infância. **J Pediatr.**; v. 76, n. 3, p. 298-304, 2000.

RAMBOD, M., KOVESDY, C. P., KALANTAR-ZADEH, K. Combined High Serum Ferritin and Low Iron Saturation in Hemodialysis Patients: The Role of Inflammation. **Clin J Am Soc Nephrol.** ; v. 3, n. 6, p. 1691–1701, 2008.

RIBEIRO-ALVES, M. A., GORDAN, P. A. Diagnóstico de Anemia em Pacientes Portadores de Doença Renal Crônica. **J Bras. Nefrol.**, v. 29, n. 4, p. 4-6, 2007.

ROVER JÚNIOR, L., HÖEHR, N. F., VELLASCO, A. P. Sistema Antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da Glutathione associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do Estresse Oxidativo. **Quim. Nova**, v. 24, n. 1, p. 112-119, 2001.

SALDANHA, V. Ferritina: intervalos de referência para adultos no Estado do Rio Grande do Norte. 2009. 89f. Dissertação Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN).

SELMECI, L. et al. Advanced oxidation protein products (AOPP) for monitoring oxidative stress in critically ill patients: a simple, fast and inexpensive automated technique. **Clin Chem Lab Med**, v. 43, n. 3, p. 294–297, 2005.

SIQUEIRA, E. M. A., ALMEIDA, S. G., ARRUDA, S. Papel adverso do ferro no organismo. **Comun Ciênc Saúde**; v. 17, n. 3, p. 229-236, 2006.

TEIXEIRA, P. J. M. Stress Oxidativo na Doença Renal Crônica. 2010. Mestrado Integrado em Medicina. Universidade do Porto.

THOMAS, C.; THOMAS, L. Biochemical Markers and Hematologic Indices in the Diagnosis of Functional Iron Deficiency. **Clin. Chem.**, v. 48, n. 7, p. 1066–1076, 2002.

THOMÉ, F. S. Tratamento de ferroprivação. **J Bras. Nefrol.**, v. 22, n. 5, p. 17-24, 2000.

UMBELINO, D. C.; ROSSI, E. A. Deficiência de ferro: conseqüências biológicas e propostas de prevenção. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl**, v. 27, n.2, p.103-112, 2006.

UNICEF. The State of the World's Children 1998: A UNICEF Report Malnutrition: Causes, Consequences, and Solutions. *Nutrition Reviews*, v. 56, n. 4, p. 115-123, 1998.

VICARI, P.; FIGUEIREDO, M. S. Diagnóstico diferencial da deficiência de ferro. **Rev Bras Hematol Hemoter**; v. 32, n. 2, p.29-31, 2010.

VISIOLI, F., KEANEY, J. F., HALLIWELL, B. Antioxidants and cardiovascular disease; panaceas or tonics for tired sheep. **Cardiovasc. Res.**, v. 47, n. 3, p. 409-18, 2000.

WITKO-SARSAT, V. et al. Advanced Oxidation Protein Products as Novel Mediators of Inflammation and Monocyte Activation in Chronic Renal Failure. **J. Immunol.**; v. 161, n. 5, p. 2524-2532, 1998.

WITKO-SARSAT, V. et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. **Kidney Int.**; v. 49, n. 5, p. 1304-1313, 1996.