

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**ANEMIA DA DOENÇA CRÔNICA**

**MARINA DE ROSSI TOSO**

**PORTO ALEGRE**

**2014/2**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**ANEMIA DA DOENÇA CRÔNICA**

**MARINA DE ROSSI TOSO**

**Trabalho de conclusão de  
curso apresentado à  
Faculdade de Veterinária  
como requisito parcial para  
obtenção da Graduação em  
Medicina Veterinária**

**ORIENTADOR: STELLA DE FARIA VALLE**

**CO-ORIENTADOR: JULIANA PEREIRA MATHEUS**

**PORTO ALEGRE**

**2014/2**

## **AGRADECIMENTOS**

Principalmente à Juliana Matheus e Stella de Faria Valle, por toda ajuda não só na realização deste trabalho, mas também no aprendizado diário no laboratório.

Ao meu namorado Alisson, sempre me acompanhando.

À familiares e amigos que foram fundamentais nessa jornada.

## RESUMO

A hemoglobina contida nos eritrócitos é responsável pelo suprimento de oxigênio dos tecidos, que é afetado nos quadros de anemia. Esse distúrbio pode ocorrer em função de diversas etiologias e, nos animais, é freqüentemente associado à inflamação, infecção ou neoplasia maligna, chamado então de anemia da doença crônica. Nesse caso, citocinas inflamatórias são responsáveis por alterações metabólicas que cursam com mudanças na homeostase de ferro, eritropoiese e eritrofagocitose. O ferro é seqüestrado e retido por células do sistema reticuloendotelial, como os macrófagos, o que é fortemente influenciado pela ação da proteína hepcidina. Além disso, a fagocitose de eritrócitos é estimulada, diminuindo a sobrevivência das hemácias, e a resposta medular é inadequada à anemia, resultando em eritropoiese insuficiente para regenerar o quadro. Deve-se considerar os achados clínicos e testes laboratoriais, como hemograma, contagem de reticulócitos, concentração de ferro sérico e medular e dosagem de transportadores de ferro; sendo a patologia clínica uma grande ferramenta de auxílio para o clínico veterinário concluir o diagnóstico. O tratamento da doença de base corrige os mecanismos envolvidos e, conseqüentemente, soluciona a anemia. Esse trabalho objetiva reunir informações atualizadas sobre a fisiopatologia da anemia da doença crônica, possibilitando melhor compreensão das alterações que acometem esses pacientes; assim, o patologista e o clínico podem atuar juntos para facilitar o diagnóstico e instituir o melhor tratamento.

Palavras-chave: inflamação, ferro, hemograma, patologia clínica

## **ABSTRACT**

*The hemoglobin contained in erythrocytes is responsible for the oxygen supply of tissues, that is affected in cases of anemia. This disorder can be due to many causes, and, in animals, is often associated with inflammation, infection or malignancy, then called anemia of chronic disease. In this case, inflammatory cytokines are responsible for metabolic changes that occur with changes in iron homeostasis, erythropoiesis and erytrophagocytosis. Iron is sequestered and retained by cells of the reticuloendothelial system, such as macrophages, which are strongly influenced by the action of hepcidin protein. In addition, phagocytosis of erythrocytes is stimulated, decreasing the survival of erythrocytes, and bone marrow response to anemia is inadequate, resulting in insufficient erythropoiesis to regenerate the frame. It should be considered the clinical finds and laboratory tests, such as complete blood cell count, reticulocyte count, concentration of serum and bone marrow iron and dosage of iron trasportadores; determining the clinical pathology as a great support tool for veterinary clinician complete the diagnosis. Treatment of the primary disease correct the mechanisms involved and consequently solves anemia. This study aims to gather updated information on the pathophysiology of anemia of chronic disease, enabling a better understanding of the alteration that affect these patients; thus , the pathologist and the clinician can work together to facilitate the diagnosis and establish the best treatment.*

*Keywords : inflammation, iron , blood cell count, clinical pathology*

## LISTA DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| FIGURA 1: Mecanismos fisiopatológicos da ADC .....                                   | 15 |
| FIGURA 2: Esfregaço sangüíneo de um cão com anemia normocítica e normocrômica ..     | 20 |
| FIGURA 3: Esfregaço sangüíneo de um cão com hipocromasia .....                       | 21 |
| FIGURA 4: Esfregaço sangüíneo de um cão que apresenta anisocitose e trombocitose ... | 22 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADC – Anemia da doença crônica

CHCM – Concentração de hemoglobina corpuscular média

CO<sub>2</sub> – Dióxido de carbono

DMT1 – Proteína transportadora de metal bivalente 1

Fe<sup>2+</sup> - Ferro ferroso

IL- 1 – Interleucina-1

IL-6 – Interleucina-6

IL-10 – Interleucina-10

IN-  $\gamma$  – Interferon-  $\gamma$

IN-  $\alpha$  – Interferon-  $\alpha$

IN-  $\beta$  – Interferon-  $\beta$

LPS – Lipopolissacarídeos

O<sub>2</sub> – Oxigênio

RNA – Ácido ribonucléico

TNF- $\gamma$  – Fator de necrose tumoral  $\gamma$

VCM – Volume corpuscular médio

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| <b>1. INTRODUÇÃO</b> .....   | 9  |
| <b>2. DESENVOLVIMENTO</b> .....  | 10 |
| 2.1 Anemia .....   | 10 |
| 2.2 Definição e Terminologia .....                                       | 11 |
| 2.3 Etiologia .....  | 12 |
| 2.4 Sinais Clínicos .....  | 12 |
| <b>3. FISIOPATOLOGIA</b> .....   | 13 |
| 3.1 Metabolismo e Transportadores de Ferro e sua Relação com a ADC ..... | 13 |
| 3.2 Eritropoiese .....   | 16 |
| 3.3 Eritrofagocitose .....   | 16 |
| 3.4 Síndrome Paraneoplásica .....  | 17 |
| <b>4. DIAGNÓSTICO</b> .....  | 19 |
| 4.1 Alterações Laboratoriais .....                                       | 19 |
| 4.1.1 Eritrograma .....  | 19 |
| 4.1.2 Contagem de Reticulócitos .....                                    | 22 |
| 4.1.3 Eritropoietina .....   | 23 |
| 4.1.4 Leucograma .....   | 24 |
| 4.1.5 Contagem de Plaquetas .....  | 24 |
| 4.1.6 Concentração de Ferro Sérico .....                                 | 25 |
| 4.1.7 Capacidade Total de Ligação .....                                  | 25 |
| 4.1.8 Ferritina .....  | 25 |
| 4.1.9 Mielograma e Concentração de Ferro Medular.....                    | 25 |
| 4.1.10 Outras Alterações Bioquímicas .....                               | 26 |
| 4.2 Diagnóstico Diferencial .....  | 26 |
| <b>5. TRATAMENTO</b> .....   | 28 |
| <b>6. CONCLUSÃO</b> .....  | 30 |
| <b>7. REFERÊNCIAS</b> .....  | 31 |



## 1. INTRODUÇÃO

A anemia em geral é a diminuição da contagem de eritrócitos, hematócrito ou concentração de hemoglobina, interferindo na disponibilidade de ferro, mineral essencial ao transporte de oxigênio. Este distúrbio compromete a oxigenação tecidual e está associado, geralmente, a doenças crônicas, como inflamação, infecção ou neoplasia maligna. Quanto à frequência clínica, é a forma mais comum de anemia arregerativa em cães e gatos.

Nessas condições, a anemia da doença crônica (ADC) é mediada por citocinas inflamatórias e células do sistema reticuloendotelial, que induzem mudanças na homeostase do ferro, eritropoiese e eritrofagocitose. Dessa forma, alterações no metabolismo do ferro (principalmente o seqüestro e retenção deste pelos macrófagos), diminuição da sobrevivência das hemácias e resposta medular inadequada são os mecanismos principais envolvidos.

Para investigar a causa primária da anemia é importante associar os achados clínicos aos testes sanguíneos. Considerando que alterações hematológicas podem ser o primeiro sinal de doença sistêmica, o médico veterinário deve investigar a patogênese da anemia para poder prescrever o tratamento correto e evitar reincidência. As alterações laboratoriais são uma grande ferramenta para auxiliar na clínica veterinária; no caso de ADC, eritrograma e leucograma se tornam fundamentais para completo entendimento do caso. Assim, pode ser instituída a terapia adequada e posterior melhora na qualidade de vida dos pacientes. Nesse contexto, esta revisão bibliográfica objetiva abordar os principais aspectos diagnósticos envolvidos na ADC e sua importância na clínica veterinária.

## **2. DESENVOLVIMENTO**

### **2.1 Anemia**

Anemia é caracterizada pela diminuição da massa de eritrócitos, ou seja, contagem de eritrócitos, hematócrito ou concentração de hemoglobina abaixo dos valores de referência para a espécie (COUTO, 2010).

A principal função do eritrócito é transportar oxigênio dos pulmões para outros órgãos através ligação com a hemoglobina; além disso, estão envolvidos no transporte de outros gases participantes da respiração celular, como dióxido de carbono e óxido nítrico (KOURY, 2014). O componente mais importante dos eritrócitos é a hemoglobina, que contém ferro na sua estrutura e, assim, tem a capacidade de se ligar ao oxigênio e levá-lo aos tecidos (WITMER, 2013). Seu nível no sangue pode ser considerado o melhor fator para determinar o suprimento de oxigênio aos tecidos, enquanto que o melhor determinante para os valores de hemoglobina é o número de eritrócitos na circulação (KOURY, 2014).

Na anemia, a perda ou destruição dos eritrócitos excede a taxa de produção (MILLS, 2012). No estado normal, sem anemia, a medula óssea é capaz de repor na circulação o mesmo número de eritrócitos senescentes que são retirados diariamente (KOURY, 2014).

É importante ressaltar que a anemia não é um diagnóstico primário e pode ser classificada conforme a resposta medular (regenerativa ou arregenerativa), morfologia (tamanho e concentração de hemoglobina dos eritrócitos) ou mecanismos fisiopatológicos (múltiplos processos, como perda de sangue, hemólise e eritropoiese diminuída). Quando a anemia se desenvolve em função de outras doenças, inclusive inflamação, infecção ou células malignas, é chamada de anemia da doença crônica (ADC), e freqüentemente não é regenerativa, normocítica, normocrômica e causada por diversos fatores (COUTO, 2010; FRY, 2010; WEISS, 2005; STOCKHAM & SCOTT, 2011).

Achados clínicos são associados aos resultados dos testes hematológicos e do esfregaço sanguíneo para auxiliar o diagnóstico. O objetivo do médico veterinário é determinar a patogênese da anemia, para então instituir a terapia mais adequada e medidas preventivas para evitar reincidência (MILLS, 2012).

### **2.2 Definição e Terminologia**

A denominação “anemia da doença crônica” foi proposta pela primeira vez por Cartwright, em 1966. Outras nomenclaturas já foram utilizadas, como: anemia ferropênica com

siderose reticuloendotelial, anemia por defeito de reutilização do ferro, anemia hipoferrêmica valiosa e anemia da inflamação. Entretanto, hoje em dia o termo ADC é mais utilizado (CANÇADO, 2002).

A ADC é imunodirigida; citocinas e células do sistema reticuloendotelial induzem alterações na homeostase do ferro, eritropoiese, produção de eritropoietina e tempo de vida dos eritrócitos (WEISS, 2005). O mecanismo mais importante envolvido na ADC é o seqüestro de ferro pelas células do sistema reticuloendotelial, como os macrófagos, e é influenciado por uma proteína recentemente pesquisada: a hepcidina. A correlação entre inflamação crônica, anemia e ferro já é estudada há mais de 50 anos, mas apenas na última década a hepcidina foi reconhecida como peça-chave na regulação do metabolismo do ferro na ADC (POGGIALI, 2014). Pode-se considerar que a ADC é resultado de uma adaptação imunológica para limitar o acesso dos microorganismos ao ferro (FRY, 2010).

Quanto à frequência clínica, a ADC é a forma mais comum de anemia arregerativa em cães e gatos (COUTO, 2010). Em humanos, é a segunda causa mais comum de anemia, atrás apenas da anemia por deficiência de ferro, sendo comum em pacientes hospitalizados (WANER, 2012; GANZ, 2014) e a incidência e prevalência aumentam com a idade do paciente (POGGIALI, 2014).

A apresentação laboratorial pode ser simplificada pelas seguintes características: anemia leve à moderada, normocítica e normocrômica; ocorrência em virtude de inflamação, infecção ou neoplasia maligna; baixa concentração de ferro sérico e armazenamento de ferro nos depósitos sistêmicos (GANZ, 2014). Indivíduos afetados tem hipoferrêmia e aumento no armazenamento de ferro no sistema mononuclear fagocitário, o que é consistente com deficiência funcional de ferro (FRY, 2010).

### **2.3 Etiologia**

A ADC é multifatorial, mas a etiologia é baseada em três mecanismos principais: distúrbio do metabolismo do ferro, diminuição da sobrevivência das hemácias e resposta medular inadequada. Através da estimulação do sistema imunológico celular, com a ativação de macrófagos e secreção de citocinas, inicia-se um complexo de respostas metabólicas e alterações que caracterizam a ADC, estando os monócitos e macrófagos envolvidos no mecanismo central de patogênese (CANÇADO, 2002).

## 2.4 Sinais Clínicos

É importante ressaltar que ADC, assim como qualquer outro tipo de anemia, não é uma doença, mas sim um sinal clínico; usualmente não progride e normaliza-se com o tratamento da origem do distúrbio. Por ser uma anemia leve à moderada, não tem grande relevância clínica, sendo que os sinais costumam estar relacionados à doença de base e não à anemia propriamente dita. Existe uma correlação positiva entre a intensidade da doença e o grau de anemia, ou seja, quanto maior a intensidade dos sinais no paciente, maior o grau de anemia (CANÇADO, 2002; CARVALHO, 2006).

Anemia compromete o transporte de oxigênio até os tecidos e os sinais clínicos dependem da severidade e do tempo de desenvolvimento da anemia. Muitos pacientes podem ser assintomáticos ou ter sinais clínicos inespecíficos, como fadiga. Caninos e felinos costumam apresentar palidez de mucosas, intolerância ao exercício e diminuição da atividade em geral. Se a anemia for severa, o paciente pode ter taquicardia e até sinais de uma falência cardíaca em potencial (COUTO, 2010; WITMER, 2013).

### 3. FISIOPATOLOGIA

#### 3.1 Metabolismo e transportadores de Ferro e sua relação com ADC

O ferro é essencial na maioria dos processos fisiológicos, desempenhando função central no metabolismo energético celular (CANÇADO, 2002). O componente chave dos eritrócitos é a hemoglobina, responsável principalmente pelo transporte de oxigênio até os tecidos. A hemoglobina é subdividida em quatro unidades, cada uma contendo um grupo heme com um átomo de ferro ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ) central que permite a ligação a outros elementos, como oxigênio ( $\text{O}_2$ ) e dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) (WITMER, 2013).

O ferro é absorvido no duodeno na forma de  $\text{Fe}^{2+}$  através da proteína transportadora de metal bivalente 1 (DMT1) (NAIGAWALLA, 2012). A absorção duodenal pode ser inibida pela hepcidina, uma proteína de fase aguda sintetizada no fígado, em resposta ao aumento na concentração sérica ou hepática de ferro e nos casos de inflamação (através das citocinas interleucina-6 e lipopolissacarídeos), considerada um dos mecanismos-chave da ADC.

Essa proteína age na absorção duodenal de ferro, na reciclagem de eritrócitos velhos e, principalmente, no armazenamento em macrófagos e hepatócitos. O alvo molecular da hepcidina é a ferroportina, um transportador de ferro para a circulação. Quando acontece a ligação entre esses dois componentes, a ferroportina fica internalizada na célula e é degradada pelos lisossomos. Dessa forma, a diminuição de ferroportina nas membranas celulares causa redução proporcional no transporte de ferro para o plasma, pois o mesmo fica retido nos hepatócitos e macrófagos (WEISS, 2005; GANZ, 2014). Na ADC, todas as anormalidades observadas no metabolismo do ferro podem ser explicadas pelo efeito da expressão aumentada de hepcidina. Além disso, estudos *in vitro* relacionam a hepcidina como um possível inibidor da eritropoiese, embora esses mecanismos ainda não estejam muito bem definidos (POGGIALI, 2014).

Em camundongos, inflamação com deficiência de hepcidina não leva à hipoferremia e, por outro lado, na presença de hepcidina, a hipoferremia se dá em poucas horas, sugerindo que essa proteína esteja envolvida no mecanismo central da ADC. (WEISS, 2005). O aumento na concentração de hepcidina inibe a absorção duodenal de ferro e impede o efluxo do mesmo nos macrófagos (POGGIALI, 2014).

A passagem de ferro dos enterócitos para a circulação é feita através da proteína transmembrana, chamada ferroportina, responsável pela passagem do ferro absorvido no duodeno para a circulação sanguínea e também pela saída de ferro dos macrófagos (WEISS,

2005). Já o transporte pela circulação para uso em órgãos-alvo ou para armazenamento é feito pela transferrina, presente no plasma (NAIGAMWALLA, 2012).

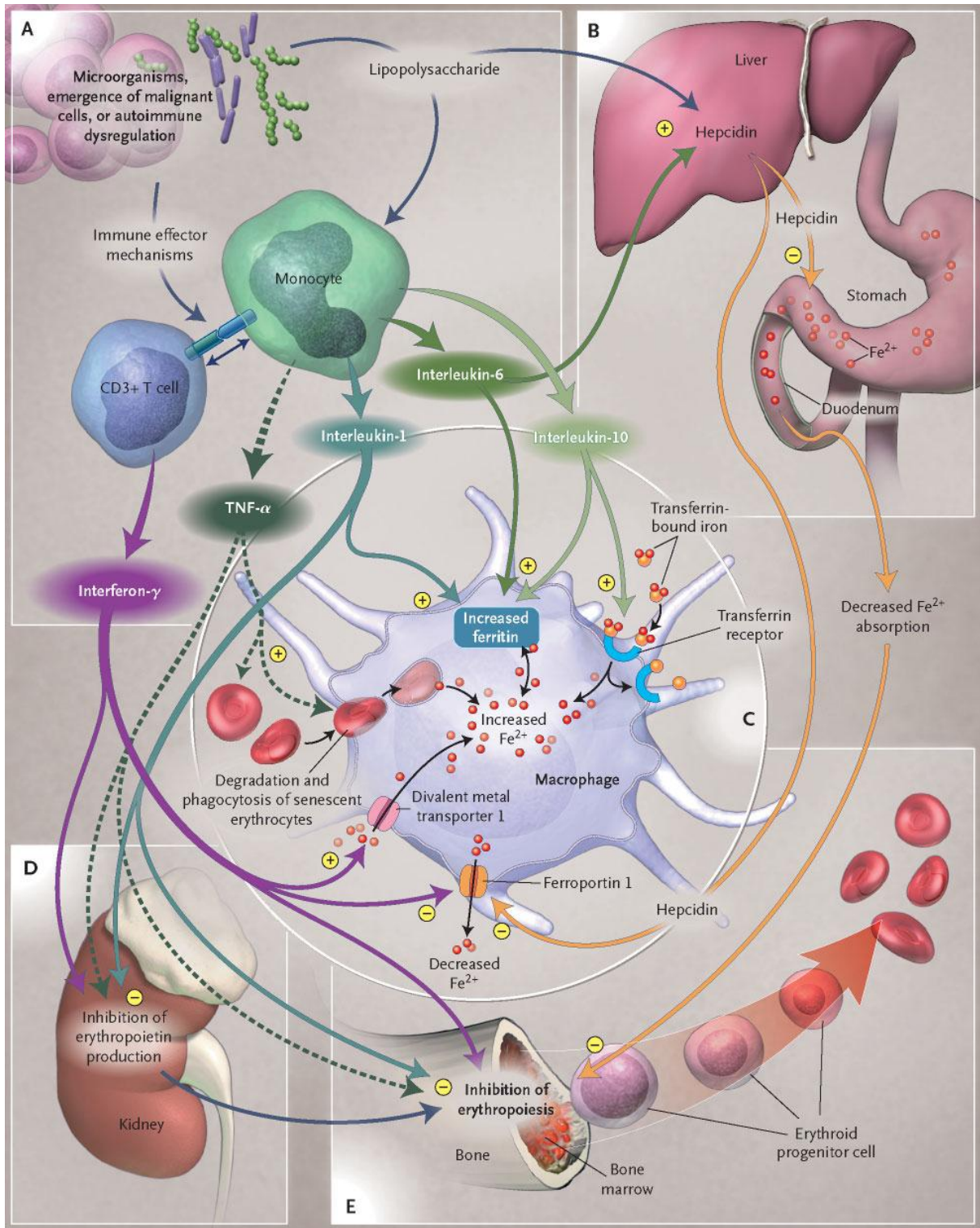
A ferritina também é uma proteína de transporte do ferro, encontrada em todas as células dos tecidos dos mamíferos, abundantemente no fígado, baço e medula óssea. É uma proteína associada ao seqüestro e retenção de ferro pelos macrófagos e hepatócitos, ou seja, é representativa do ferro armazenado (WEISS, 2005; NAIGAWALLA, 2012; CHIKAZAWA, 2013).

Além disso, a aquisição de ferro pelos macrófagos é feita também através da fagocitose de eritrócitos velhos (senescência) e do transporte do  $Fe^{2+}$  para o interior da célula através da proteína DMT1. A maior parte do ferro funcional do organismo está na hemoglobina dos eritrócitos e a parte não-funcional está armazenada através da ferritina e hemossiderina no fígado, em células do sistema reticuloendotelial e no baço. Quando necessário, o ferro armazenado retorna ao plasma e posteriormente à medula óssea para a formação de novas hemácias (WEISS, 2005; CANÇADO, 2002; NAIGAMWALLA, 2012).

Neste contexto, a ADC é caracterizada por distúrbios no metabolismo do ferro, principalmente pelo seqüestro e retenção do mineral pelas células do sistema reticuloendotelial. Assim, acontece um desvio de ferro da circulação para os locais de armazenamento e uma menor quantidade desse elemento fica disponível para a eritropoiese (WEISS, 2005).

Existem diversos fatores que alteram a homeostase do ferro no caso de doença crônica. Basicamente, todos os mecanismos levam à hipoferremia e disponibilidade limitada para a eritropoiese. Inicialmente, a presença de microorganismos, células malignas ou doenças autoimunes levam à ativação de linfócitos T e monócitos, que, por sua vez, irão produzir citocinas como interferon- $\gamma$  (IN- $\gamma$ ), fator de necrose tumoral- $\gamma$  (TNF- $\gamma$ ), interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6) e interleucina-10 (IL-10). IL-6 e lipolissacarídeos (LPS) que estimulam a expressão hepática da hepcidina, inibindo a absorção duodenal de ferro. IN- $\gamma$  e LPS aumentam a expressão da proteína transportadora de  $Fe^{2+}$  transmembrana, chamada DMT1, o que estimula o seqüestro de ferro pelos macrófagos; e diminuem a expressão de ferroportina 1, inibindo a saída do elemento dos macrófagos (que também sofre influência da hepcidina). TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 e IL-10 induzem a expressão de ferritina, que estimula o armazenamento e retenção de ferro nos macrófagos (Figura 1) (WEISS, 2005). Além disso, TNF- $\gamma$  induz fagocitose e degradação de eritrócitos velhos pelos macrófagos, com reaproveitamento de ferro.

Figura 1: Mecanismos fisiopatológicos da ADC



Fonte: Weiss, 2005.

### **3.2 Eritropoiese**

No paciente com ADC, a resposta da medula óssea à anemia é inadequada. As causas são a secreção de eritropoietina inapropriadamente baixa, diminuição da resposta da medula óssea ao hormônio e diminuição da eritropoiese pela restrição de ferro (CANÇADO, 2002). A eritropoiese é regulada primeiramente pela eritropoietina, que tem uma resposta insuficiente na maioria dos casos de doença crônica (WEISS, 2005).

A síntese de eritropoietina tem correlação positiva com a intensidade da anemia em indivíduos com função renal normal. Contudo, nos casos de ADC este aumento não acontece na mesma proporção: é um aumento pequeno. Essa redução na resposta medular torna a produção da eritropoietina insuficiente para corrigir a anemia (CANÇADO, 2002).

A falha da eritropoiese se deve ao efeito inibitório de fatores como  $IN-\alpha$ ,  $IN-\beta$  e  $IN-\gamma$ ,  $TNF-\alpha$  e  $IL-1$ . O  $IN-\gamma$  é o mais potente inibidor, refletido pela correlação inversa com concentração de hemoglobina e contagem de reticulócitos. Além disso, juntamente com a  $TNF-\alpha$ , inibem a produção de eritropoietina nos rins.  $TNF-\alpha$ ,  $IN-\gamma$  e  $IL-1$  inibem diretamente a multiplicação e diferenciação das células eritroides imaturas (Figura 1). Isso acontece, pelo menos em parte, devido à formação de radicais livres que afetam a afinidade de ligação entre a eritropoietina e fatores de transcrição, danificando a produção eritrocitária (WEISS, 2005). A ação inibitória das citocinas supera a ação estimuladora da eritropoietina, o que diminui a resposta da medula óssea e eritropoiese (CANÇADO, 2002).

A resposta à eritropoietina parece ser inversamente proporcional à severidade da doença crônica e à quantidade de citocinas circulante. Ou seja, a responsividade à eritropoietina é muito reduzida pelos efeitos inibitórios das citocinas. Também, a disponibilidade limitada de ferro e a diminuição da atividade biológica da eritropoietina levam à inibição da eritropoiese e ao desenvolvimento da anemia (WEISS, 2005).

### **3.3 Eritrofagocitose**

Durante infecções experimentais, a capacidade fagocitária do sistema mononuclear é elevada e, em casos de inflamação, o aumento na eritrofagocitose leva à diminuição na meia-vida dos eritrócitos. A causa da destruição acelerada de eritrócitos na doença crônica não está completamente esclarecida e estudos questionam a hipótese de que apenas a ativação dos macrófagos é responsável por esse processo (WEISS, 1988; WEISS, 2005).



Alternativamente, o reconhecimento pelos macrófagos parece requerer mudanças específicas na membrana dos eritrócitos. Até então, apenas a ligação de imunoglobulinas à membrana dos eritrócitos é claramente associada ao aumento na eritrofagocitose. Com doença inflamatória, há um aumento nas imunoglobulinas ligadas à superfície da membrana celular e dessa maneira, imunoglobulinas ligadas a eritrócitos senescentes são o maior determinante de destruição celular e esse processo é acelerado pela inflamação (WEISS, 1988).

O processo inflamatório, infeccioso ou neoplásico desencadeia um estado hiperreativo do sistema mononuclear fagocitário que resulta em remoção precoce dos eritrócitos da circulação e, portanto diminui sua sobrevivência (CANÇADO, 2002). Isso pode ser explicado pelo fato de neutrófilos ativados produzirem radicais livres e proteases, sendo que essa última é responsável por clivar proteínas de membrana do eritrócito, resultando na exposição de antígenos relacionados à sua senescência. Já os radicais livres induzem a desnaturação da hemoglobina e também degradação de proteínas de membrana, colaborando com a destruição eritrocitária (WEISS, 1988). Assim, a diminuição do tempo de vida dos eritrócitos está relacionada com aumento na eritrofagocitose e danos antecipados mediados por citocinas e radicais livres (WEISS, 2005).

Por fim, outros fatores podem levar à condição de hiper-hemólise, como: febre (que causa danos à membrana celular), liberação de toxinas bacterianas e de hemolisinas por algumas neoplasias (CANÇADO, 2002).

### **3.4 Síndrome Paraneoplásica**

São diversas alterações clínicas que ocorrem em sítios distantes dos tumores primários e metástases, pois são causadas por hormônios, citocinas ou peptídeos transportados pela circulação. Anemia é uma das alterações mais comuns tanto em animais como em humanos e, frequentemente, é um dos primeiros sinais de malignidade; ou seja, anemia pode ser um fator de risco para pior prognóstico em casos de neoplasia (WANER, 2012; BERGMAN, 2013). No paciente oncológico, a anemia pode ter diversas causas, como: doença crônica, perda de sangue, hemólise imunomediada ou angiopática. A ADC é extremamente comum em pacientes com tumores disseminados ou metastáticos. Em humanos, anemia também pode ser induzida por quimioterápicos; entretanto, isso raramente é relatado em animais (BERGMAN, 2013).

Além disso, diversas neoplasias costumam cursar com aumento no número de neutrófilos circulantes, ou leucocitose neutrofílica. O mecanismo exato não está completamente elucidado; contudo, está relacionado à produção de fatores estimulantes do crescimento de granulócitos (BERGMAN, 2013).

## **4. DIAGNÓSTICO**

O padrão ouro para diagnóstico da ADC em humanos é a presença de anemia associada à hipoferremia ou baixa saturação de transferrina, apesar da presença de ferro corado pelo azul da Prússia nos macrófagos da medula óssea (GANZ, 2014). O diagnóstico definitivo pode ser dificultado pela coexistência de perda de sangue ou efeito de medicamentos (WEISS, 2005).

Além das informações clínicas, os exames laboratoriais são importantes ferramentas para a determinação da ADC. Para avaliação, devem ser considerados hemograma, morfologia eritrocitária, contagem de reticulócitos, ferro sérico, índice de saturação da transferrina, ferritina sérica, receptor da transferrina e análise do ferro medular (CANÇADO, 2002).

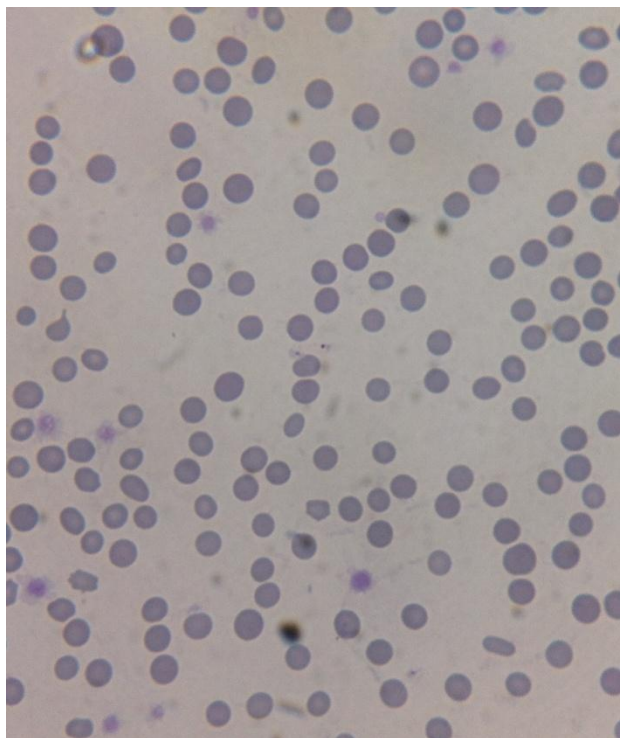
### **4.1 Alterações Laboratoriais**

#### **4.1.1 Eritrograma**

Os índices calculados do hemograma são utilizados para avaliar tamanho (VCM – volume corpuscular médio) e concentração de hemoglobina dos eritrócitos (CHCM – concentração de hemoglobina corpuscular média). Os termos macrocítico, normocítico e microcítico servem para indicar a média de volume celular, ou VCM, e tamanho geral dos eritrócitos. Já os termos hipocrômico e normocrômico referem-se à concentração de CHCM e concentração geral de hemoglobina nos eritrócitos (BARGER, 2003).

A ADC é normocítica e normocrômica, de grau leve a moderado (Figura 2) e o hematócrito não costuma ficar abaixo de 20%. Assim, os eritrócitos usualmente tem tamanho e conteúdo de hemoglobina normais, mas estão em menor número (BARGER, 2003; WEISS, 2005; GANZ, 2014).

Figura 2: esfregaço sanguíneo de um cão com anemia normocítica e normocrômica.

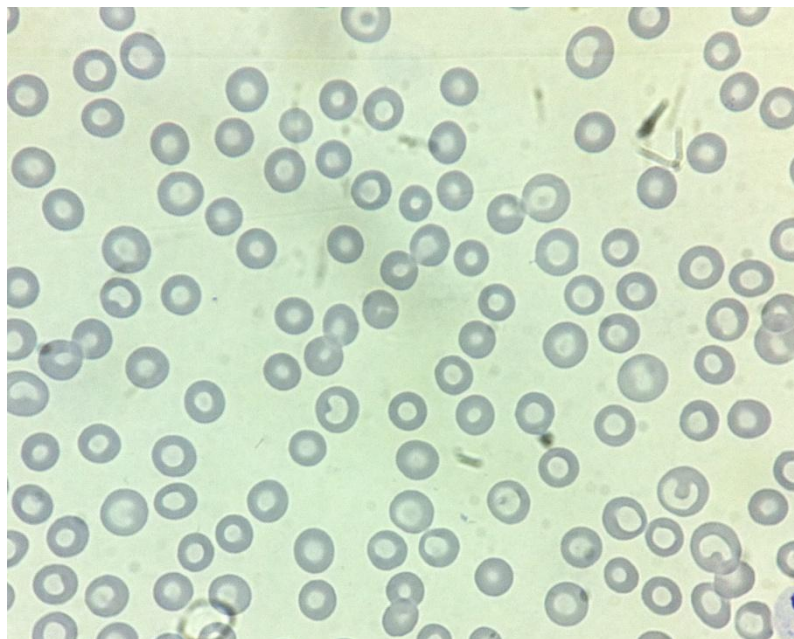


Fonte: LACVet UFRGS, 2014.

Em alguns casos, particularmente, se a inflamação persistir por longos períodos, os eritrócitos tem tamanho e conteúdo de hemoglobina discretamente diminuídos (GANZ, 2014). Experimentalmente, a indução de inflamação em cachorros saudáveis causou diminuição significativa no valor de eritrócitos, hematócrito, concentração de hemoglobina, VCM e CHCM (CHIKAZAWA, 2013).

Além da doença crônica, a deficiência de ferro também pode estar associada na causa da anemia, que então tende a ser mais severa e microcítica, considerando que micrócitos são frequentemente associados à deficiência de ferro (BARGER, 2003; WEISS, 2005). Portanto, a ADC é normocítica e normocrômica, mas pode progredir para microcítica e hipocrômica (Figura 3) (CHIKAZAWA, 2013).

Figura 3: esfregaço sanguíneo de um cão com hipocromasia.

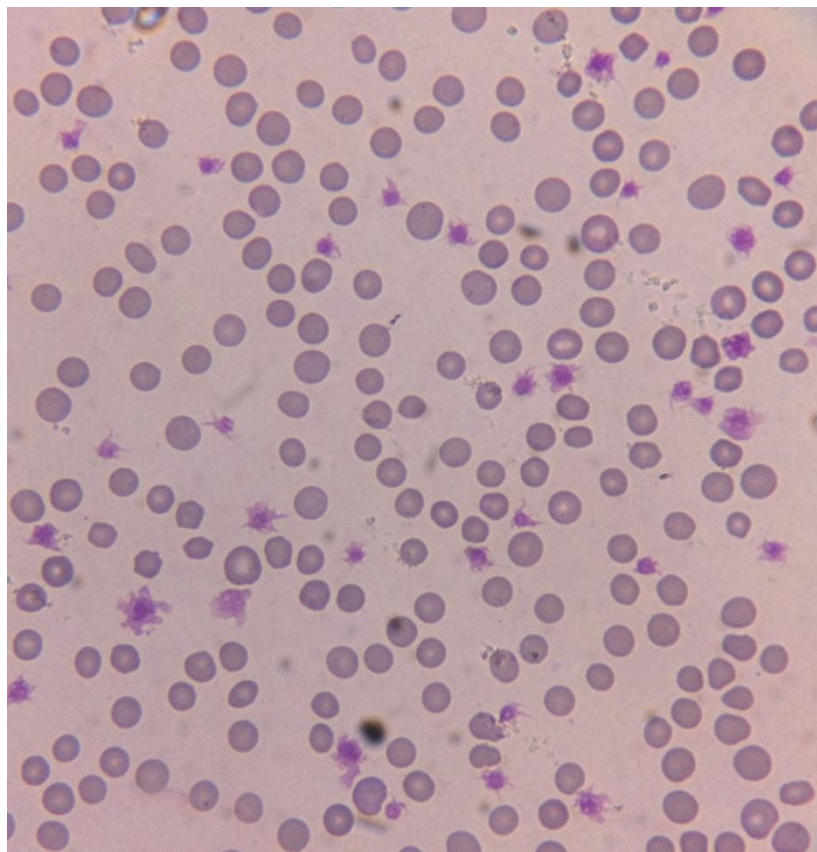


Fonte: LACVet UFRGS, 2014.

Anemias arregenerativas são mais frequentes e acontecem como resultado da diminuição na eritropoiese. A classificação morfológica é usualmente normocítica e normocrômica ou microcítica e hipocrômica, sendo ADC a causa mais comum de anemia não regenerativa (BARGER, 2003).

Mais informações podem ser obtidas a partir na análise de morfologia celular do esfregaço de sangue periférico (BARGER, 2003). Na ADC, a morfologia dos eritrócitos pode ter graus variáveis de anisocitose, hipocromasia (SAMSON, 1983) e poiquilocitose discreta (CANÇADO, 2002). A anisocitose indica uma variação geral no tamanho das células e costuma ser causada pela presença de macrócitos ou micrócitos juntamente com eritrócitos do tamanho normal (Figura 4). Já a poiquilocitose é a variação no formato das células (BARGER, 2003).

Figura 4: esfregaço sanguíneo de um cão que apresenta anisocitose e trombocitose.



Fonte: LACVet UFRGS, 2014.

#### 4.1.2 Contagem de Reticulócitos

Reticulócitos são eritrócitos imaturos não nucleados com RNA citoplasmático corável e sua contagem é considerada o padrão ouro para avaliação da resposta do animal à anemia, sendo influenciada por diversos fatores, como: diferenças entre espécies, severidade da anemia, idade e estado de saúde do animal, e estes devem ser considerados para determinar se a resposta é adequada (BARGER, 2013; STOCKHAM & SCOTT, 2011). Reticulócitos são usados para classificar as anemias em regenerativas, no caso de reticulocitose, ou arregenerativas, no caso de reticulopenia. Também avalia a integridade da medula óssea e resposta ao tratamento da anemia (COWGILL, 2003). A elevada contagem de reticulócitos é o melhor índice de regeneração (BARGER, 2003).

Em gatos, deve ser feita uma distinção entre reticulócitos agregados e pontilhados. Os reticulócitos pontilhados aumentam com a eritropoiese, mas o aumento é atrasado e pode persistir por até 3 a 4 semanas após a resposta medular; assim, um gato saudável pode ter até 17% de reticulócitos pontilhados na circulação. No entanto, os reticulócitos agregados refletem a atividade atual da medula óssea e capacidade regenerativa, semelhante aos cães

(BARGER, 2003). Ou seja, os reticulócitos agregados dos felinos indicam um evento recente e a estimulação ou resposta atual da medula óssea. Já os reticulócitos pontilhados indicam que o evento desencadeador da anemia aconteceu de 2 a 4 semanas atrás (COWGILL, 2003). Sendo assim, a contagem de reticulócitos deve incluir apenas os reticulócitos agregados em gatos (BARGER, 2003).

Já em caninos, a resposta regenerativa esperada se dá através dos reticulócitos agregados. Reticulócitos pontilhados podem ser observados, mas estão presentes em pequeno e insignificante número e são desconsiderados. A contagem absoluta maior que 60.000 a 80.000 reticulócitos/ $\mu$ L ou maior que 1 a 1,5% tipicamente indica regeneração em caninos. Para felinos, a contagem absoluta deve ser superior a 42.000 reticulócitos/ $\mu$ L ou 1% (COWGILL, 2003; STOCKHAM & SCOTT, 2011).

Na ADC, a contagem de reticulócitos é baixa, o que indica produção deficiente de eritrócitos (WEISS, 2005). No estudo de Chikazawa (2013) citado anteriormente, a contagem de reticulócitos não teve alterações significativas entre os cães, indicando que a anemia induzida pela inflamação é hipoproliferativa. Ou ainda, a contagem de reticulócitos pode estar normal ou pouco elevada, mas inadequadamente aumentada em relação ao grau de anemia (CANÇADO, 2002). Para cães, a contagem absoluta fica abaixo de 60.000 reticulócitos/ $\mu$ L e, para gatos, abaixo de 40.000 reticulócitos/ $\mu$ L (BARGER, 2003).

#### 4.1.3 Eritropoietina

Na ADC, a eritropoietina encontra-se normal ou pouco aumentada (CANÇADO, 2002). A mensuração dos níveis de eritropoietina é útil apenas para pacientes anêmicos com menos de 10 g/dL de hemoglobina e no caso de ADC, a hemoglobina raramente está abaixo de 8 g/dL (GANZ, 2014).

Além disso, mudanças nos valores de hemoglobina ou contagem de reticulócitos também podem indicar resposta ao tratamento (WEISS, 2005). No entanto,

#### 4.1.4 Leucograma

As alterações mais comuns associadas à inflamação são leucocitose e neutrofilia com ou sem desvio à esquerda. A inflamação em geral, costuma estar acompanhada de neutrofilia; no

entanto, pode ocorrer leucopenia em casos de resposta inflamatória severa e hiperaguda (BARGER, 2003; WEISER, 2012; SAMSON, 1983).

Morfológicamente, os leucócitos também devem ser avaliados quanto à toxicidade. Neutrófilos tóxicos são células morfológicamente alteradas devido à produção anormal na medula óssea, ou seja, o estímulo inflamatório acelera a produção medular e os neutrófilos são liberados para a circulação com maior quantidade de organelas residuais; entretanto, sem alteração de função. A magnitude do desvio à esquerda e a presença de neutrófilos tóxicos estão relacionados com a gravidade da inflamação (BARGER, 2003; WEISER, 2012).

#### 4.1.5 Contagem de Plaquetas

O esfregaço de sangue periférico deve ser avaliado quanto à verificação de agregados plaquetários, pois sua presença subestima a contagem de plaquetas em qualquer método. Também deve ser avaliado o tamanho das plaquetas, pois plaquetas muito grandes podem ser contadas como eritrócitos e plaquetas muito pequenas podem não ser contadas nos analisadores automáticos por impedância (BARGER, 2003).

O aumento no número de plaquetas é chamado trombocitose, enquanto a diminuição é conhecida por trombocitopenia (BARGER, 2003). A inflamação pode cursar com trombocitose e, tanto inflamação aguda como crônica e deficiência de ferro cursam com trombocitose reativa, uma vez que os estimulantes da produção plaquetária, tais como trombopoietina, estão elevados nesses estados clínicos, por reação de fase aguda inflamatória (Figura 4). Isso acontece porque IL-6 e cortisol, que são mediadores inflamatórios, tem capacidade de induzir aumento na expressão de trombopoietina (SAMSON, 1983; BARGER, 2003; BULLA, 2005). Além disso, neoplasias mieloproliferativas aparecem como a causa mais comum de trombocitose em cães e gatos, pois é reativa às citocinas inflamatórias e fatores de crescimento hematopoiéticos, constituindo síndrome paraneoplásica (BERGMAN, 2013; CHILDRESS, 2012).

#### 4.1.6 Concentração de Ferro Sérico

Como acontece o seqüestro de ferro pelo sistema reticuloendotelial, a concentração sérica de ferro fica diminuída (WEISS, 2005; THRALL, 2012). Essa alteração é denominada de “pseudodeficiência de ferro”, que é hipoferremia nos casos de inflamação; ou seja, pode



haver deficiência do elemento no sangue, mas não no organismo (STOCKHAM & SCOTT, 2011).

#### 4.1.7 Capacidade Total de Ligação

Esse teste significa a mensuração da concentração total de transferrina sérica. Na ADC, a capacidade total de ligação do ferro está normal ou reduzida (THRALL, 2012; WEISS, 2010).

#### 4.1.8 Ferritina

A concentração sérica de ferritina aumenta em várias afecções, como sobrecarga de ferro, doenças inflamatórias, hepatopatias e tumores malignos. A hiperferritinemia acontece devido ao aumento no armazenamento de ferro, danos ao fígado (que contém altas concentrações de ferritina), inflamação (ferritina é uma proteína de fase aguda) e está diretamente relacionada a tumores (CHIKAZAWA, 2013). Como a ferritina é uma proteína de fase aguda, pacientes com doença inflamatória ou neoplásica podem apresentar valores elevados, pois a proteína tem correlação com armazenamento de ferro nos animais domésticos (CANÇADO, 2002; WEISS, 2010). Também é relatado que a ferritina pode estar em concentrações dentro do intervalo de referência (THRALL, 2012) na ADC, assim, a ferritina não expressa corretamente a quantidade de ferro do organismo (CANÇADO, 2002).

#### 4.1.9 Mielograma e concentração de Ferro Medular

Entre as indicações do exame de medula óssea, está a contagem celular diminuída, como nos casos de anemia não regenerativa; com o intuito de pesquisar evidências no armazenamento de ferro. Em cães e gatos, as amostras podem ser obtidas na crista ilíaca ou cavidades medulares do fêmur ou úmero, através de punção aspirativa ou biópsia de fragmento medular. O armazenamento tecidual de ferro nos macrófagos acontece através da hemossiderina, que aparece na forma de um pigmento amarelo, amarelo-esverdeado ou até amarelo-acastanhado. Para uma avaliação mais precisa dos estoques desse elemento, usa-se um corante específico, como por exemplo o azul da Prússia (STOCKHAM & SCOTT, 2011; WEISS, 2010).

A concentração de ferro hepático mensurada através da biópsia de fígado e a estimativa da concentração da medula óssea através de corantes, como o azul da Prússia, na amostra de biópsia, são métodos aceitáveis para mensurar as reservas sistêmicas de ferro (CHIKAZAWA, 2013). A análise do ferro medular revela presença normal ou aumentada de ferro, em função do distúrbio de sua mobilização (CANÇADO, 2002). Na ADC, a concentração do ferro armazenado na medula está normal ou aumentada (THRALL, 2012).

#### 4.1.10 Outras Alterações Bioquímicas

Proteínas de fase aguda positivas podem estar aumentadas em função da estimulação da produção hepática por citocinas; no entanto, não são indicadores específicos de ADC. São exemplos: proteína C reativa, fibrinogênio, haptoglobulina (que tem a função de ligar-se a hemoglobina e indisponibilizar o ferro para os microorganismos) e ceruloplasmina (enzima com atividade de oxidase relacionada ao transporte de ferro no plasma). A dosagem sérica das citocinas IL-1, IL-6, TNF-  $\alpha$  e INF-  $\gamma$  também está aumentada. Além disso, pode cursar com a diminuição de albumina e transferrina sérica, proteínas de fase aguda negativas, ou seja, que sofrem diminuição na concentração plasmática frente à um processo inflamatório (WITMER, 2013; STOCKHAM & SCOTT, 2011; CANÇADO, 2002).

## 4.2 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

A ADC deve ser diferenciada de outras causas de anemia, como: deficiência de folato e/ou vitamina B12, hemólise, diminuição da eritropoiese por insuficiência renal, mielofitose ou anemia induzida por drogas e toxinas. No entanto, essas etiologias podem ser concomitantes (CANÇADO, 2002).

O principal diagnóstico diferencial para ADC é anemia ferropriva (CANÇADO, 2002) que relacionada com baixa absorção do mineral, enquanto que a ADC é multifatorial. Também, as duas causas podem ser concomitantes (WEISS, 2005). A anemia por deficiência de ferro não tem reservas de ferro nos macrófagos do mielograma (GANZ, 2014) e é microcítica e hipocrômica (WEISS, 2005), caracterizando informações importantes para o diagnóstico diferencial entre essas anemias.

Atualmente, o padrão ouro de avaliação da ADC está sendo substituindo a avaliação da medula óssea pela avaliação da concentração sérica de ferritina. Anemia, hipoferrêmia e baixa concentração de ferritina são indicadores altamente específicos para anemia por deficiência de ferro; enquanto que anemia, hipoferrêmia e ferritina aumentada ou dentro dos valores indicam ADC (GANZ, 2014). Desse modo, usa-se a concentração sérica de ferritina ou a avaliação da medula óssea para diferenciar ADC de anemia ferropriva na prática clínica veterinária (THRALL, 2012). Em cães e gatos, entretanto, os resultados dos ensaios de ferritina não são tão claramente definidos e é mais conclusiva a avaliação do estoque de ferro medular pela coloração com azul da Prússia (COUTO, 2010).

## 5. TRATAMENTO

ADC é secundária à inflamação; logo, tratando a causa da inflamação, a anemia também será resolvida, uma vez que o tratamento da doença de base corrige os mecanismos envolvidos no desenvolvimento da anemia. O tratamento direto da anemia deve ser considerado se estiver prejudicando a qualidade de vida ou a recuperação da doença do paciente (CANÇADO, 2002; GANZ, 2014). Nos casos de ADC em decorrência da síndrome paraneoplásica, o tratamento de eleição é remover o tumor (BERGMAN, 2013).

Uma das opções de tratamento direto da ADC é a transfusão de eritrócitos, geralmente reservada para anemia severa ou com agudização dos sinais clínicos (GANZ, 2014) ou ainda quando existir comprometimento cardiovascular (WITMER, 2013). A transfusão de concentrado de hemácias é indicada principalmente para pacientes idosos e com neoplasia, por terem outros mecanismos envolvidos na severidade da anemia tais como a supressão da hematopoiese pós-quimioterapia e a infiltração da medula óssea (CANÇADO, 2002).

Pode ser considerada ainda a administração de eritropoietina e seus derivados, com ou sem suplementação de ferro intravenoso. Anemia da inflamação não é uma das doenças com indicação para o uso de eritropoietina, mas pode ser uma alternativa baseada num pequeno número de casos com relato de similaridades entre anemia da inflamação e anemia da doença renal crônica (GANZ, 2014). A administração de eritropoietina deve ser considerada em casos de doenças inflamatórias prolongadas (CANÇADO, 2002).

Além da administração de eritropoietina e transfusão de hemácias, a reposição de ferro também é uma opção. Para isso, deve-se considerar que o seqüestro de ferro é uma forma de defesa do organismo contra agentes infecciosos e células neoplásicas que dependem intrinsecamente de ferro para sua proliferação. Assim, a administração de ferro oral ou parenteral deve ser evitada nesses casos e considerada, apenas, em doenças inflamatórias independentes desse mecanismo (CANÇADO, 2002). Quando a anemia é clinicamente significativa e existe alguma suspeita de deficiência de ferro em paciente com anemia da inflamação, pode-se testar o tratamento com ferro intravenoso (GANZ, 2014).

Tratamentos experimentais estudam a possibilidade de interferir no mecanismo das citocinas ou do eixo hepcidina-ferroportina e seus reguladores, diminuindo a expressão de hepcidina e aumentando a atividade da ferroportina (GANZ, 2014; POGGIALI, 2014). Cançado (2002) relatou que o uso de terapia anti-citocina em humanos poderia trazer algum benefício ao paciente, mas que ainda era controverso. Já Ganz (2014), indicou a aprovação do

uso de agentes anti-IL-6 ou outras drogas anti-citocinas que indiretamente diminuam os níveis de IL-6 para o tratamento de doenças inflamatórias severas.

Como o tratamento da doença de base funciona concomitantemente como tratamento da ADC, a presença e/ou intensidade da anemia pode ser usada como parâmetro laboratorial para monitorar o curso clínico da doença e eficácia do tratamento (CANÇADO, 2002). Além disso, a mensuração da eritropoietina, mudanças nos valores de hemoglobina ou contagem de reticulócitos podem indicar resposta ao tratamento (WEISS, 2005). A monitoração dos parâmetros bioquímicos citados anteriormente também pode ser útil no acompanhamento (CANÇADO, 2002).

## 6. CONCLUSÃO

A anemia compromete uma das funções vitais do organismo, o transporte de oxigênio aos tecidos, e é frequentemente associada a doenças crônicas como inflamação, infecção ou neoplasia maligna, sendo essa a forma mais comum de anemia arregenerativa em cães e gatos. Nem todos os mecanismos que causam a ADC estão completamente elucidados em cães e gatos, mas até o presente momento, a etiologia é baseada no seqüestro e retenção de ferro pelos macrófagos, falhas na eritropoiese e aceleração da eritrofagocitose, todos influenciados por citocinas inflamatórias.

Para diagnosticar ADC e sua causa de base, é importante associar os achados clínicos com testes hematológicos e bioquímicos, além de suas alterações. A patologia clínica é uma grande ferramenta para a investigação da patogênese e da doença e posterior terapia adequada. Diante disso, esse estudo apresentou uma revisão bibliográfica atualizada sobre o assunto com o intuito de aproximar o veterinário clínico do patologista, possibilitar melhor entendimento acerca das alterações envolvidas na ADC e, assim, maior clareza no diagnóstico e tratamento dos pacientes.

## REFERÊNCIAS

- BARGER, A.M. **The Complete Blood Cell Count: a powerful diagnostic tool.** *Vet Clin Small Ani*, v. 33, p. 1207-1222, 2003.
- BERGMAN, P.J. **Paraneoplastic Syndromes.** In: WITHROW, S.J.; VAIL, D.M.; PAGE, R.L. *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology.* 5<sup>th</sup> ed. St Louis: Saunders Elsevier. p. 83-97, 2013.
- BULLA, C. **Seqüenciamento e Expressão da Trombopoietina Canina.** Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Botucatu, São Paulo. 2005
- CANÇADO, R.D.; CHIATTONE, C.S. **Anemia da Doença Crônica.** *Ver Bras Hematol Hemoter*, v. 24, n. 2, p. 127-136, 2002.
- CARVALHO, M.C.; BARACAT, E.C.E.; SGARBIERI, V.C. **Anemia Ferropriva e Anemia da Doença Crônica: Distúrbios do Metabolismo de Ferro.** *Segurança Alimentar e Nutricional*, v. 13, n. 2, p. 54-63, 2006.
- CHILDRESS, M. O. **Hematologic abnormalities in the Small Animal Cancer Patient.** *Vet Clin Small Animal*, v. 42, n.1, p. 123-155, 2012.
- CHIKAZAWA, S. et al. **Change in Serum Ferritin Concentration in Experimentally Induced Anemia of Chronic Inflammation in Dogs.** *J Vet Med Sci*, v. 75, n. 11, p. 1419-1426, 2013.
- COUTO, G. **Anemia.** In: NELSON, R.W.; COUTO, C.G. *Manual de medicina interna de pequenos animais.* 4a ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora, p. 1211-1225, 2010.
- COWGILL, E.S.; NEEL, J.A.; GRINDEM, C.B.; **Clinical Application of Reticulocyte Counts in Dogs and Cats.** *Vet Clin Small Anim*, v. 33, p. 1223-1244, 2003.
- FRY, M.M. **Anemia of Inflammatory, Neoplastic, Renal, and Endocrine Diseases.** In: WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. *Schalm's Veterinary Hematology.* 6<sup>th</sup> ed. Ames: Wiley-Blackwell. p. 246-250, 2010.
- KOURY, M. J. **Abnormal erythropoiesis and the pathophysiology of chronic anemia.** *Blood Reviews*, v. 28, p. 49-66, 2014.
- MILLS, J. **Anaemia.** In: DAY, M.J.; KOHN, B. *BSAVA Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine.* 2<sup>nd</sup> ed. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association. p. 31-44, 2012.
- NAIGAMWALLA, D.Z.; WEBB, J.A.; GIGER, U. **Iron deficiency anemia.** *Can Vet J*, v. 53, p. 250-256, 2012.
- NEMETH, E.; GANZ, T. **Anemia of Inflammation.** *Hematol Oncol Clin N Am*, 2014.
- POGGIALI, E.; AMICIS, M.M.D.; MOTTA, I. **Anemia of chronic disease: A unique defect of iron recycling for many diferente chronic diseases.** *European Journal of Internal Medicine*, v. 25, p. 12-17, 2014.

SAMSON, D. **The anemia of chronic disorders.** Postgraduate Medical Journal, v. 59, p. 543-550, 1983.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária.** Segunda edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2011.

THRALL, M.A. **Nonregenerative Anemia.** In: THRALL, M.A.; WEISER, G.; ALLISON, R.W.; CAMPBELL, A.T.W. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry.* 2<sup>nd</sup> ed. Iowa: Wiley-Blackwell. p. 81-86, 2012.

WANER, T.; HARRUS, S. **Anaemia of inflammation and neoplasia.** In: DAY, M.J.; KOHN, B. *BSAVA Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine.* 2<sup>nd</sup> ed. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association. p. 31-44, 2012.

WEISER, G. **Interpretation of Leukocyte Responses in Disease.** In: THRALL, M.A.; WEISER, G.; ALLISON, R.W.; CAMPBELL, A.T.W. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry.* 2<sup>nd</sup> ed. Ames: Wiley-Blackwell. p. 127-139, 2012.

WEISS, D.J.; MCCLAY, C.B. **Studies on the Pathogenesis of the Erythrocyte Destruction Associated with the Anemia of Inflammatory Disease.** *Veterinary Clinical Pathology*, v. 17, n. 4, p. 90-93, 1988.

WEISS, G; GOODNOUGH, L.T. **Anemia of Chronic Disease.** *New Engl J Med*, v. 352, p. 1011-1023, 2005.

WEISS, D.J. **Iron and Copper Deficientes and Disorders of Iron Metabolism.** In: WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. *Schalm's Veterinary Hematology.* 6<sup>th</sup> ed. Ames: Wiley-Blackwell. p. 167-171, 2010.

WITMER, C.M. **Hematologic Manifestations of Systemic Disease (Including Iron Deficiency, Anemia of Inflammation and DIC).** *Pediatr Clin N Am*, v. 60, p. 1337-1348, 2013.