

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO

Curso de Biomedicina

Vandeth Menezes Gomes

**HEMOCROMATOSE TRANSFUSIONAL EM PACIENTES COM
ANEMIA FALCIFORME E TALASSEMIAS**

São Paulo

2015

Vandeth Menezes Gomes

**HEMOCROMATOSE TRANSFUSIONAL EM PACIENTES COM
ANEMIA FALCIFORME E TALASSEMIAS**

Trabalho de conclusão de curso, apresentado ao curso de Biomedicina no Centro Universitário São Camilo, orientado pela Prof^a Juliana Vieira dos Santos Bianchi e co-orientado pela Prof^a Leila Jaldim Borracha Gonçalves, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

São Paulo

2015

Vandeth Menezes Gomes

**HEMOCROMATOSE TRANSFUSIONAL EM PACIENTES COM
ANEMIA FALCIFORME E TALASSEMIAS**

São Paulo, 11 de Maio de 2015

Prof^a Juliana Vieira dos Santos Bianchi

Prof^o Dr. Michelangelo Juvenale

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Padre Inocente Radrizzani

Gomes, Vandeth Menezes

Hemocromatose transfusional em pacientes com anemia falciforme e talassemias / Vandeth Menezes Gomes. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2015.

64 p.

Orientação de Juliana Vieira dos Santos Bianchi

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação),
Centro Universitário São Camilo, 2015.

1. Anemia falciforme 2. Talassemia 3. Sobrecarga de ferro 4. Ferro
5. Hemocromatose I. Bianchi, Juliana Vieira dos Santos II. Centro
Universitário São Camilo III. Título

CDD: 616.15

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me guiado até aqui.

Agradeço, também, e dedico este trabalho à minha mãe e minhas irmãs por terem estado comigo durante estes quatro anos e por terem suportado todas minhas crises e desesperos em relação à faculdade. Sou grata à minha orientadora, Prof^a Juliana, e co-orientadora, Prof^a Leila, por terem me acolhido quando já não parecia haver tempo para isso. E, por fim, agradeço aos amigos que foram pacientes e compreensíveis durante este período, o qual não foi fácil, e em especial às minhas amigas Larissa Yamamoto, Vanessa Rodrigues, Jessica Conceição, Flávia Sant'anna e à Marcia Rosendo por estarem sempre ao meu lado e pela amizade que conquistamos.

GOMES, Vandeth. **Hemocromatose transfusional em pacientes com anemia falciforme e talassemias**. 2015. 64f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Centro Universitário São Camilo, São Paulo, 2015.

RESUMO

A hemocromatose caracteriza-se por sobrecarga de ferro no parênquima celular e é classificada em hemocromatose hereditária (HH) e hemocromatose secundária. Na HH ocorrem alterações em elementos relacionados ao metabolismo do ferro, provocando um aumento na absorção intestinal de ferro, enquanto que a secundária incide especialmente em pacientes com anemia falciforme e talassemias, uma vez que estes pacientes são cronicamente transfundidos devido às alterações na síntese de hemoglobinas. O organismo absorve entre 1mg e 2mg de ferro por meio da proteína transportadora do heme (HCP1) e do transportador de metal bivalente (DMT1), ambas expressas nos enterócitos, assim como a ferroportina, a qual é responsável pela exportação do ferro ferroso à circulação. Entretanto, uma bolsa de concentrado de hemácias agrega entre 200mg a 250mg de ferro e o organismo humano não apresenta um mecanismo próprio para excreção de excesso de ferro, sendo este armazenado na forma de ferritina ou distribuído às células pela transferrina. Quando o grau máximo de saturação da transferrina é alcançado ocorre o aparecimento do ferro não ligado a transferrina (NTBI), ou seja, ferro livre no plasma não acoplado à transferrina e a nenhuma outra proteína, possuindo ainda uma fração conhecida por ferro plasmático lábil (LPI) responsável por causar danos teciduais principalmente ao coração, fígado e pâncreas. Uma vez que o excesso de ferro causa danos aos tecidos, são necessárias medidas para a redução da sobrecarga no organismo, como a eritrocitaférese que é um método automatizado no qual eritrócitos são retirados e eritrócitos saudáveis de um doador são infundidos novamente no paciente. Na flebotomia são retirados cerca de 450mL de sangue do paciente e, outra opção são os quelantes de ferro, os quais comportam o ferro na sua estrutura permitindo sua eliminação. Entre os quelantes disponíveis estão a desferroxamina, deferiprona e deferasirox, sendo os dois últimos quelantes orais.

Palavras-chave: Anemia falciforme. Talassemia. Sobrecarga de ferro. Ferro. Hemocromatose.

GOMES, Vandeth. **Transfusional hemochromatosis in patients with sickle cell disease and thalassemias**. 2015. 64p. Term paper (Graduation in Biomedicine) – Centro Universitário São Camilo, São Paulo, 2015.

ABSTRACT

Hemochromatosis is characterized by iron overload in parenchymal cell and is classified as hereditary hemochromatosis (HH) and secondary hemochromatosis. In HH changes occur in elements related to iron metabolism, resulting in an increase in the intestinal absorption of iron, while the secondary focuses especially in patients with sickle cell anemia and thalassemia, since these patients are chronically transfused due to changes in the synthesis of hemoglobin. The body absorbs between 1mg and 2mg of iron by heme carrier protein 1 (HCP1) and by the divalent metal transporter 1 (DMT1), both expressed in enterocytes, and as well like ferroportin, which is responsible by exporting the ferrous iron to the circulation. However, a unit of packed red blood cells aggregates between 200mg to 250mg of iron and the human body by itself does not have a mechanism for excretion of iron excess, which is stored as ferritin or distributed to cells by transferrin. When the maximum degree of transferrin saturation is reached occurs the appearance of non-transferrin bound iron (NTBI), in other words, iron in plasma unconnected to transferrin and to any other protein, further having a fraction known as labile plasma iron (LPI) responsible for causing tissue damage mainly in the heart, liver and pancreas. Once the excess iron causes tissue damage, measures are needed to reduce overload in the body, such as erythrocytapheresis which is an automated method wherein erythrocytes are removed and healthy red blood cells from a donor are infused back into the patient. In the phlebotomy are removed about 450mL of patient's blood and, other options are iron chelators, which keeps iron in its structure allowing its elimination. Among the available chelators are deferoxamine, deferiprone and deferasirox, being both latter oral chelators.

Keywords: Sickle cell disease. Thalassemia. Iron overload. Iron. Hemochromatosis.

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

1	INTRODUÇÃO	9
2	OBJETIVO	11
3	MATERIAIS E MÉTODOS	12
4	REVISÃO DE LITERATURA	13
4.1	Biossíntese das hemoglobinas	13
4.2	Metabolismo do ferro	16
4.2.1	Obtenção do ferro pelo organismo – alimentação	16
4.2.2	Obtenção do ferro pelo organismo –hemocaterese.....	19
4.3	Destinos do ferro.....	20
4.3.1	Transporte do ferro	21
4.3.2	Estoque do ferro.....	21
4.4	Regulação do ferro	22
4.4.1	Regulação intracelular – Proteínas regulatórias do ferro	22
4.4.2	Regulação sistêmica - Hepcidina	24
4.5	Etiologia da hemocromatose	25
4.6	Hemocromatose hereditária	27
4.6.1	Hemocromatose clássica (HH1)	27
4.6.2	Hemocromatose juvenil (HH2).....	27
4.6.3	Hemocromatose associada ao gene TFR2 (HH3)	28
4.6.4	Hemocromatose ligada ao gene da ferroportina (HH4)	28
4.7	Hemocromatose secundária a transfusões sanguíneas em pacientes com hemoglobinopatias.....	29
4.8	Talassemias	30
4.8.1	Alfa talassemias.....	30
4.8.1.1	Alfa talassemias – pacientes assintomáticos	31
4.8.1.2	Alfa talassemias – pacientes sintomáticos.....	31
4.8.2	Beta talassemias.....	32
4.8.2.1	Beta talassemia minor.....	33
4.8.2.2	Beta talassemia intermediária	34
4.8.2.3	Beta talassemia major	34

4.9	Anemia falciforme.....	36
5	FISIOPATOLOGIA DA HEMOCROMATOSE	39
6	DIAGNÓSTICO DA HEMOCROMATOSE.....	43
6.1	Perfil clínico da hemocromatose.....	43
6.2	Perfil laboratorial da hemocromatose	43
6.2.1	Ferritina sérica.....	44
6.2.2	Saturação da transferrina.....	44
6.2.3	Concentração hepática de ferro (CHF).....	45
6.2.3.1	CHF por biópsia	45
6.3	Análise por exames de imagem	46
6.3.1	CHF por RM	46
6.3.2	Ferro cardíaco por RM.....	47
7	PROFILAXIA PARA HEMOCROMATOSE TRANSFUSIONAL	48
7.1	Eritrocitaférese.....	48
7.2	Flebotomia	50
7.3	Quelantes de ferro	51
7.3.1	Desferroxamina	51
7.3.2	Deferiprona	52
7.3.3	Deferasirox	53
8	CONCLUSÃO	55
	REFERÊNCIAS.....	56

1 INTRODUÇÃO

A hemocromatose é uma doença caracterizada pela sobrecarga de ferro no parênquima celular, decorrente de um distúrbio no metabolismo do ferro e pode ser classificada de duas maneiras: hemocromatose hereditária (primária) e hemocromatose secundária (MICHEL et al., 2006).

A hemocromatose hereditária (HH) diz respeito à sobrecarga de ferro decorrente de alterações genéticas em componentes do metabolismo do ferro e é subdividida em quatro subtipos, de acordo com o gene envolvido. A hemocromatose clássica (HH1) afeta a proteína hemocromatose (HFE, do inglês *hemochromatosis*); a hemocromatose juvenil (HH2) afeta genes relacionados à hepcidina; o terceiro subtipo de HH é causado por mutações no gene *TFR2* (*transferrin receptor 2*) o qual codifica para o receptor 2 de transferrina; e o último subtipo (HH4) é o único com herança autossômica dominante e causa alterações na ferroportina, uma vez que seu gene *FPN* (*SLC40A1*) sofre mutações (FRANCHINI; APRILI; FALEZZA, 2007).

Na hemocromatose secundária a sobrecarga de ferro se dá pelo ferro extra recebido por meio das transfusões sanguíneas periódicas que são necessárias em pacientes com doenças de base hereditária como as talassemias e anemia falciforme. A anemia falciforme e a talassemia são hemoglobinopatias classificadas como anemias hemolíticas congênitas, as quais são hereditárias e induzem alterações nos eritrócitos, seja em seu conteúdo ou membrana, e têm como característica a redução na sobrevida eritrocitária (AZEVEDO, 2008; GATTERMANN, 2009).

Devido à eritropoese ineficiente e a sobrevida eritrocitária, a anemia está comumente presente na vida dos pacientes portadores destas doenças. A fim de garantir a sobrevivência dos indivíduos, se faz necessárias transfusões sanguíneas periódicas para que os pacientes possam manter seus índices hematológicos adequados, além de prevenir e minimizar as complicações das doenças como deformidades ósseas, acidentes vasculares, esplenomegalia, dentre outras (GREER et al., 2009; AZEVEDO, 2008; HARMATZ et al., 2000).

Entretanto, as politransfusões induzem ao aumento das concentrações de ferro nos tecidos uma vez que sua absorção se eleva devido à necessidade de combater a anemia. Considerando-se que diariamente nosso organismo libera cerca de 1mg (miligramas) de ferro e que uma bolsa de concentrado de hemácias possui entre 200mg e 250mg de ferro, ocorre um desequilíbrio no balanço deste metal, que em excesso é tóxico para o organismo, causando danos aos lipídeos, proteínas e DNA (ácido desoxirribonucleico) (SOUTO, 2006; AYMONE et al., 2013).

A terapia transfusional crônica traz benefícios aos pacientes, porém a hemocromatose secundária é uma das causas de morbidade e mortalidade dos indivíduos dependentes desta terapia, uma vez que o excesso de ferro se deposita nos tecidos do coração, pâncreas e fígado e não há mecanismos fisiológicos para a excreção deste excesso (KWIATKOWSKI et al., 2012). Desta forma, para reduzir e prevenir os danos causados pela terapia transfusional, os pacientes fazem uso, por exemplo, de quelantes que “sequestram” o ferro dos tecidos e o comportam em sua estrutura, permitindo a excreção do metal. Entre outras medidas que podem ser adotadas estão a terapia por flebotomia, conhecida também por sangria, a qual já é bastante utilizada em pacientes portadores de hemocromatose primária; e a eritrocitaférese que permite a coleta somente de eritrócitos do pacientes, sendo os outros componentes infundidos novamente nos pacientes, juntamente com eritrócitos saudáveis de um doador (ADAMS; BARTON, 2010; ASSI; BAZ, 2014).

Contudo é importante se ater a doença com a qual se está lidando e analisar a condição clínica e laboratorial do paciente. Sabendo que a terapia crônica de transfusões é a causa mais importante de hemocromatose secundária, é essencial o conhecimento de medidas profiláticas para este mal, analisando a doença envolvida e sem desconsiderar a necessidade e os benefícios que a terapia transfusional traz aos pacientes (GATTERMANN, 2009).

2 OBJETIVO

Abordar a hemocromatose secundária à terapia transfusional crônica em pacientes com anemia falciforme e talassemias e compreender o desenvolvimento desta doença bem como suas medidas profiláticas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Realizou-se revisão de literatura, utilizando-se o banco de dados da Biblioteca Regional de Medicina (BIREME), além das bases de dados eletrônicas como Pubmed e Medline. Os artigos foram selecionados e o conteúdo verificado se estava de acordo com o tema proposto. Foram selecionados artigos científicos publicados de 2000 a 2015, nos idiomas português e inglês.

4 REVISÃO DE LITERATURA

O ferro é um importante elemento, pois participa da homeostase celular. Este metal está envolvido no transporte de oxigênio para os tecidos, nas sínteses de DNA (ácido desoxirribonucleico), de hemoglobinas e mioglobinas, além de atuar como cofator em enzimas (DONOVAN; ROY; ANDREWS, 2006).

O ser humano possui em seu organismo entre 4 e 5 gramas de ferro, sendo que metade deste encontra-se na forma de hemoglobina. O ferro geralmente está ligado a sua proteína transportadora, transferrina, ou armazenado na forma de ferritina. Isso acontece, pois o ferro na sua forma livre é danoso para as células, uma vez que produz espécies reativas de oxigênio que são substâncias tóxicas que levam a lesão de proteínas, lipídeos e do próprio material genético (CHUNG; WESSLING-RESNICK, 2003).

É importante ter um equilíbrio entre o ferro que é absorvido e o que fica retido nas células, uma vez que a deficiência de ferro leva à anemia e o excesso à hemocromatose. Na anemia, o organismo possui um sistema para combater a deficiência de ferro, aumentando a absorção de ferro pelos enterócitos, por exemplo. Entretanto, não há nenhum mecanismo fisiológico que aumente a excreção de ferro (CANÇADO; CHIATTONE, 2010).

Para entender o mecanismo de sobrecarga de ferro é necessário entender, primeiramente, a homeostase deste metal e os mecanismos no qual ele está envolvido.

4.1 Biossíntese das hemoglobinas

A molécula de hemoglobina, presente em maior quantidade em nosso corpo, é formada por duas cadeias de globina do tipo α e duas do tipo β . As cadeias globínicas possuem em seu centro um grupamento heme, o qual é constituído por

um átomo de ferro ferroso (Fe^{2+}) em seu núcleo. A síntese do heme inicia-se na mitocôndria com a formação do ácido aminolevulínico gerado pela condensação da glicina e succinil-CoA, sendo este processo catalisado pela enzima δ -aminolevulínico sintase (ALAS). O processo de síntese persiste no citosol e, ao fim do processo, novamente na mitocôndria, uma ferroquelatase permite a inserção de um átomo de ferro ferroso à protoporfirina, formando o grupamento heme. Os átomos de ferro atrelados às globinas permitem que a hemoglobina realize sua função de transportar as moléculas de O_2 para os tecidos do organismo, uma vez que o ferro permite a ligação reversível do oxigênio (ZAGO; PINTO, 2007; WIJAYANTI; KATZ; IMMENSCHUH, 2004).

Para a síntese de hemoglobinas ser completa é necessário que ocorra a síntese das cadeias globínicas para que estas se agrupem ao heme por ligações covalentes e originem as moléculas de hemoglobinas, as quais são inicialmente sintetizadas na fase de eritroblasto basófilo persistindo até a fase de formação dos reticulócitos (Figura 1) (ZAGO; PINTO, 2007).

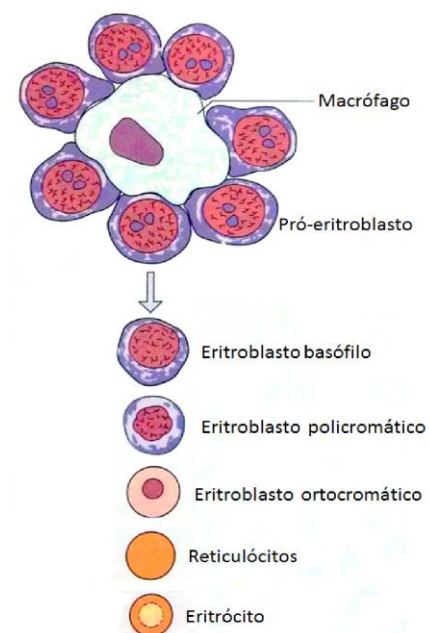


Figura 1 - Precursores eritroides.

Fonte: (HOFFBRAND; PETTIT; VYAS, 2010)

Como é possível observar na Figura 2, os genes responsáveis pela codificação das cadeias de globinas possuem agrupamentos (*clusters*) de genes nos

cromossomos 11 e 16. No cromossomo 16, estão os genes que codificam para as globinas alfa duplicadas α_1 e α_2 , e para a globina presente na fase embrionária, ζ (zeta). Além destas, há pseudogenes para $\psi\zeta$ e $\psi\alpha$ que são genes silenciados devido a uma mutação *nonsense* (GALIZA NETO; PITOMBEIRA, 2003; ZAGO; FALCÃO; PASQUINI, 2005).

O cromossomo 11 comporta o agrupamento β , onde se localizam os genes ϵ (épsilon), e γ (gama) duplicados, os quais diferem de acordo com o aminoácido (glicina ou alanina) presente na posição 136 da cadeia. Também estão presentes no cromossomo 11 um único pseudogene β ($\psi\beta$), e um gene codificante para δ (delta) e outro para β (beta) (WENNING; SONATI, 2007).

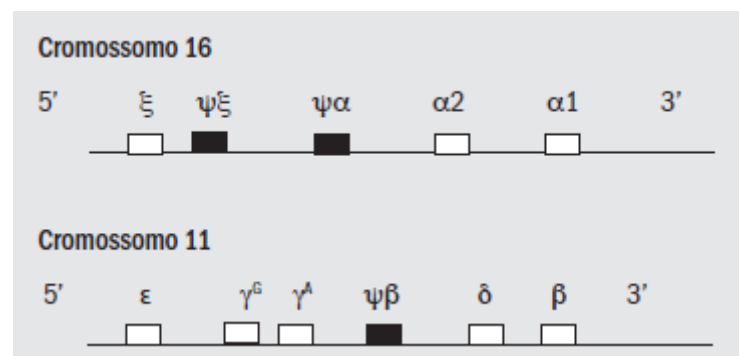


Figura 2 - Agrupamento do gene α no cromossomo 16 e agrupamento do gene β no cromossomo 11.

Fonte: (GALIZA NETO; PITOMBEIRA, 2003)

As hemoglobinas humanas são formadas pela junção de uma globina do agrupamento α (cromossomo 16) com outra globina presente no agrupamento β (cromossomo 11) conforme demonstrado no Quadro 1, de acordo com o desenvolvimento do organismo, uma das hemoglobinas predomina.

Período de desenvolvimento	Denominação	Agrupamento $\alpha + \beta$
Embrionário	Gower I	$\zeta_2\epsilon_2$
	Gower II	$\alpha_2\epsilon_2$
	Portland	$\zeta_2\gamma_2$
Fetal	HbF	$\alpha_2\gamma_2$
Adulto	HbA	$\alpha_2\beta_2$
	HbA ₂	$\alpha_2\delta_2$

Quadro 1: hemoglobinas humanas.

Fonte: (ZAGO; FALCÃO; PASQUINI, 2005)

A HbF é a hemoglobina predominante durante o período fetal. Neste período o ser humano possui cerca de 90% de HbF, menos de 10% de HbA e resquícios de HbA₂. A partir do sexto mês de vida, estas proporções começam a mudar e passamos a possuir de 96 a 98% de HbA, de 2,5 a 3,7% de HbA₂. A hemoglobina fetal, mesmo no adulto ainda permanece, mas agora com menos de 1,5% (OLIVEIRA; POLI NETO, 2004).

4.2 Metabolismo do ferro

4.2.1 Obtenção do ferro pelo organismo – alimentação

O ferro pode ser obtido pelo organismo humano por meio da dieta e pelo heme derivado da reciclagem das hemácias, sendo este segundo meio o responsável pela maior quantidade de ferro no organismo. O epitélio duodenal, por meio das suas vilosidades auxilia na absorção do ferro e o processo de absorção e as proteínas envolvidas estão ilustrados na Figura 3. Na alimentação o ferro está presente em vegetais e cereais assim como nas carnes vermelhas. Entretanto, o ferro presente nestes alimentos difere quanto a sua valência e este fato influencia na absorção do metal. Os vegetais e cereais carregam o ferro na forma férrica (Fe³⁺), enquanto que as carnes vermelhas possuem o ferro ferroso (Fe²⁺), na forma de

heme e, por conta disso, a absorção é feita de forma diferenciada (DONOVAN; ROY; ANDREWS, 2006).

Ingerimos cerca de 13mg a 18mg de ferro, porém somente de 1mg a 2mg são absorvidos. É importante salientar que as proteínas não são expressas no enterócito durante todo o tempo, elas são expressas de acordo com a necessidade do organismo. Desta forma, em casos de gravidez, hemólise, hipóxia e ciclo menstrual a expressão e absorção do ferro estão aumentadas. O pH ácido e substâncias solubilizantes como o açúcar também influenciam na absorção (GROTTO, 2008).

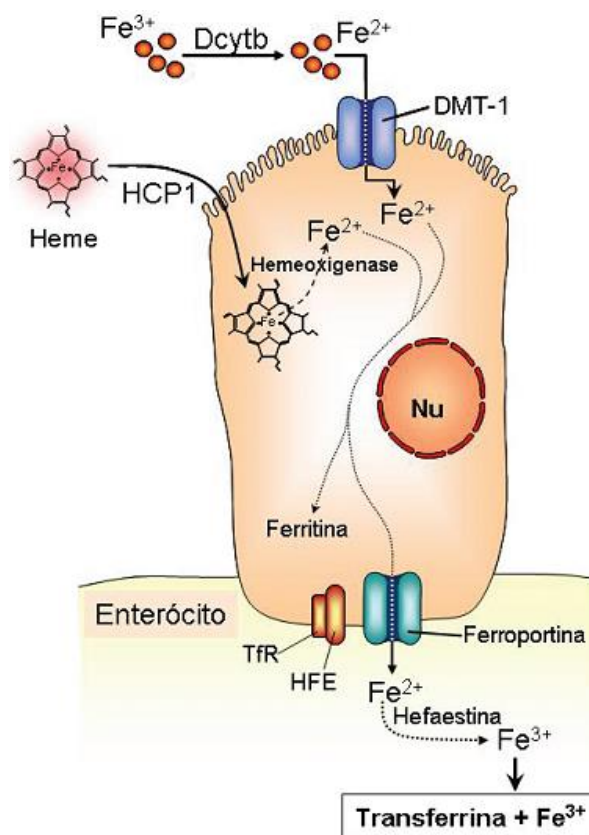


Figura 3 - Mecanismo de absorção do ferro pelo enterócito. O ferro férrico (Fe^{3+}), proveniente da alimentação, é reduzido a ferro ferroso (Fe^{2+}) pela ação da Dcytb, permitindo que este ferro alcance o citosol pela DMT1. O ferro na forma heme é internalizado ao citosol pela HCP1 e então o ferro presente na sua estrutura é removido pela heme oxigenase. Uma vez no citosol o ferro pode ser armazenado na forma de ferritina ou exportado pela ferroportina à circulação, onde pode se acoplar a transferrina após a sua oxidação pela hefaestina. A proteína HFE interage com o TfR e atua como sensor modulando a absorção de ferro aumentando ou reduzindo a afinidade do receptor pela transferrina. Dcytb: citocromo b duodenal; DMT1: transportador de metal bivalente 1; HCP1: proteína transportadora do heme-1; Nu: núcleo; TfR: receptor de transferrina; HFE: proteína HFE. Fonte: (GROTTO, 2010)

O ferro na forma de ferro heme (Fe^{2+}) é derivado da quebra da hemoglobina e mioglobina, obtidos por meio de carnes vermelhas. O heme é absorvido pelo auxílio da proteína transportadora do heme-1 (HCP1, do inglês heme carrier protein 1) que o internaliza para o citosol do enterócito, onde o ferro bivalente, presente na protoporfirina, é liberado por ação da heme oxigenase. O ferro inorgânico, ou seja, aquele presente em vegetais e cereais, por sua vez, precisa ser reduzido a Fe^{2+} pela citocromo b duodenal (Dcytb - duodenal cytochrome b), para que então seja transportado através da proteína transportadora de metal bivalente (DMT1 - divalent metal transporter 1). A DMT1 é uma proteína transmembrana que participa não só do transporte do ferro, mas também de outros metais como Mn^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} e Zn^{2+} , todos bivalentes, por isso a importância da redução do ferro inorgânico realizada pela Dcytb (CHUNG; WESSLING-RESNICK, 2003; SANTOS et al., 2009).

Para o ferro exercer suas funções no organismo, ele deve deixar os enterócitos e dirigir-se para as outras células do organismo. Desta forma, para que o ferro tenha acesso à circulação ele deve passar por uma proteína transmembrana denominada ferroportina, presente nos hepatócitos, macrófagos e placenta além, é claro, dos enterócitos. Esta proteína possui semelhanças com a DMT1, pois a expressão de ambas as proteínas depende da quantidade de ferro presente no organismo e ambas permitem a passagem de íons bivalentes. Quanto maior a expressão de ferroportina nas células, maior é a liberação do ferro intracelular para o plasma (OATES, 2007).

O ferro alcança os tecidos por meio de sua proteína transportadora, a transferrina, a qual conduz o ferro na forma trivalente, ou seja, o ferro férrico. O ferro ferroso presente no citosol, após atravessar a ferroportina, é oxidado a ferro férrico por uma proteína denominada hefaestina localizada na superfície basolateral das células intestinais. A oxidação pode ocorrer também no plasma pela presença de uma ferroxidase conhecida como ceruloplasmina. O ferro trivalente tem a capacidade de se ligar a transferrina e ser enviado às células da medula óssea e fígado, as quais possuem receptores para transferrina (TfR1) (HENTZE et al., 2010); (SIDDIQUE; KOWDLEY, 2012).

Além dos receptores para transferrina, o enterócito possui também uma proteína nomeada hemocromatose (HFE) a qual está associada à proteína

β 2microglobulina e com receptores 1 da transferrina (TfR1), atuando como um sensor das reservas de ferro e modulando a absorção de ferro de acordo com as necessidades do organismo. A proteína HFE, juntamente com a β 2microglobulina, interage com os receptores de transferrina aumentando ou reduzindo a afinidade desses receptores pela transferrina de acordo com os níveis de ferro. A proteína HFE é expressa também nos hepatócitos, onde possui importante papel na regulação da hepcidina e, conseqüentemente, na absorção do ferro como será abordado no tópico “4.4.2 regulação sistêmica – hepcidina”. (GROTTO, 2008; SANTOS et al., 2009).

4.2.2 Obtenção do ferro pelo organismo –hemocaterese

Hemocaterese é o processo pelo qual eritrócitos senescentes ou lesionados são destruídos pelos macrófagos. Este processo promove a liberação de grande quantidade de ferro, o qual pode ficar armazenado no baço ou ser enviado à medula óssea para ser reutilizado no processo de eritropoese (FREITAS et al., 2009).

Os eritrócitos têm vida média de 120 dias, então conforme o seu envelhecimento estas células passam a sofrer certas modificações de membrana, incluindo a peroxidação de lipoproteínas, redução de resíduos de ácido siálico, os quais auxiliam na eletronegatividade da célula, e alterações da Banda 3 que participam da manutenção da integridade da membrana e do transporte de ânions (GROTTO, 2010; OATES, 2007). Estas alterações de membrana sinalizam para uma morte programada mediada pelos macrófagos presentes no SMF (sistema mononuclear fagocitário) do baço, assim como os presentes na medula óssea e também pelas células de Küpffer no fígado, que são sinalizados pelas modificações citadas acima. As células senescentes se retraem e a fosfatidilserina fica exposta, permitindo que a CD36, presente nos macrófagos, reconheça o antígeno e fagocite a célula. Uma vez que a hemácia foi fagocitada, a hemoglobina é liberada, degradada e seus componentes podem ser reaproveitados (Figura 4) (ZAGO; PINTO, 2007; GROTTO, 2008; KIERSZENBAUM, 2008).

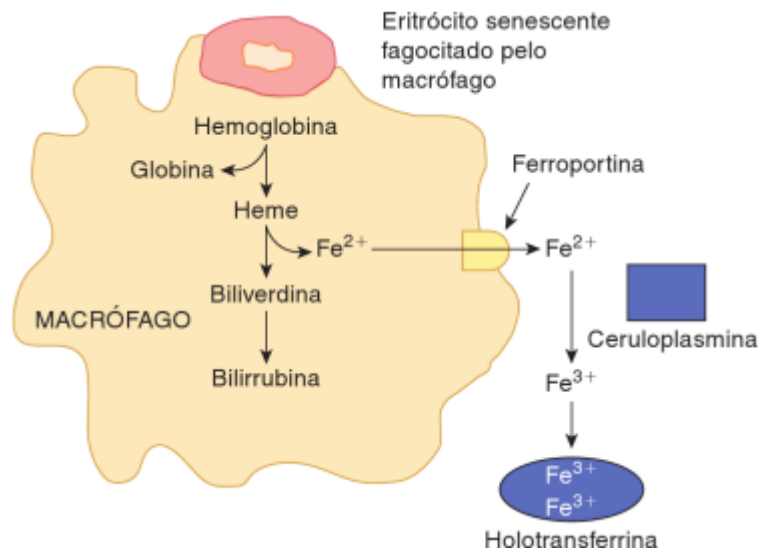


Figura 4 - Processo de hemocaterese e recuperação do ferro no qual o ferro passa pela proteína transmembranar denominada ferroportina e é oxidado pela ceruloplasmina e se liga a transferrina (holotransferrina).

Fonte: (MURRAY et al., 2013)

A globina tem seus aminoácidos aplicados à formação de novas proteínas e os elementos presentes no heme também se abstraem: a protoporfirina oxidada originará bilirrubina, enquanto que o ferro poderá ser estocado na forma de ferritina ou enviado à medula pela transferrina.

4.3 Destinos do ferro

Sendo o ferro transportado para o citosol das células duodenais, ele pode ter dois destinos, dependendo da necessidade do organismo: liberado à circulação, onde será transportado até os tecidos pela transferrina ou ser armazenado na forma de ferritina.

4.3.1 Transporte do ferro

O ferro ligado a transferrina (TfFe), também conhecido como holotransferrina, se acopla ao TfR1 juntamente com o HFE e este complexo é endocitado pelas células de interesse. No endossoma o baixo pH favorece a liberação do ferro férrico da proteína transportadora. Novamente, para o ferro ser liberado do endossoma ele precisa atravessar a DMT1 presente também neste vacúolo, desta forma, é indispensável a redução do ferro férrico à ferro ferroso. Para isso existe a proteína STEAP3, uma metal redutase que reduz o ferro e permite que ele passe através do canal da DMT1, sendo liberado do endossoma e alcançando o citosol da célula de interesse. A transferrina retorna à circulação, enquanto que o receptor e a HFE são reciclados de volta para a membrana celular (DONOVAN; ROY; ANDREWS, 2006; SIDDIQUE; KOWDLEY, 2012).

4.3.2 Estoque do ferro

Como visto anteriormente, os destinos do ferro variam de acordo com as necessidades do organismo, o qual não possui um mecanismo para excreção do ferro em excesso. O ferro não utilizado para as necessidades fisiológicas é estocado na forma de ferritina, a qual é composta por ferro férrico e por uma proteína conhecida por apoferritina. A apoferritina se comunica com a superfície dos enterócitos por meio de canais, os quais permitem a entrada e saída de ferro da proteína. A ferritina é pouco encontrada no plasma e, devido à isso, serve de marcador dos níveis de ferro no organismo, uma vez que a ferritina sérica é derivada dos estoques de ferro e, se ela está em grande quantidade no plasma, é possível que haja grande concentração de ferro no organismo. A ferritina, quando degradada nos lisossomos, forma agregados e origina-se a hemossiderina, a qual é insolúvel e facilmente encontrada em células do baço, fígado e medula óssea. Vale ressaltar que em estados normais de ferro, a hemossiderina está pouquíssimo presente. Entretanto, em estados de sobrecarga de ferro, grande parte do ferro é depositado

nos órgãos na forma de hemossiderina (RANG et al., 2007; AZEVEDO, 2008; CANÇADO; CHIATTONE, 2001; KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2005).

4.4 Regulação do ferro

É importante que o ferro esteja em equilíbrio com o organismo para que não sejam causados danos por falta ou excesso do mesmo. Em casos de anemia por deficiência de ferro, por exemplo, o organismo deve tomar medidas para que esta redução nos níveis de ferro seja combatida para tratar a anemia. O mesmo ocorre em casos de sobrecarga de ferro, onde o organismo utiliza de mecanismos próprios para que este excesso seja cessado, entretanto, o excesso não é excretado. Assim sendo, o organismo regula o ferro na tentativa de manter os níveis adequados do metal e esta regulação pode ocorrer de dois modos: regulação intracelular e regulação sistêmica.

4.4.1 Regulação intracelular – Proteínas regulatórias do ferro

A regulação intracelular, como o nome sugere, depende da quantidade de ferro presente no interior da célula. Este mecanismo é dependente de proteínas reguladoras do ferro (IRPs, do inglês iron regulatory proteins) que interagem com elementos responsivos ao ferro (IREs – iron responsive elements) realizando um controle pós transcricional dos genes que codificam para a ferritina e para o receptor 1 da transferrina (TfR1). Os IREs estão situados nas regiões 5' ou 3' não codificantes (UTR, untranslated region) do mRNA (RNA mensageiro) da ferritina (5'UTR) e TfR1 (3'UTR) como alças em forma de grampo (HENTZE et al., 2010).

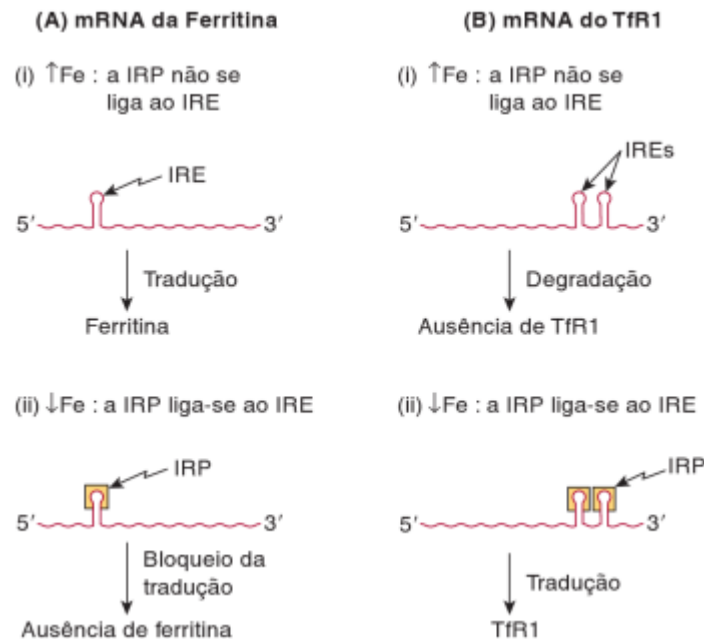


Figura 5 - Na regulação intracelular do ferro os IRPs são sensíveis aos baixos níveis de ferro e interagem com IREs. Em estados de sobrecarga de ferro (A-i) o IRP não interage com IRE, permitindo a tradução da ferritina, enquanto que em A-ii os baixos níveis de ferro induzem a ligação do IRP ao IRE e, consequentemente, ao bloqueio da tradução. O IRE presente na região 3' UTR do mRNA o TfR1 (B), em altos níveis de ferro (B-i), permite que o mRNA seja degradado, impedindo a tradução do receptor, uma vez que a molécula de mRNA está instável. Em B-ii, com a ligação de IRP a IRE, a molécula de mRNA se estabiliza, permitindo a tradução do receptor.

IRE: elemento responsivo ao ferro; IRP: proteína reguladora do ferro; Fe: ferro; mRNA: RNA mensageiro; TfR1: receptor 1 da transferrina.

Fonte: (MURRAY et al., 2013)

As IRPs (IRP1 e IRP2) são sensíveis aos baixos níveis de ferro intracelular e isso estimula a ligação entre as IRPs e os IREs, provocando uma resposta no mRNA. Como é possível observar na Figura 5 em baixos níveis de ferro, o IRP se liga ao IRE presente na região 5'UTR do mRNA da ferritina e bloqueia a tradução, enquanto que a ligação ao IRE do mRNA do TfR1 implica na estabilização da molécula, impedindo a sua degradação e promovendo a tradução do receptor, o qual permitirá maior absorção de ferro pelo organismo. Por outro lado, em altos níveis de ferro intracelular não ocorre a ligação dos IRPs aos IREs. Desta forma, o mRNA da ferritina não é bloqueado e o excesso de ferro será estocado na forma de ferritina, enquanto que a molécula de mRNA do TfR1 será degradada e haverá uma menor

expressão de receptores, uma vez que a absorção de mais ferro é desnecessária (CHUNG; WESSLING-RESNICK, 2003; MURRAY et al., 2013).

4.4.2 Regulação sistêmica - Hepcidina

A homeostase do ferro tem como principal regulador o hormônio hepcidina, que é uma proteína com ação antimicrobiana, sintetizada pelo fígado e codificada pelo gene HAMP. Como foi visto anteriormente, o ferro (Fe^{2+}) alcança a circulação através da ferroportina e isso permite que o metal seja distribuído para as outras células. O papel da hepcidina é controlar os níveis de ferro nos enterócitos, macrófagos e hepatócitos por meio de sua ligação à ferroportina, promovendo a endocitose e degradação da ferroportina, impedindo que o ferro seja liberado à circulação. Assim sendo, o aumento da secreção de hepcidina diminui a concentração de ferro na circulação (OATES, 2007).

Este hormônio é regulado por interleucinas (ILs) liberadas devido à inflamação, além de ser regulado por estados de hipóxia e pelos níveis férricos do organismo. A regulação da hepcidina tem a participação algumas proteínas como: receptores 1 e 2 da transferrina (TfR1 e TfR2), sendo o primeiro expresso em grande parte das células do organismo, enquanto que o segundo é predominante expresso nos hepatócitos; proteína da hemocromatose – HFE; hemojuvelina (hemojuvelin – HJV) e proteínas morfogenéticas do ferro – BMPs (bone morphogenetic protein) (MARTINELLI, 2011; GROTTTO, 2010).

A regulação, que é a nível transcricional, ocorre da seguinte maneira: a proteína HFE interage com o TfR1, os quais são endocitados no momento da captação do ferro pelas células de interesse, juntamente com a holotransferrina. No momento em que a holotransferrina se liga ao TfR1, ela desloca o HFE e este, por sua vez, interage com o TfR2, sinalizando a expressão do gene HAMP. Desta forma, em altos níveis de ferro, ou seja, quando a transferrina está saturada, a síntese de hepcidina é estimulada a fim de evitar que mais ferro seja absorvido (SIDDIQUE; KOWDLEY, 2012).

Outro mecanismo de regulação do ferro é por meio de proteínas morfogenéticas do ferro – BMPs (bone morphogenetic protein), as quais são reguladas pelos níveis de ferro. Estas proteínas possuem receptores BMPR (bone morphogenetic protein receptor) na superfície das células e a ligação entre eles é facilitada pela HJV que atua como correceptor para as BMPs, formando o complexo HJV/BMP/BMPR, o qual fosforila proteínas de sinalização intracelular, estimulando a transcrição da hepcidina (MURRAY et al., 2013).

Em casos de inflamação, a liberação de IL-6 (interleucina-6) ativa a via JAK-STAT, na qual a ligação do STAT3 ao promotor do gene HAMP induz a transcrição de hepcidina (Figura 6), reduzindo a disponibilidade de ferro, como ocorre na anemia de doença crônica (HENTZE et al., 2010).

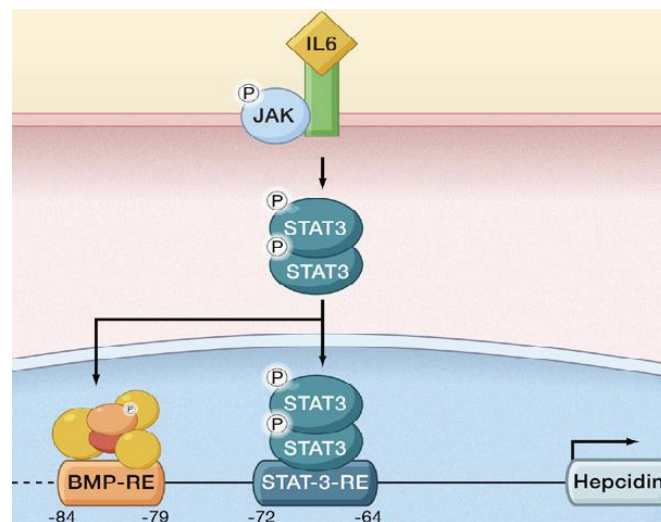


Figura 6 - Mecanismo de ação da IL-6. A interleucina-6 regula positivamente a hepcidina por meio da ligação da IL-6 ao seu receptor, ativando a via JAK/STAT, onde a JAK fosforila STAT3 e esta atua como fator de transcrição no núcleo do hepatócito, permitindo a transcrição do gene da hepcidina.

Fonte: (HENTZE et al., 2010).

4.5 Etiologia da hemocromatose

A hemocromatose tem como característica o acúmulo de ferro no parênquima celular de órgãos como coração, fígado e pâncreas. Este acúmulo é devido à

sobrecarga de ferro no organismo, consequência de um distúrbio no metabolismo do ferro, eritropoese ineficaz e/ou hemólise. A doença pode ser classificada, de acordo com sua etiologia, em hemocromatose hereditária (HH) também nomeada hemocromatose primária e em hemocromatose secundária ou transfusional (MICHEL et al., 2006; DE BUCK et al., 2012; CHEN; ENNS, 2012; ADAMS; BARTON, 2010).

A hemocromatose hereditária é um distúrbio genético comum, de caráter autossômico, sendo recessivo na maioria dos casos. Os genes afetados são igualmente distribuídos entre os gêneros, entretanto as mulheres são menos acometidas devido às perdas de ferro que elas sofrem durante a vida nos períodos menstruais e gestacionais. A hemocromatose hereditária é classificada entre aquelas ligadas ao gene *HFE* e as que não estão ligadas ao gene *HFE*. Além disso, a HH pode ser subdividida em quatro subtipos que são diferenciados de acordo com o gene envolvido (AYMONE et al., 2013; SOUZA; CARVALHO-FILHO; CHEBLI, 2001; MARTINELLI, 2011).

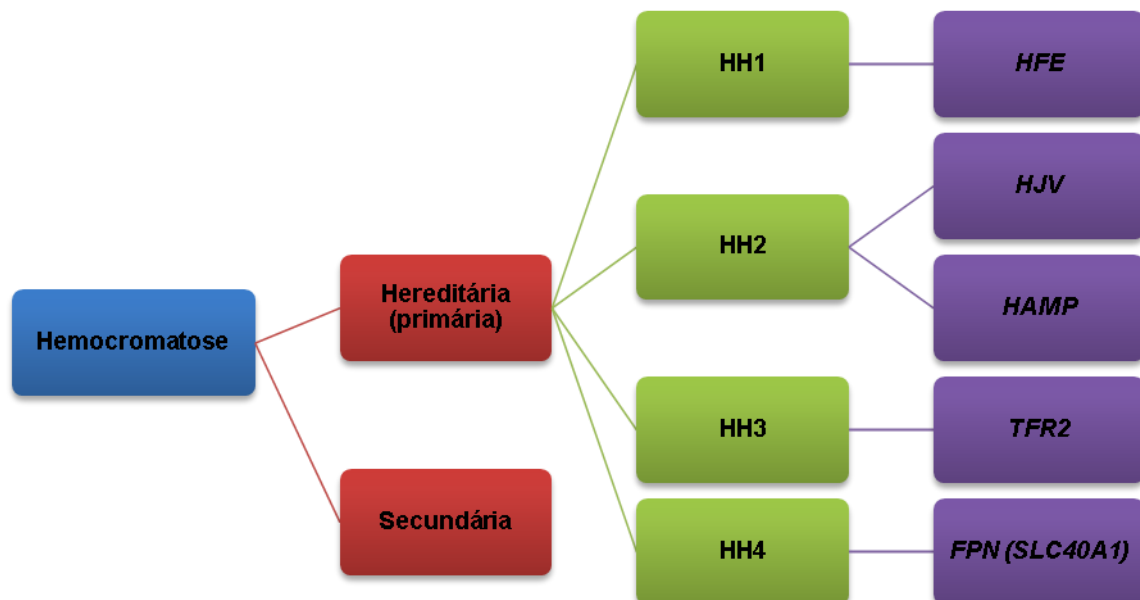


Figura 7 - Classificação das hemocromatoses. *HFE*: gene da proteína hemocromatose; *HJV*: gene da hemojuvelina; *HAMP*: gene da hepcidina; *TFR2*: gene do receptor 2 da transferrina; *FPN/SLC40A1*: gene da ferroportina.

Fonte: (MARTINELLI, 2011)

4.6 Hemocromatose hereditária

4.6.1 Hemocromatose clássica (HH1)

A hemocromatose mais comum é a hemocromatose clássica, que é ligada ao gene *HFE*, e é causada por uma herança autossômica recessiva, onde ocorre uma mutação no braço curto do cromossomo 6, que codifica para proteína da hemocromatose (HFE) que está associada à regulação da absorção do ferro pelo intestino (AYMONE et al., 2013).

A HH1 engloba três mutações possíveis que são causadas por SNPs (*single nucleotide polymorphisms*) onde a troca de um único nucleotídeo, provoca a tradução de outro aminoácido na proteína HFE. A substituição do aminoácido gera um defeito na ponte dissulfeto presente na proteína HFE, reduzindo a sua afinidade pela β 2microglobulina e interferindo na interação da HFE com o TfR1. Desta forma, com a interação HFE-TfR1 comprometida, as células não recebem o aporte necessário de ferro, permitindo a contínua absorção de ferro pelos enterócitos e interferindo na sinalização para a síntese de hepcidina que ocorre no fígado. Assim sendo, a síntese de hepcidina é reduzida, permitindo que mais ferro seja absorvido e enviado à circulação (AYMONE et al., 2013; CHEN; ENNS, 2012; FRANCHINI; APRILI; FALEZZA, 2007; GROTTTO, 2008).

4.6.2 Hemocromatose juvenil (HH2)

A hemocromatose juvenil ou HH2 é a mais severa, pois está diretamente relacionada à hepcidina. Como o próprio nome diz acomete pessoas mais novas e ocorre em homozigose. Esta hemocromatose normalmente é subdividida em 2A e 2B, de acordo com o gene afetado, entretanto há divergências entre autores quanto a qual dos genes a subdivisão se aplica. Segundo Assi e Baz (2014), Franchini, Aprili e Falezza (2007) e Santos et al. (2009), o tipo 2A corresponde a mutação no cromossomo 1 que comporta o gene *HJV* o qual codifica para a hemojuvelina,

enquanto que o tipo 2B corresponderia a deleção de um nucleotídeo do gene *HAMP* presente no cromossomo 19 e que codifica a hepcidina. Por ser um regulador da hepcidina, as alterações no *HJV* afetam a integridade da hemojuvelina interferindo na sinalização intracelular para a síntese de hepcidina, uma vez que a hemojuvelina atua como correceptor para ligação das BMPs ao seu receptor. Na deleção que ocorre no gene *HAMP*, entretanto, gera-se um peptídeo pró-hepcidina com função anormal, mantendo a ferroportina livre para a exportação de ferro para a circulação e mantendo, desta forma, a contínua absorção de ferro pelos enterócitos (MARTINELLI, 2011).

4.6.3 Hemocromatose associada ao gene *TFR2* (HH3)

O terceiro tipo de hemocromatose é considerado raro e atinge o gene *TFR2* presente no braço longo do cromossomo 7, gerando mutações no receptor 2 da transferrina. As mutações podem ser por deleção ou substituição de aminoácidos, assim como mutação *nonsense*, gerando *stop codon* e uma proteína truncada, resultando em perda de função do receptor e comprometendo a interação com o HFE e a sinalização para a síntese de hepcidina no fígado, promovendo a absorção contínua de ferro (FRANCHINI; APRILI; FALEZZA, 2007).

4.6.4 Hemocromatose ligada ao gene da ferroportina (HH4)

Diferentemente, a hemocromatose de tipo 4 tem padrão autossômico dominante e atinge o gene *FPN* (*SLC40A1*) que codifica para uma proteína com importante papel na exportação do ferro para as células, a ferroportina. São descritas duas mutações, sendo que no subtipo A ocorre uma perda funcional da ferroportina, a chamada “doença ferroportina”, onde a transferrina se apresenta normal ou pouco saturada, uma vez que a exportação de ferro será prejudicada

devido à baixa atividade da ferroportina e com aumento de ferritina. Logo, a disponibilidade de ferro a ser transportado pelo plasma pela transferrina será reduzido. Em contraste, no subtipo B a saturação da transferrina é alta, pois ocorre um “ganho de função” na ferroportina, fazendo com que a internalização e degradação desta seja comprometida, elevando o ferro plasmático (DE DOMENICO et al., 2006; OATES, 2007; MARTINELLI, 2012).

4.7 Hemocromatose secundária a transfusões sanguíneas em pacientes com hemoglobinopatias

Para compreender a hemocromatose secundária a transfusões sanguíneas em pacientes com hemoglobinopatias é necessário discutir brevemente sobre as principais hemoglobinopatias que levam a necessidade de transfusão crônica. As hemoglobinopatias são anemias regenerativas congênitas, nas quais as cadeias de globina são afetadas por mutações ou deleções, provocando alterações na sua síntese ou em sua estrutura. Na α talassemia (HbH) e β talassemias (intermediária e *major*) as mutações, de uma forma ou de outra, afetam as cadeias globínicas e as talassemias ocorrem devido à redução ou ausência das mesmas. Desta forma, não ocorre o pareamento adequado entre as cadeias α e β para formação da HbA, provocando a precipitação de cadeias α no caso da β talassemia e das cadeias β ou γ no caso de α talassemia, causando mudanças na forma, estabilidade e hidratação celulares. Já na Anemia falciforme ocorre a substituição de um único aminoácido da β globina levando a alteração da proteína na forma desoxigenada. Um dos principais tratamentos para essas doenças é a transfusão sanguínea que pode levar a hemocromatose secundária, sendo necessário um planejamento terapêutico (URBINATI; MADIGAN; MALIK, 2006).

4.8 Talassemias

As talassemias englobam um grupo de alterações genéticas de padrão autossômico recessivo em que há a redução total ou parcial na produção de uma ou mais cadeias globínicas, sendo as α e β talassemias as que representam maior significado clínico (ZAMARO; BONINI-DOMINGOS, 2010).

4.8.1 Alfa talassemias

As α talassemias se dão por uma ou mais deleções no gene da α globina. O gene afetado pode apresentar deleções parciais (α^+) ou totais (α^0). A α talassemia é considerada uma doença mais leve em relação à β talassemia, que será abordada mais a frente, devido ao fato de possuímos quatro genes que codificam para as cadeias de α globina, ou seja, para que haja um impacto clínico são necessárias várias deleções (URBINATI; MADIGAN; MALIK, 2006).

As α talassemias podem ser dispostas em α^+ ou α^0 talassemias e recebem diferentes denominações de acordo com o genótipo presente (Quadro 2).

Nomenclatura	Genótipo	Fenótipo
Normal	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$	Normal
Heterozigótica α^+	$-\alpha/\alpha\alpha$	Assintomáticos
Homozigótica α^+	$-\alpha/-\alpha$	
Heterozigótica α^0	$--/\alpha\alpha$	
HbH	$--/-\alpha$	Sintomáticos
Hb Bart's ou hidropsia fetal	$--/--$	

Quadro 2: nomenclatura e genótipo das α talassemias.

α^+ : redução de α globina; α^0 : ausência de α globina.

Fonte: (OLIVEIRA; POLI NETO, 2004)

4.8.1.1 Alfa talassemias – pacientes assintomáticos

As α^+ talassemias são o resultado de uma deleção em um dos pares de genes presentes no cromossomo 16, que provoca redução na quantidade de cadeias α . Podem apresentar-se em heterozigose ($-\alpha/\alpha\alpha$) ou homozigose ($-\alpha/-\alpha$). Em eventos como estes, os pacientes são assintomáticos e, desta forma, não necessitam de transfusões. As α^0 talassemias são assim representadas pois ocorre a ausência de cadeias α globínicas devido a deleção de genes codificantes às mesmas e assim como na α^+ talassemia, o defeito pode ocorrer em heterozigose ($--/\alpha\alpha$) (HIGGS; WEATHERALL, 2009; GALANELLO; CAO, 2011).

4.8.1.2 Alfa talassemias – pacientes sintomáticos

Uma vez que não há cadeias de α globina suficientes para a síntese de uma hemoglobina estável, ocorre a precipitação das cadeias γ (γ_4) durante a vida fetal, sendo este distúrbio conhecido como hemoglobina Bart's ($--/--$) ou hidropsia fetal, que é extremamente grave, pois não havendo intervenção médica adequada, é possível que haja morte neonatal ou o nascimento do feto com hidropsia fetal, que é incompatível com a vida. Com o desenvolvimento do organismo, há a troca das cadeias γ pelas cadeias de β globina. Assim sendo, tem-se a precipitação das cadeias β e a instalação da doença HbH ($--/-\alpha$), na qual os pacientes são portadores de uma anemia moderada a severa, já que a hemoglobina presente no organismo deles é instável (HIGGS; WEATHERALL, 2009; MUSALLAM et al., 2013).

Na α talassemia o excesso pode ser de cadeias β ou γ globínicas e estas cadeias têm a capacidade de formarem tetrâmeros parcialmente solúveis. Estas diferenças bioquímicas entre as cadeias globínicas geram diferenças na gravidade e desenvolvimento das doenças. Na α talassemia como não há excesso de α globinas os danos aos precursores eritróides são moderados, causando muito mais hemólise nas células vermelhas do que eritropoese ineficaz, uma vez que cadeias α globínicas podem se precipitarem nos precursores eritroides. O excedente de β globina pode

gerar inclusões que, assim como na β talassemia, resultam em danos à membrana celular, expondo fosfolipídeos desencadeando apoptose e ativação de plaquetas. A rigidez das células não é tão acentuada quanto na β talassemia e as células são mais hidratadas e estáveis (URBINATI; MADIGAN; MALIK, 2006; GREER et al., 2009).

Em vista dos danos sofridos pelos eritrócitos devido à hemoglobina instável e pelas hemólises sofridas, os pacientes apresentam anemia moderada a grave. Cerca de 29% a 50% dos pacientes requerem transfusões sanguíneas intermitentes, e por serem intermitentes não possuem um esquema transfusional padronizado. As transfusões, mesmo que intermitentes e juntamente com o aumento da absorção intestinal de ferro devido à anemia, podem provocar hemocromatose secundária nestes pacientes, uma vez que o excesso de ferro causa sobrecarga e não há mecanismo fisiológico para a excreção deste metal (COHEN et al., 2004).

4.8.2 Beta talassemias

As β talassemias, assim como as α talassemias, são causadas pela redução (β^+) ou ausência (β^0) na síntese de cadeias β globínicas. As β talassemias são classificadas em três grupos, como é possível observar no Quadro 3 (KOHNE, 2011).

As talassemias são geralmente causadas por mutações, sendo que há mais de 200 delas conhecidas e dificilmente os pacientes desenvolvem a doença por meio de deleções do gene (CAO; GALANELLO, 2010).

Conforme Urbinati, Madigan e Malik (2006), os defeitos na β globina podem ocorrer por substituição de um único nucleotídeo (SNP), deleção ou inserção de oligonucleotídeos. As mutações podem afetar:

- A região promotora do gene e a regiões 3' ou 5' UTR (regiões não tradutoras);
- O processamento do mRNA (RNA mensageiro), englobando mutações no *splicing*, na sequência de regiões consenso, na poliadenilação e substituição ou pequena deleção na região 3' UTR;

- A tradução do mRNA por mutações *nonsense*, *frameshift* e no códon de iniciação.

As β^0 talassemias geralmente resultam de deleções, mutações *nonsense*, no códon de iniciação e no *splicing*, enquanto que as β^+ normalmente acontecem devido a mutações na região promotora do gene, no *splicing*, na poliadenilação ou nas regiões 3' ou 5' UTR (CAO; GALANELLO, 2010).

Como observado no Quadro 3, as β talassemias são classificadas em *minor*, intermediária e *major*.

Talassemia Genótipo	β talassemia <i>minor</i>	β talassemia intermediária	β talassemia <i>major</i>
Heterozigose	β/β^+ β/β^0	-	-
Homozigose	-	β^+/β^+	β^0/β^0 β^+/β^+
Heterozigose composta (^c)	-	β^+/β^+ β^0/β^+	β^0/β^+ β^+/β^+

Quadro 3: classificação e genótipo das β talassemias.

^c Ambos os alelos são afetados, porém por mutações distintas; β^0 : ausência de cadeias β ; β^+ : redução de cadeias β .

Fonte: (KOHNE, 2011)

4.8.2.1 Beta talassemia *minor*

A β talassemia *minor* é dita como talassemia tratável e é a doença mais amena uma vez que é assintomática. A anemia é leve ou inexistente, com elevadas concentrações de HbA₂ e sem a necessidade de terapia transfusional. Mesmo sendo uma doença assintomática, o diagnóstico é importante para aconselhamento genético, afinal o gene defeituoso pode ser transmitido para os descendentes. (URBINATI; MADIGAN; MALIK, 2006).

4.8.2.2 Beta talassemia intermediária

A β talassemia intermediária, como o próprio nome sugere, é mais agressiva que a talassemia *minor*, porém menos que a *major*. Os pacientes acometidos por esta talassemia possuem altos níveis de HbF e níveis variados de HbA₂.

Estes pacientes recebem tratamento por suplementação de ácido fólico e as transfusões ocorrem em casos específicos, geralmente a cada 2 ou 3 semanas. As transfusões sanguíneas são necessárias para manter os níveis de hemoglobina entre 9g/dL e 10,5g/dL (gramas por decilitro de sangue) e são indicadas quando há retardo no crescimento, risco de deformidades ósseas e em casos de hematopoese extramedular (MUNCIE JUNIOR; CAMPBELL, 2009; ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE TALASSEMIA, 2015; INSTITUTO ESTADUAL DE HEMATOLOGIA ARTHUR DE SIQUEIRA CAVALCANTI, 2015).

4.8.2.3 Beta talassemia *major*

Esta talassemia é sintomática e a mais grave. Os sintomas como palidez, anemia e déficit de crescimento surgem por volta do 6º mês de vida, período em que os níveis de HbF passariam a diminuir devido a transição para a HbA, o que não ocorre nesta doença. A eritropoese é ineficiente, resultando em hiperplasia medular e deformidades ósseas, além de esplenomegalia. Os pacientes necessitam de transfusões sanguíneas regulares durante toda a vida, uma vez que eles têm deficiência das β globinas e, caso não haja intervenção médica, os pacientes morrem ainda na infância (RUND; RACHMILEWITZ, 2005).

Na β talassemia as cadeias α globínicas desemparelhadas, por serem instáveis, não formam tetrâmeros e desta forma, elas precipitam e são oxidadas, originando os chamados hemicromos, os quais se agregam e formam inclusões que causam danos à membrana e ao conteúdo celular. Este processo pode ocorrer tanto nos precursores eritróides, quanto nas células vermelhas maduras. Quando o processo se dá nos precursores eritróides a eritropoese passa a ser ineficaz, a

fosfatidilserina é exposta na membrana celular sinalizando aos macrófagos para a fagocitose e apoptose da célula. Entretanto quando o processo ocorre nas células vermelhas maduras, a membrana celular ao passar pela microcirculação, sofre danos devido às inclusões presentes na célula, levando à hemólise extravascular no baço (SONATI; COSTA, 2008).

A exposição da fosfatidilserina não só ativa a apoptose como também as plaquetas, uma vez que este fosfolípido é pro-coagulante e aumenta a produção de trombina e, por conseguinte, a ativação de plaquetas podendo gerar processos oclusivos. Na doença ocorre também a redução de proteínas anticoagulantes como a proteína S, C e antitrombina, contribuindo ainda mais para a hipercoagulação (RUND; RACHMILEWITZ, 2005; ATAGA; CAPPELLINI; RACHMILEWITZ, 2007).

Diversas anormalidades estruturais e funcionais são encontradas nas células dos indivíduos talassêmicos. Entre elas estão o aumento na perda de potássio, aumento à permeabilidade ao cálcio e desidratação celular, resultando em uma célula deformada. Também ocorrem alterações na rigidez da membrana: na β -talassemia as células são rígidas devido à proteína 4.1 sofrer uma oxidação parcial, interferindo na ligação da espectrina à actina, o que, em condições normais têm papel essencial na estabilidade da membrana. A proteína da banda 3 exposta pode sofrer associação com hemicromos criando um neo-antígeno, o qual é opsonizado pelo complemento e por imunoglobulinas G (IgG), e as células são removidas por macrófagos. Para combater a anemia o organismo responde com aumento na produção de eritropoetina, gerando hiperplasia eritróide, a qual origina expansão eritróide contribuindo para deformidades ósseas, osteoporose e para esplenomegalia (RUND; RACHMILEWITZ, 2005; SONATI; COSTA, 2008; GREER et al., 2009).

O ferro não ligado a transferrina e o ferro decorrente da desintegração do heme sofrem oxidação por reação de Fenton, gerando espécies reativas de oxigênio que causam peroxidação de lipídeos, fibrose de órgãos como fígado, coração e pâncreas devido à estimulação a formação de colágeno, a danos à membrana celular e seu conteúdo (ATAGA; CAPPELLINI; RACHMILEWITZ, 2007; AYMONE et al., 2013).

As transfusões sanguíneas na β talassemia *major* ocorrem a cada 2, 3 ou até 4 semanas, dependendo da recomendação médica e de acordo com o estado de saúde do paciente. As transfusões são importantes para manter os níveis satisfatórios de hemoglobina e a oxigenação dos tecidos, assim como evitar complicações ósseas. Como os indivíduos β talassêmicos recebem transfusões durante toda a vida, a quantidade de ferro recebida pelo organismo é altíssima e o número de transfusões influencia diretamente na sobrecarga de ferro, uma vez que um indivíduo recebendo transfusões a cada duas semanas possuirá uma quantidade de ferro muito superior ao indivíduo que é transfundido a cada quatro semanas e este fato implicará na gravidade da hemocromatose e na sua forma de tratamento. Não há dados sobre a incidência e prevalência da sobrecarga de ferro neste pacientes; entretanto, segundo dados da Associação Brasileira de Talassemia, há 202 casos de β talassemia intermediária e 301 de β talassemia *major*, ou seja, pacientes que dependem de transfusões regulares ou esporádicas, as quais podem levar à hemocromatose secundária. As complicações cardíacas são as mais preocupantes, sendo estas as maiores causas de mortalidade nos pacientes beta talassêmicos com sobrecarga de ferro (BIRGENS; LJUNG, 2007; MUNCIE JUNIOR; CAMPBELL, 2009; (THALASSAEMIA INTERNATIONAL FEDERATION, 2014).

4.9 Anemia falciforme

A anemia falciforme é o resultado de uma mutação pontual por transversão no gene da β globina, onde a substituição de única base ($A \rightarrow T$) no códon implica na troca do aminoácido ácido glutâmico pela valina no sexto aminoácido da proteína. O distúrbio pode ocorrer em heterozigose, onde somente um alelo é afetado pela mutação, ocasionando em uma doença menos grave e tratável. No distúrbio em homozigose, ambos os alelos são afetados pela mutação, resultando na hemoglobina HbS. Dentre as heterozigoses a mais grave é a HbS/ β talassemia, pois além de um alelo ser afetado pela mutação causadora da anemia falciforme, o outro alelo possui ausência ou redução de cadeias β (MADIGAN; MALIK, 2006).

Esta troca de aminoácidos altera a polaridade da hemoglobina, favorecendo a interação de moléculas, a polimerização da HbS e a falcização dos eritrócitos. O baixo pH e a baixa oxigenação faz com que as moléculas de HbS se polimerizem e, caso não haja uma rápida oxigenação, estes polímeros passam a se agregarem e alteram o formato do eritrócito, dando a ele o formato de foice. A concentração de HbS também está ligada à polimerização, sendo que quanto maior a sua concentração, maiores as chances de polimerização. Entretanto, a quantidade de HbF também tem influência na polimerização, uma vez que estas moléculas inibem a polimerização, explicando o porquê das primeiras manifestações clínicas ocorrerem após os seis meses de vida. Na anemia falciforme a atividade do canal K^+/Cl^- está aumentada, gerando um maior efluxo de potássio e cloreto, acompanhados pela água, ocasionando desidratação celular. Outra atividade aumentada é a do canal de Gardos, onde o aumento de cálcio intracelular promove o efluxo de potássio e água, contribuindo também para desidratação celular e, assim, aumentando a concentração de HbS na células e sua rigidez, reduzindo a vida eritrocitária e contribuindo para a anemia (MADIGAN; MALIK, 2006; ZAGO; PINTO, 2007, STEINBERG, 2008).

As células falcizadas tem grande capacidade de se aderirem ao endotélio graças a moléculas de adesão que se expõem na membrana como a CD47, $\alpha 4\beta 1$ e a fosfatidilserina, e aos reticulócitos que expressam grande quantidade de CD36 favorecendo também a ativação de plaquetas e eventos vaso-oclusivos que ocorrem principalmente na microcirculação, podendo também ocorrer em grandes artérias. A vaso-oclusão dificulta a perfusão dos tecidos e aumenta a hemólise, a qual indiretamente reduz o óxido nítrico (NO), implicando em redução da vasodilação. As alterações que os eritrócitos sofrem de uma forma ou de outra levam à complicações cardíacas, pulmonares, neurológicas, infecções, crises aplásticas e hemolíticas, sequestro esplênico e crises vaso-oclusivas (ZAGO; FALCÃO; PASQUINI, 2004; SONATI; COSTA, 2008, BRUNETTA et al., 2010).

As transfusões sanguíneas são menos frequentes nos pacientes acometidos por anemia falciforme em comparação aos pacientes talassêmicos que necessitam de transfusões durante toda a vida. As principais indicações são em casos de sequestro esplênico, onde o baço acumula grande quantidade de sangue, com queda mínima de 2g/dL de hemoglobina e tentativa de compensação pela medula

óssea. Casos como estes podem levar a choque hipovolêmico e morte, necessitando, desta forma, de transfusão sanguínea. Transfusões também são indicadas para pacientes com crise aplástica, a qual é desencadeada por infecção por parvovírus culminando em parada temporária da eritropoese por até 10 dias, quando então a eritropoese se normaliza. Neste período, entretanto, uma intervenção transfusional pode ocorrer. Geralmente as transfusões se fazem necessárias para manter os níveis de HbS abaixo de 30%, em casos de crise torácica aguda e AVC (acidente vascular cerebral). As transfusões, quando necessárias, mantem intervalos de 3 a 4 semanas e variam de acordo com o motivo da transfusão, ou seja, de acordo com o quadro clínico do paciente, podendo realizar transfusões simples com a infusão de eritrócitos saudáveis de um doador e eritrocitaférese, sendo este último método também utilizado como profilaxia para a sobrecarga de ferro. Assim como na β talassemia, não há dados de incidência e prevalência de sobrecarga de ferro nestes pacientes, porém, cerca de 25.000 a 30.000 pessoas são afetadas pela doença no Brasil e muitos pacientes iniciam transfusões sanguíneas logo na infância, a fim de evitar acidentes vasculares. As transfusões realizadas ao longo da vida, inevitavelmente levam a uma sobrecarga de ferro e, conseqüentemente, a danos teciduais (ZAGO; FALCÃO; PASQUINI, 2004; GREER et al., 2009; PORTER, 2009; PORTER; GARBOWSKI, 2013).

5 FISIOPATOLOGIA DA HEMOCROMATOSE

A hemocromatose se dá pelo excesso de ferro nos tecidos, sendo este ferro proveniente de politransfusões (hemocromatose secundária) e pelo aumento da absorção intestinal (hemocromatose hereditária). Como já foi dito, o organismo humano não possui um mecanismo fisiológico para excreção do excesso de ferro e, desta forma, o excesso é armazenado na forma de ferritina, ou distribuído, na forma férrica, pela proteína transportadora do ferro, a transferrina. Entretanto, a transferrina possui um grau de saturação que não permite que a mesma comporte todo o ferro disponibilizado a ela.

O ferro livre no plasma, ou seja, aquele não acoplado à transferrina é o chamado ferro não ligado à transferrina (NTBI, do inglês *nontransferrin-bound iron*) e é um dos contribuintes para os danos do ferro no organismo, uma vez que, em condições normais, este não está presente no plasma ou está em quantidades mínimas. O NTBI possui uma fração que é dita como a principal responsável pelos danos teciduais, uma vez que esta tem a capacidade de gerar radicais livres, ou seja, elétrons desemparelados, que causam danos às células (TAHER; MUSALLAM; INATI, 2009).

Esta fração é conhecida como ferro plasmático lábil (LPI, do inglês *labile plasma iron*) e é capaz de entrar em células do fígado, pâncreas, coração, hipófise e tireoide por meio de canais de cálcio e transportadores de zinco, mas o mecanismo ainda não está totalmente esclarecido, assim como a preferência por tais tecidos. Uma vez dentro da célula, a fração do NTBI permite a formação de radicais hidroxila ($\text{OH}^\cdot$), causando danos a aminoácidos e proteínas, ao DNA, além da peroxidação lipídica e fibrose dos órgãos devido à estimulação à formação de colágeno (VASCONCELOS et al., 2007; PORTER, 2009).

Além disso, foi demonstrada a secreção de moléculas pelos eritroblastos, as quais causam *downregulation* na hepcidina que, como foi visto anteriormente, tem papel fundamental na homeostase do ferro e pode ser regulada pelos níveis de ferro, hipóxia e por citocinas inflamatórias. Estas duas moléculas citadas são o fator

15 de diferenciação do crescimento (GDF15, do inglês *growth differentiation factor-15*) e gastrulação torcida 1 (TWSG1, do inglês *twisted gastrulation-1*). Os níveis séricos de GDF15 estão aumentados em pacientes talassêmicos e os níveis de hepcidina nestes pacientes estão reduzidos. Desta forma, os níveis de GDF15 estão inversamente proporcionais aos de hepcidina, demonstrando que, por algum mecanismo ainda não esclarecido, o GDF15 suprime a síntese de hepcidina inibindo a sinalização intracelular (Figura 8). O inverso também é observado, ou seja, a depleção do GDF15 demonstrou uma redução na supressão dos níveis de hepcidina. A hipóxia tecidual, o desbalanço das cadeias globínicas que contribuem para apoptose e a expansão medular podem ser fatores que estimulam a secreção de GDF15 (CAZZOLA; PORTA; MALCOVATI, 2008; TANNO et al., 2007).

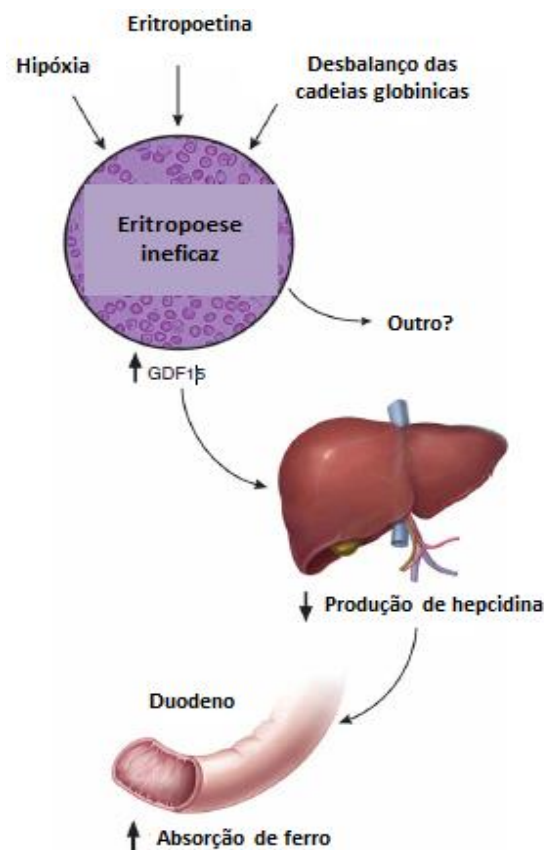


Figura 8 - Modelo de regulação do ferro em pacientes com talassemia. Neste modelo, a hipóxia, a eritropoetina e o desbalanço das cadeias globínicas resultariam em uma eritropoese ineficaz, provocando um aumento na secreção de GDF15 pelos precursores eritroides e possivelmente de outras moléculas. A elevação de GDF15 irá interferir na regulação da hepcidina, reduzindo a sua produção e impedindo sua ligação a ferroportina nos enterócitos, provocando um aumento na absorção de ferro.

GDF15: fator 15 de diferenciação do crescimento.

Fonte: (TANNO, 2007)

O mecanismo envolvendo a TWSG1, por outro lado, é mais claro. Esta molécula assim como o GDF15 é secretada por precursores eritróides e ela age inibindo a sinalização intracelular promovida pela ligação da BMP (proteínas morfogenéticas do osso) ao seu receptor, como observado na Figura 9. Com a inibição da sinalização a hepcidina não é transcrita e, com a redução dos seus níveis não ocorre a degradação da ferroportina, aumentando a exportação de ferro pelos enterócitos para a circulação (SIDDIQUE; KOWDLEY, 2012; TANNO, 2009).

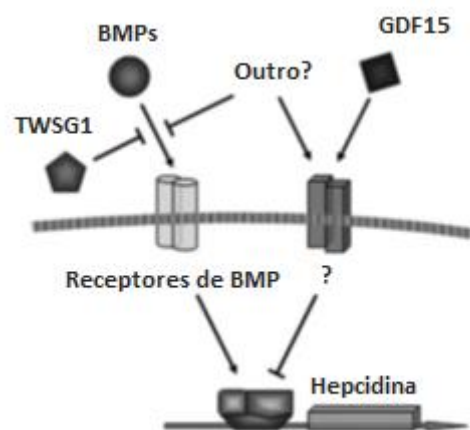


Figura 9 - Modelo de atuação da TWSG1 e GDF15. Neste modelo a TWSG1 impede a ligação das BMPs ao seu receptor, impedindo a sinalização para a síntese de hepcidina. Além disso, a GDF15, por um mecanismo não esclarecido, também impede esta sinalização, interferindo na síntese de hepcidina. Outras moléculas também podem estar envolvidas na redução da síntese de hepcidina.

BMPs: proteínas morfogenéticas do osso; **GDF15:** fator 15 de diferenciação do crescimento;

TWSG1: gastrulação torcida 1.

Fonte: (TANNO et al., 2009)

Os níveis de GDF15 nos pacientes com anemia falciforme não estão aumentados como nos pacientes talassêmicos e isso pode ser explicado pelas características de cada doença. A anemia falciforme tem como característica a oclusão pelo afoçamento das células e a hemólise, enquanto que nas talassemias há muita eritropoese ineficaz e tentativa de compensação pela medula, provocando um aumento de precursores eritroides. Devido a isso, haveria menos estimulação à secreção de GDF15 nos pacientes falciformes em comparação com os talassêmicos, explicando as diferenças no aumento dos níveis de GDF15. Os pacientes com anemia falciforme têm também níveis reduzidos de LPI, os quais poderiam ser

explicados pela baixa concentração de GDF15, em comparação com os pacientes talassêmicos, pois, uma vez que não haja ampla secreção de GDF15, não haverá supressão da hepcidina, e logo não haverá aumento na absorção de ferro, reduzindo os níveis de NTBI e LPI. Além disso, os níveis reduzidos de LPI em pacientes acometidos pela anemia falciforme pode estar ligado também ao regime transfusional terapêutico em cada doença. Considerando-se que pacientes β talassêmicos dependem de transfusões por toda a vida, estes pacientes recebem uma carga muito maior de ferro, enquanto que pacientes falciformes, por recebem transfusões esporádicas, terão um menor acúmulo de ferro (HENTZE et al., 2010).

O intestino possui fatores que controlam a absorção intestinal e estes fatores têm papel no desenvolvimento da hemocromatose. O fator $\alpha 2$ induzível por hipóxia (HIF $\alpha 2$, do inglês *hypoxia-inducible factor 2 alpha*), pertence a uma família de fatores de transcrição que controlam os genes responsáveis pela codificação da DMT1. Os mecanismos envolvidos não estão totalmente esclarecidos, mas Anderson et al. (2013) e Mastrogiannaki et al. (2009), em estudos com camundongos, sugerem que a hipóxia intestinal induz a ativação de HIF $\alpha 2$ e este fator leva à expressão de DMT1, o que aumenta a absorção de ferro pelos enterócitos. Nos estudos também observou-se que a inibição de HIF $\alpha 2$ reduz a sobrecarga de ferro nos camundongos. Os genes das proteínas Dcytb e ferroportina parecem ser alvos também do HIF $\alpha 2$, entretanto o mecanismo ainda não está elucidado.

6 DIAGNÓSTICO DA HEMOCROMATOSE

6.1 Perfil clínico da hemocromatose

Na análise clínica da doença pode-se observar aumento de órgãos como fígado (hepatomegalia) e baço (esplenomegalia) devido à eritropoese extramedular e pelo próprio acúmulo de ferro nestes órgãos. A esplenomegalia pode ser explicada, também, pela grande quantidade de hemólise. As alterações no fígado podem evoluir ainda para cirrose e fibrose (AYMONE et al., 2013).

Devido às alterações endócrinas causadas pelo excesso de ferro no pâncreas, hipófise, gônadas e tireóide, os pacientes podem apresentar diabetes, infertilidade e comprometimento do crescimento, hipogonadismo e hipotireoidismo, podendo ocorrer casos de hipertireoidismo. A hiperpigmentação é bastante comum em paciente com hemocromatose devido ao aumento da melanina e pela deposição de ferro na camada basal da epiderme. As áreas da pele mais afetadas são as que ficam mais expostas ao sol como face, pescoço, braços e pernas, deixando a pele com uma pigmentação bronzeada e algumas vezes acinzentada (SIDDIQUE; KOWDLEY, 2012).

As complicações cardíacas são as mais preocupantes na hemocromatose devido à alta mortalidade dos pacientes por este motivo. O excesso de ferro no órgão leva a cardiomiopatia provocando principalmente insuficiência cardíaca e arritmias (COHEN et al., 2004).

6.2 Perfil laboratorial da hemocromatose

Para determinar a sobrecarga de ferro nos pacientes talassêmicos e falciformes os diagnósticos mais utilizados são: ferritina sérica, saturação da transferrina e concentração hepática de ferro (CHF). Os métodos utilizados auxiliam não só no diagnóstico, mas também como forma de acompanhamento do tratamento e prognóstico (ANGULO et al., 2008).

6.2.1 Ferritina sérica

A avaliação dos níveis de ferritina sérica é um dos principais métodos laboratoriais para mensurar a sobrecarga de ferro, pois reflete as reservas de ferro no organismo: 1ng/mL de ferritina sérica corresponde entre 8mg – 10mg de ferro estocado. O método é um quantitativo, reprodutível e de baixo custo. Os resultados, entretanto, não devem ser analisados isoladamente, pois há fatores que aumentam os níveis de ferritina e que não estão relacionados com a sobrecarga, como por exemplo, consumo de álcool, hepatopatias e inflamação. Como foi visto anteriormente, nos casos de inflamação há a liberação de interleucinas, como a IL-6, que regulam positivamente a síntese de hepcidina, retendo o ferro nas células e aumentando os níveis de ferritina. Estes casos devem ser considerados principalmente nos pacientes com anemia falciforme, onde geralmente ocorrem crises inflamatórias, podendo criar uma falsa ideia de aumento férrico, quando na verdade é a inflamação que está agindo. Os valores de referência para homens saudáveis estão entre 15ng/mL e 300ng/mL, enquanto que para mulheres em idade fértil estão entre 15ng/mL e 200ng/mL. Os valores de referência para sobrecarga de ferro estão dispostos na Tabela 1 (CANÇADO, 2007; BOURBON FILHO, 2011).

6.2.2 Saturação da transferrina

A saturação da transferrina diz respeito à relação entre a quantidade de ferro sérico e a capacidade total de ligação do ferro à transferrina. Desta forma, o exame analisa quanto de ferro a transferrina carrega com ela, o quanto ela está saturada com o metal. Indivíduos saudáveis normalmente mantem a saturação em 30%, ou seja, 30% do ferro está ligado à transferrina. Na sobrecarga de ferro, o organismo comporta muito ferro e este deve ser distribuído, saturando a transferrina. Valores acima de 50% representam sobrecarga de ferro e, quando a proteína tem sua capacidade excedida, detecta-se o ferro não ligado à transferrina, o qual pode se instalar em outros tecidos e está intimamente ligado aos danos teciduais causados na hemocromatose (NICOLL et al.,2014; NOVARTIS AG, 2015).

6.2.3 Concentração hepática de ferro (CHF)

Sendo o fígado o maior depósito de ferro do organismo sua avaliação é essencial. A concentração de ferro hepático (CHF) é um método que permite estimar o ferro corporal total a partir de biópsia e ressonância magnética, e é considerado um dos melhores métodos para a avaliação do ferro. O valor do estoque total de ferro pode ser determinado pela fórmula:

$$\text{Estoque de ferro total (mg/kg)} = 10,6 \times \text{CHF (mg Fe/g de peso seco)}$$

6.2.3.1 CHF por biópsia

A biópsia é um dos melhores métodos para avaliação, pois além de identificar a sobrecarga de ferro, permite a observação de fibrose, cirrose e processos inflamatórios que auxiliam no diagnóstico e prognóstico do paciente e por não haver interferência de outros fatores como ocorre na análise da ferritina sérica. Entretanto, o método é invasivo, podendo gerar hemorragias e infecções. A CHF pode oferecer dados divergentes devido ao tamanho do material obtido pela biópsia e por distribuição heterogênea do ferro no tecido hepático (FABRON JR.; TRICTA, 2003; CANÇADO, 2007).

Tabela 1: valores de referência para indivíduos saudáveis e na sobrecarga de ferro

Método diagnóstico	Valor de referência	Sobrecarga de ferro		
		Leve	Moderada	Grave
Ferritina sérica (ng/mL)	< 200 (mulheres) < 300 (homens)	≥ 300 a <1000	≥ 1000 a < 2500	≥ 2500
Saturação da transferrina (%)	20 – 50	> 50		
CHF (mg Fe/g)	<2	3 a 7	>7 a <15	≥ 15
T2* (ms)	>20	14 – 20	8 – 14	<8

CHF: concentração hepática de ferro; T2*: análise por ressonância magnética por ponderação T2*.

Fonte: (CANÇADO, 2007; TAHER; MUSALLAM; INATI, 2009).

6.3 Análise por exames de imagem

6.3.1 CHF por RM

A RM é um método não invasivo e permite identificar, mesmo que indiretamente, a concentração hepática de ferro, devido à relação entre a mudança do sinal e o grau de ferro no tecido, uma vez que a sobrecarga altera o parênquima hepático e a intensidade do sinal. A ressonância magnética é um método excelente, pois além de ser possível analisar a CHF, tem-se também uma visão mais ampla da sobrecarga hepática sem interferentes como inflamação ou fibrose. Os valores de referência estão na Tabela 1. A ressonância magnética é um método que só tende a crescer e se desenvolver, mas muito ainda tem que ser feito, pois há a necessidade de padronizar e validar a técnica (BOURBON FILHO et al., 2011; ANGULO et al., 2008).

6.3.2 Ferro cardíaco por RM

Sendo as cardiomiopatias as maiores causas de mortalidade dos indivíduos acometidos pela hemocromatose, a avaliação cardíaca é essencial e esta é realizada por RM por ser um método não invasivo. A avaliação cardíaca por RM é realizada por ponderação T2* que permite uma avaliação mais sensível do ferro e uma aquisição de imagens mais fácil e simples. Valores de T2* abaixo de 20ms (milissegundos) estão associados com aumento de ferro no órgão e, consequentemente, a maiores riscos de doenças cardíacas, uma vez que o ferro interfere no campo magnético. Assim como a análise hepática, a RM permite uma avaliação geral do coração, e também necessita de padronizações da técnica (NOVARTIS AG, 2015).

7 PROFILAXIA PARA HEMOCROMATOSE TRANSFUSIONAL

A terapia transfusional crônica, embora possa trazer complicações, como o acúmulo de ferro em tecidos, é uma terapia que não pode ser excluída para o tratamento dos pacientes com talassemias e anemia falciforme. Desta forma, deve-se recorrer a métodos profiláticos a fim de evitar que estes pacientes desenvolvam uma sobrecarga de ferro, que este acúmulo não cause danos teciduais e que a excreção de ferro seja superior ao ferro recebido por meio das transfusões.

7.1 Eritrocitaférese

A eritrocitaférese é um método muito utilizado em pacientes com anemia falciforme como regime de transfusão e acaba sendo empregado também como método preventivo não só para a anemia falciforme, como para as talassemias.

Neste procedimento o sangue total do paciente é retirado por meio de um método automatizado e os componentes sanguíneos são separados por centrifugação, permitindo que estes sejam retidos e infundidos novamente. A aférese é classificada de acordo com o componente sanguíneo retido, desta forma, quando ocorre a retenção de eritrócitos, recebe-se o nome de eritrocitaférese. O uso deste método com finalidade terapêutica nas hemoglobinopatias como anemia falciforme e as talassemias permite, basicamente, que o sangue total seja coletado, fracionado e os eritrócitos sejam retidos. O plasma do paciente é infundido novamente, juntamente com os eritrócitos saudáveis do doador, permitindo a melhor oxigenação dos tecidos, a manutenção dos níveis de hemoglobina, além da retirada de HbS dos pacientes com anemia falciforme e redução do acúmulo de ferro (BARTON, 2007).



Figura 10 - Equipamento de aférese de fluxo contínuo.

Fonte: (CONTATTI MEDICAL)

O método automatizado possui dois tipos de máquinas, as de fluxo contínuo (Figura 10), as quais têm acesso venoso nos dois braços e as de fluxo descontínuo com acesso a somente um dos braços do paciente. No fluxo contínuo, por uma das veias é realizada a aspiração do sangue total, sendo este centrifugado para a separação dos componentes e o plasma é infundido novamente. Ao mesmo tempo ocorre a infusão dos eritrócitos do doador pela outra veia. No fluxo descontínuo, após a separação dos componentes, os eritrócitos são descartados e o plasma é devolvido junto com os eritrócitos do doador (BORDIN; LANGHI JÚNIOR; COVAS, 2007).

Comparado a outras técnicas como a flebotomia, a eritrocitaférese remove mais ferro e em um período menor de tempo, além de poupar proteínas, fatores de coagulação e plaquetas. Para este procedimento os pacientes devem apresentar um valor de hemoglobina maior ou igual a 12g/dL e o volume de eritrócitos retirados

devem respeitar a idade, gênero, altura e hematócrito do paciente, sendo que este último parâmetro não deve ultrapassar os 30% após o procedimento. Embora o alto custo possa ser balanceado pela redução de sessões de eritrocitaférese, entre as desvantagens estão, também, a dificuldade dos hospitais em apresentarem funcionários adequadamente treinados (ADAMS; BARTON, 2010; ROMBOUT-SESTRIENKOVA et al., 2012).

7.2 Flebotomia

Flebotomia, também conhecida como sangria, é um procedimento muito semelhante a uma doação sanguínea, sendo um método rápido e simples. A terapia é muito utilizada por pacientes com anemia falciforme, em especial àqueles que não realizam a terapia por eritrocitaférese, uma vez que a flebotomia é um procedimento de menor custo.

O método consiste na remoção de cerca de 450mL de sangue, promovendo a retirada de 200mg a 250mg de ferro do organismo. O objetivo do procedimento é reduzir os valores de ferritina sérica para 25ng/mL a 50ng/mL e manter a saturação da transferrina abaixo de 40%, podendo então aumentar o período entre as flebotomias que, inicialmente, são semanais até que o objetivo seja atingido. O processo é realizado de 4 a 6 vezes ao ano nos pacientes homens e de 2 a 4 vezes nas mulheres, para que a ferritina sérica seja mantida entre 100ng/mL e 200ng/mL (COOK, 2010; LEAL et al., 2013; ASSI; BAZ, 2014).

O procedimento demora de 15 a 30 minutos, como uma doação de sangue comum. Recomenda-se uma pré-hidratação dos pacientes e bebidas contendo sal para manter o volume plasmático antes e após a flebotomia. Em alguns casos, quando o paciente apresentar hipotensão ou tontura, realiza-se uma infusão de solução salina para restaurar o volume plasmático (ADAMS; BARTON, 2010).

A flebotomia, no entanto, deve ser muito bem analisada devido à condição anêmica de alguns pacientes. Esta profilaxia poderia ser empregada para pacientes que estejam com a anemia combatida. Além disso, a flebotomia parece induzir o

aumento de GDF15 e TWSG1, uma vez que os níveis de hemoglobina seriam reduzidos, estimulando a eritropoese, permitindo que os precursores eritroides secretem estas moléculas e estas, por sua vez, induziriam a redução de hepcidina, permitindo que mais ferro seja absorvido. Para estes pacientes o tratamento ideal é com o uso de quelantes de ferro, como será abordado a seguir (FRANCHINI; APRILI; FALEZZA, 2007; HENTZE et al., 2010).

7.3 Quelantes de ferro

Outra opção para a eliminação do excesso de ferro do organismo é o uso de quelantes de ferro, sendo este o método profilático mais utilizado atualmente. Até o momento há três quelantes disponíveis: desferroxamina, deferiprona e deferasirox. A terapia quelante é recomendada para pacientes talassêmicos dependentes de transfusão após 10 a 20 transfusões sanguíneas ou quando os valores de ferritina sérica ultrapassarem 1000ng/mL, assim como na anemia falciforme (NOVARTIS AG, 2015).

7.3.1 Desferroxamina

Este quelante foi empregado na década de 70 e é o agente quelante mais antigo. O agente é composto por uma molécula hexavalente, permitindo que uma molécula de desferroxamina se ligue a um átomo de ferro e forme um complexo hidrossolúvel, o qual é eliminado por via renal. O ferro ligado à transferrina e à hemoglobina não é afetado, excretando somente o ferro em excesso (ANDERSON et al., 2013).

A desferroxamina não possui uma absorção intestinal satisfatória e por isso não é utilizada na forma oral, mas sim por via subcutânea (por meio de um aparelho infusor) ou por via intravenosa. A dose recomendada é de 20mg a 60mg/kg/dia, de

acordo com os níveis séricos de ferritina e do tratamento transfusional, podendo aumentar as doses em casos de insuficiência cardíaca. A infusão da desferroxamina é lenta, com duração de 8 a 12 horas, devendo ser realizada de 5 a 7 dias por semana. Além disso, os aparelhos de infusão não estão amplamente disponíveis. Estes fatores, juntamente com as reações no local da aplicação, contribuem para que os pacientes apresentem baixa aderência ao método. O retardo no crescimento e alterações auditivas e oculares são eventos adversos causados pelo fármaco e estão associados a altas doses e, além disso, os pacientes podem apresentar também reações cutâneas e aumento de infecções por *Yersinia enterocolitica* (KUSHNER; PORTER; OLIVIERI, 2001).

7.3.2 Deferiprona

A deferiprona é um quelante bivalente, sendo necessárias três moléculas de deferiprona para se ligarem a um átomo de ferro férrico. Diferentemente da desferroxamina, a deferiprona é um quelante oral, com rápida absorção intestinal e foi o primeiro quelante oral empregado no mercado. A ingestão concomitante do medicamento com alimentos não provoca alterações na dose de fármaco absorvida, somente causa uma absorção mais lenta. A dose de 75mg/kg/dia, dividida em três doses de 25mg/kg, é a dose recomendada, proporcionando uma quelação de ferro similar ao utilizar desferroxamina na dose de 40mg/kg/dia. A deferiprona parece ser mais efetiva na redução da sobrecarga cardíaca, em relação à desferroxamina, a qual se sugere ter maior ação no ferro hepático. A terapia concomitante entre desferroxamina e deferiprona tem-se mostrada eficiente, em especial, para a redução do ferro cardíaco, devido a um efeito sinérgico entre os agentes quelantes (PAULA; SAAD; COSTA, 2003; ANDERSON et al., 2002; LAL et al., 2013).

A deferiprona é metabolizada no fígado e grande quantidade do complexo fármaco/ferro é excretado pela urina, sendo uma porcentagem menor excretada pelas fezes. As reações adversas envolvem distúrbios gastrointestinais, artralgias, aumento de enzimas hepáticas, neutropenia e agranulocitose, sendo esta última a reação mais preocupante e fazendo-se necessária a realização de exames de

hemograma todas as semanas no primeiro ano de tratamento. Devido às reações adversas há uma limitação ao tratamento com deferiprona, sendo esta indicada para pacientes β talassêmicos que apresentem tolerância a desferroxamina e que não tenham histórico de neutropenia e agranulocitose (SOUTO, 2006; FABRON JR; TRICTA, 2003).

Devido a poucos estudos e por limitações dos estudos realizados sobre o uso de deferiprona em pacientes com anemia falciforme, os mesmos não fazem o uso deste fármaco, ficando limitados ao uso de desferroxamina e deferasirox (PORTER; GARBOWSKI, 2013).

7.3.3 Deferasirox

Este é o quelante mais recentemente empregado no mercado e, assim como o deferiprona, é um quelante oral, entretanto é trivalente. As doses variam entre 10mg/kg/dia e 40mg/kg/dia e devem ser administradas meia hora antes das refeições por meio da dissolução de tabletes em água. A dose diária recomendada é de 20mg/kg/dia, entretanto deve ser realizado um ajuste da dose de acordo com o regime transfusional do paciente e com a sobrecarga de ferro apresentada pelo paciente (BOLETIM BRASILEIRO DE AVALIAÇÃO DE TECNOLOGIAS EM SAÚDE, 2009).

Pacientes que recebem mais de quatro unidades de concentrado de hemácias por mês e que desejem reduzir a sobrecarga de ferro recomenda-se o uso de 30mg/kg/dia e, para pacientes que possuem regime transfusional menor que duas unidades de concentrado de hemácias e/ou que tenham o intuito de manter os níveis corporais de ferro, recomenda-se a dose de 10mg/kg/dia. O complexo deferasirox/ferro é excretado pelas fezes. O deferasirox age bem na redução da sobrecarga de ferro cardíaco e possui melhor eficácia na redução do ferro hepático e nos valores de ferritina sérica em comparação com a desferroxamina, tanto nos paciente com β talassemia quanto nos com anemia falciforme (CANÇADO, 2007).

As reações adversas envolvem leves distúrbios gastrointestinais, assim como na deferiprona, aumento nos valores de creatinina sérica e enzimas hepáticas, além de erupções cutâneas e as reações que ocorrem não são dose-dependentes. Devido a estas reações, os pacientes devem realizar exames periódicos para monitoramento do tratamento. Desta forma, são realizados análises de função hepática e hemograma mensalmente, e creatinina sérica antes do início do tratamento, semanalmente durante o primeiro mês de tratamento e então mantem-se exames mensais (ALGREN, 2015; GATTERMANN, 2009).

8 CONCLUSÃO

A terapia transfusional crônica em pacientes com Anemia falciforme e Talassemias pode causar sobrecarga de ferro, no entanto, é indispensável para a sobrevivência dos pacientes. Assim sendo, é de suma importância o conhecimento sobre o desenvolvimento da hemocromatose secundária que foi muito explorada nos últimos anos demonstrando que o modo como a sobrecarga de ferro se apresenta difere de acordo com a doença e com o protocolo transfusional adotado, permitindo novas formas de tratamento e a adoção de medidas profiláticas à hemocromatose secundária. Os métodos profiláticos para a sobrecarga de ferro devem ser uma combinação entre eritrocitaférese ou flebotomia com o uso de quelantes de ferro, e estes devem ser analisados cuidadosamente para cada paciente devendo se atentar principalmente as reações adversas.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, Paul C.; BARTON, James C. How I treat hemochromatosis. **Blood**, v. 116, p.317-325, jul. 2010.
- ALGREN, Adam. **Review of Oral Iron Chelators (Deferiprone and Deferasirox) for the Treatment of Iron Overload in Pediatric Patients**. Disponível em: <http://www.who.int/selection_medicines/committees/expert/18/applications/OrallronChelators.pdf?ua=1>. Acesso em: 10 abr. 2015.
- ANDERSON, Erik R. et al. Intestinal HIF2 α promotes tissue-iron accumulation in disorders of iron overload with anemia. **National Academy Of Sciences**, Washington, v. 110, n. 50, p. 4922-4930, nov. 2013.
- ANGULO, Ivan L. et al. Determination of iron-overload in thalassemia by hepatic MRI and ferritin. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**., São Paulo, v. 30, n. 6, p. 449-452, nov. 2008.
- ASSI, Tarek Bou; BAZ, Elizabeth. Current applications of therapeutic phlebotomy. **Blood Transfusion**., v. 12, n. 1, p. 75-83, jan. 2014. Suplemento.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE TALASSEMIA. **Tratamentos**. Disponível em: <<http://www.abrasta.org.br/>>. Acesso em: 19 fev. 2015.
- ATAGA, Kenneth I.; CAPPELLINI, Maria D.; RACHMILEWITZ, Eliezer A.. β -Thalassaemia and sickle cell anaemia as paradigms of hypercoagulability. **British Journal Of Haematology**, v. 139, n. 1, p. 3-13. set. 2007.
- AYMONE, Willian Cassuriaga et al. Hemocromatose hereditária. **JBM**, Pelotas, v. 101, n. 1, p. 27-33. dez. 2013.
- AZEVEDO, Maria Regina Andrade de. **Hematologia básica: fisiopatologia e estudo laboratorial**. 4. ed. São Paulo: Livraria Luana e Editora, 2008. 480 p.
- BARTON, James C.. Optimal management strategies for chronic iron overload. **Drugs**, New York, v. 67, n. 5, p.685-700, 2007.
- BIRGENS, Henrik; LJUNG, Rolf. The thalassaemia syndromes. **Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation**, London, v. 67, n. 1, p.11-25. 2007.

BOLETIM BRASILEIRO DE AVALIAÇÃO DE TECNOLOGIAS EM SAÚDE. Deferasirox para o tratamento da sobrecarga de ferro. **Rede Brasileira de Avaliação de Tecnologias em Saúde**, v. 7, n. 5, p.1-11, mar. 2009.

BORDIN, José Orlando; LANGHI JÚNIOR, Dante Mário; COVAS, Dimas Tadeu. **Hemoterapia**: fundamentos e prática. São Paulo: Atheneu, 2007. 632 p.

BOURBON FILHO, Lécio dos Anjos et al . Sobrecarga de ferro transfusional em portadores de anemia falciforme: comparação entre ressonância magnética e ferritina sérica. **Radiologia Brasileira**, São Paulo, v. 44, n. 3, jun. 2011.

BRUNETTA, Denise M. et al. Manejo das complicações agudas da doença falciforme. **Revista da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto**, Ribeirão Preto, v. 43, n. 3, p. 231-237, jul. 2010.

CABANTCHIK, Z. Ioav et al. LPI-labile plasma iron in iron overload. **Best Practice and Research Clinical Haematology**, London, v. 18, n. 2, p. 277-287, jun. 2005.

CANÇADO, Rodolfo D.. Sobrecarga e quelação de ferro na anemia falciforme. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São José do Rio Preto, v. 29, n. 3, set. 2007.

CANÇADO, Rodolfo Delfini; CHIATTONE, Carlos Sérgio. Visão atual da hemocromatose hereditária. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v. 32, n. 6, 2010.

CAO, Antonio; GALANELLO, Renzo. Beta-thalassemia. **Genetics in medicine: official journal of the American College of Medical Genetics**, New York, v. 12, n. 2, p. 61-76, fev. 2010.

CAZZOLA, Mario; PORTA , Matteo G. D.; MALCOVATI, Luca. Clinical relevance of anemia and transfusion iron overload in myelodysplastic syndromes. **American Society Of Hematology Education Program**, Washington, v. 2008, n. 1, p. 166-175, jan. 2008.

CHEN, Juxing; ENNS, Caroline A.. Hereditary Hemochromatosis and Transferrin Receptor 2. **Biochimica et Biophysica Acta.**, v. 1820, n. 3, p. 256-263, mar. 2012.

CHUNG, Joyong; WESSLING-RESNICK, Marianne. Molecular mechanisms and regulation of iron transport. **Critical reviews in clinical laboratory sciences.**, v. 40, n. 2, p. 151-182, abr. 2003.

COHEN, Alan R. et al. Thalassemia. **American Society Of Hematology Education Program**, Washington, v. 2004, n. 1, p. 14-34, jan. 2004.

CONTATTI MEDICAL. **COM.TEC**. Disponível em: <http://www.contattimedical.com.br/produtos/com-tec/>>. Acesso em: 03 maio 2015.

COOK, Lynda S.. Therapeutic phlebotomy: a review of diagnoses and treatment considerations. **Journal Of Infusion Nursing**, Hagerstown, v. 33, n. 2, p. 81-88, abr. 2010.

DE BUCK, Emmy et al. Is blood of uncomplicated hemochromatosis patients safe and effective for blood transfusion? A systematic review. **Journal Of Hepatology**, Mechelen, p. 1126-1134. nov. 2012.

DE DOMENICO, Ivana et al. Iron overload due to mutations in ferroportin. **Haematologica**, v. 91, n. 1, p. 92-95, jan. 2006.

DONOVAN, Adriana; ROY, Cindy N.; ANDREWS, Nancy C.. The ins and outs of iron homeostasis. **Physiology (bethesda)**, v. 21, n. 2, p.115-123, abr. 2006.

FABRON JR, Antonio; TRICTA, Fernando. Terapia quelante oral com deferiprona em pacientes com sobrecarga de ferro. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia.**, São José do Rio Preto, v. 25, n. 3, p. 177-188, 2003.

FRANCHINI, Massimo; APRILI, Giuseppe; FALEZZA, Gian Carlo. The efficacy of phlebotomy in a patient with prior pure red cell aplasia and iron overload secondary to transfusions. **Blood Transfusion.**, v. 5, n. 3, p. 175-177, jul. 2007.

FREITAS, S.H. et al. Aspectos morfológicos, morfométricos e ultraestruturais do baço de ratos após o clampeamento total do pedículo hepático. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.**, Belo Horizonte, v. 61, n. 6, dec. 2009.

GALIZA NETO, Gentil Claudino de; PITOMBEIRA, Maria da Silva. Aspectos moleculares da anemia falciforme. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial.**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 1, 2003.

GATTERMANN, Norbert. The Treatment of Secondary Hemochromatosis. **Deutsches Ärzteblatt international**, Cologne, v. 106, n. 30, p. 499-504, jul. 2009.

GREER, John P. et al. **Wintrobe's clinical hematology**. 12. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2009. 1272 p.

GROTTO, Helena Z. W.. Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v. 30, n. 5, p. 390-397, out. 2008.

GROTTO, Helena Z. W.. Diagnóstico laboratorial da deficiência de ferro. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v. 32, 2010.

HARMATZ, Paul et al. Severity of iron overload in patients with sickle cell disease receiving chronic red blood cell transfusion therapy. **Blood**, New York, v. 96, n. 1, p. 76-79. jul. 2000.

HENTZE, Matthias W. et al. Two to Tango: Regulation of Mammalian Iron Metabolism. **Cell**, Cambridge v. 142, n. 1, p.24-38, jul. 2010.

HIGGS, D. R.; WEATHERALL, D. J.. The alpha thalassaemias. **Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS**, Basel, v. 66, n. 7, p. 1154-1162, abr. 2009.

INSTITUTO ESTADUAL DE HEMATOLOGIA ARTHUR DE SIQUEIRA CAVALCANTI. **Protocolos de Tratamento: hematologia e hemoterapia**. 2. ed. Rio de Janeiro: HEMORIO, 2014. 273p. Disponível em: <<http://www.hemorio.rj.gov.br/>>. Acesso em: 20 fev. 2015.

KIERSZENBAUM, Abraham L.. **Histologia e biologia celular: uma introdução à patologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. 677 p.

KOHNE, Elisabeth. Hemoglobinopathies: Clinical Manifestations, Diagnosis, and Treatment. **Deutsches Ärzteblatt international**, Cologne, v. 108, n. 31-32, p. 532-540, ago. 2011.

KOREN, Ariel et al. Non-transferrin bound labile plasma iron and iron overload in Sickle Cell Disease: a comparative study between Sickle Cell Disease and b thalassemic patients. **European Journal Of Haematology**, Copenhagen, v. 84, n. 1, p. 72-78, jan. 2010.

KUMAR, Vinay; ABBAS, Abul K.; FAUSTO, Nelson. **Robbins e Cotran patologia**: bases patológicas das doenças. 7. ed. Rio de Janeiro: Saunders Elsevier, 2005. 1592 p.

KURTOGLU, Aysegul Ugur; KURTOGLU, Erdal; TEMIZKAN, A. Kamil. Effect of iron overload on endocrinopathies in patients with beta-thalassaemia major and intermedia. **Endokrynologia Polska**, Warszawa, v.63, n.4, p. 260-263. 2012.

KUSHNER, James P.; PORTER, John P.; OLIVIERI, Nancy F.. Secondary iron overload. **American Society Of Hematology**, Washington, v. 2001, n. 1, p. 47-61, jan. 2001.

KWIATKOWSKI, Janet L. et al. Chelation use and iron burden in North American and British thalassemia patients: a report from the Thalassemia Longitudinal Cohort. **Blood**, Washington Dc, v.119, n.12, p. 2746-2753. mar. 2012.

LAL, Ashutosh et al. Combined chelation therapy with deferasirox and deferoxamine in thalassemia. **Blood Cells, Molecules and Disease**, La Jolla, v. 50, n. 2, p. 99-104, fev. 2013.

LEAL, Francismar Prestes et al. Hemocromatose: uma atualização de conceitos. **Brazilian Journal Of Surgery And Clinical Research**, Maringá, v. 1, n. 1, p. 18-26, fev. 2013.

MADIGAN, Catherine; MALIK, Punam. Pathophysiology and therapy for haemoglobinopathies. Part I: sickle cell disease. **Expert Reviews in Molecular Medicine**, Cambridge, v. 8, n. 9, p. 1-23, abr. 2006.

MARTINELLI, A. L. C. . Hemocromatose hereditária: muito além do HFE. **Sociedade Brasileira de Hepatologia**, São Paulo, p. 3-6, 2011.

MASTROGIANNAKI, Maria et al. HIF-2alpha, but not HIF-1alpha, promotes iron absorption in mice. **Central Society For Clinical Research**, New Haven, v. 119, n. 5, p. 1159-1166, maio 2009.

MAZZOLA, Alessandro A.. **Artefatos em RM**. Disponível em: <http://rle.dainf.ct.utfpr.edu.br/hipermidia/images/documentos/Artefatos_em_rm.pdf>. Acesso em: 24 jan. 2015.

MICHEL, Richard N. et al. **Robbins e Cotran: fundamentos de patologia.** Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

MUNCIE JUNIOR, Herbert L.; CAMPBELL, James S.. Alpha and beta thalassemia. **American Family Physician**, Kansas, v. 80, n. 4, p. 399-344, ago. 2009.

MURRAY, Robert K. et al. **Haper: bioquímica ilustrada.** 29. ed. Mcgraw-hill, 2013. 826 p.

MUSALLAM, Khaled M. et al. Non-Transfusion-Dependent Thalassemias. **Haematologica**, v. 98, n. 6, p. 833-844, jun. 2013.

NICOLL, Diane et al. **Manual de exames diagnósticos.** 6. ed. Porto Alegre: Amgh Editora, 2014. 679 p. Disponível em: <<https://books.google.com.br/>>. Acesso em: 25 jan. 2015.

NOVARTIS AG (Org.). **Medição da concentração de ferro no fígado: SQUID.** Disponível em: <<http://www.ironhealthalliance.com/pt/diagnostics/lic-measurement/squid.jsp>>. Acesso em: 24 jan. 2015.

NOVARTIS AG (Org.). **Medição da saturação da transferrina.** Disponível em: <<http://www.ironhealthalliance.com/pt/diagnostics/transferrin-saturation-measurement.jsp>>. Acesso em: 23 jan. 2015.

NOVARTIS AG (Org.). **Medição do ferro cardíaco: RM cardíaca .** Disponível em: <<http://www.ironhealthalliance.com/pt/diagnostics/cardiac-iron-measurement/mri/cardiac-mri.jsp>> Acesso em: 01 maio. 2015.

NOVARTIS AG (Org.). **Talassemia: diretrizes de quelação.** Disponível em: <<http://www.ironhealthalliance.com/pt/disease-states/thalassemia/iron-chelation-therapy/international-guidelines.jsp>>. Acesso em: 21 mar. 2015.

OATES, P.S.. The role of hepcidin and ferroportin in iron absorption. **Histology and Histopathology**, Murcia, v. 22, n. 7, p. 791-804, jul. 2007.

OLIVEIRA, Raimundo Antônio Gomes; POLI NETO, Adelino. **Anemias e Leucemias: Conceitos Básicos e Diagnóstico por Técnicas Laboratoriais.** São Paulo: Roca, 2004. 421 p.

PAULA, Erich V. de; SAAD, Sara T. O.; COSTA, Fernando F.. Quelação oral de ferro na beta-talassemia. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São José do Rio Preto, v. 25, n. 1, p. 59-63, mar. 2003.

PORTER, John B.. Pathophysiology of transfusional iron overload: contrasting patterns in thalassemia major and sickle cell disease. **Hemoglobin**, London, v. 33, n. 1, p.37-45, maio 2009.

PORTER, John; GARBOWSKI, Maciej. Consequences and management of iron overload in sickle cell disease. **American Society Of Hematology Education Program**, Washington, v. 2013, n. 1, p. 447-456, dez. 2013.

RANG, Humphrey P. et al. **Rang & Dale - Farmacologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. 829 p.

ROMBOUT-SESTRIENKOVA, Eva et al. Erythrocytapheresis versus phlebotomy in the initial treatment of HFE hemochromatosis patients: results from a randomized trial. **Transfusion**, Arlington, v. 52, n. 3, p. 470-477, mar. 2012.

RUND, Deborah; RACHMILEWITZ, Eliezer. Beta-thalassemia. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 353, n. 11, p. 1135-1146, set. 2005.

SANTOS, Paulo C. J. L. et al . Alterações moleculares associadas à hemocromatose hereditária. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v. 31, n. 3, 2009.

SIDDIQUE, A.; KOWDLEY, K. V.. Review article: the iron overload syndromes. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, Oxford, v. 35, n. 8, p. 876-893, abr. 2012.

SONATI, Maria de Fátima; COSTA, Fernando Ferreira. Genética das doenças hematológicas: as hemoglobinopatias hereditárias. **Jornal de Pediatria. (Rio J.)**, Porto Alegre, v. 84, n. 4, supl. ago. 2008.

SOUTO, Elizabeth X.. Tratamento de suporte e quelação de ferro em pacientes com síndromes mielodisplásicas. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São José do Rio Preto, v. 28, n. 3, set. 2006.

SOUZA, Aécio Flávio Meirelles de; CARVALHO-FILHO, Roberto J.; CHEBLI, Júlio Fonseca. Hemocromatose hereditária: Relato de caso e revisão da literatura. **Arquivos de Gastroenterologia**. Juiz de Fora, p. 194-202. set. 2001.

STEINBERG, Martin H.. Sick cell anemia, the first molecular disease: overview of molecular etiology, pathophysiology, and therapeutic approaches. **Scientific World Journal**. New York, p. 1295-1324. dez. 2008.

TAHER, Ali T.; MUSALLAM, Khaled M.; INATI, Adlette. The Hypercoagulable State in Thalassemia Intermedia. **Hemoglobin**, London, v. 33, n. 1, p. 160-169, maio 2009.

TANNO, Toshihiko et al. High levels of GDF15 in thalassemia suppress expression of the iron regulatory protein hepcidin. **Nature Medicine**, New York, v. 13, n. 9, p. 1096-1101, set. 2007.

TANNO, Toshihiko et al. Identification of TWSG1 as a second novel erythroid regulator of hepcidin expression in murine and human cells. **Blood**, New York, v. 114, n. 1, p. 181-186, jul. 2009.

THALASSAEMIA INTERNATIONAL FEDERATION. **Epidemiology**. 2014. Disponível em: <<http://www.thalassaemia.org.cy/about-haemoglobin-disorders/beta-thalassaemia/epidemiology.shtml>>. Acesso em: 27 abr. 2015.

URBINATI, Fabrizia; MADIGAN, Catherine; MALIK, Punam. Pathophysiology and therapy for haemoglobinopathies. Part II: thalassaemias. **Expert Reviews in Molecular Medicine**, England, v. 8, n. 10, p. 1-26, maio 2006.

VASCONCELOS, Sandra Mary Lima et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, out. 2007.

WENNING, Márcia Regina de Souza Cossa; SONATI, Maria de Fátima (Ed.). Hemoglobinopatias hereditárias. In: LOPES, Antonio Carlos. **Diagnóstico e Tratamento**. Barueri: Manole, 2007. p. 310-318. Disponível em: <<http://books.google.com.br/>>. Acesso em: 02 nov. 2014.

WIJAYANTI, Nastiti; KATZ, Norbert; IMMENSCHUH, Stephan. Biology of Heme in Health and Disease. **Current Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 8, p. 981-986, abr. 2004.

ZAGO, Marco Antonio; FALCÃO, Roberto Passetto; PASQUINI, Ricardo. **Hematologia: Fundamentos e Prática**. São Paulo: Atheneu, 2004. 1081 p.

ZAGO, Marco Antonio; PINTO, Ana Cristina Silva. Fisiopatologia das doenças falciformes: da mutação genética à insuficiência de múltiplos órgãos. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São José do Rio Preto, v. 29, n. 3, set. 2007.

ZAMARO, Paula Juliana Antoniazzi; BONINI-DOMINGOS, Claudia Regina. Abnormal hemoglobin phenotypes in carriers of mild anemia in Latin America. **Genetics and molecular research: GMR**, Ribeirão Preto, v. 9, n. 1, p. 425-428, mar. 2010.