

DIAGNÓSTICO E EXAMES LABORATORIAIS DA ANEMIA MEGALOBLÁSTICA POR DEFICIÊNCIA DE VITAMINA B₁₂ E ÁCIDO FÓLICO

Jacqueline Duarte Santana

Graduanda em Biomedicina
Faculdades Integradas de Três Lagoas – FITL/AEMS

Jenifer Muriel Ferreira Araujo Costa

Graduanda em Biomedicina
Faculdades Integradas de Três Lagoas – FITL/AEMS

Michele Roberta Prado Silva

Graduanda em Biomedicina
Faculdades Integradas de Três Lagoas – FITL/AEMS

Tayara Katiane Barbosa Santos

Graduanda em Biomedicina
Faculdades Integradas de Três Lagoas – FITL/AEMS

Deigilam Cestari Esteves

Biomédica, Mestre em Microbiologia – Universidade do Oeste Paulista
Docente das Faculdades Integradas de Três Lagoas – FITL/AEMS

Renan Fava Marson

Biomédico, Mestre em Bioengenharia – Universidade Camilo Castelo Branco
Docente das Faculdades Integradas de Três Lagoas – FITL/AEMS

Aline Rafaela da Silva Rodrigues Machado

Biomédica, Doutora em Clínica Médica - Investigação Biomédica – Virologia
Docente das Faculdades Integradas de Três Lagoas – FITL/AEMS

RESUMO

A anemia megaloblástica é causada por uma alteração da síntese do DNA, ocasionada pela deficiência de vitamina B₁₂ e ácido fólico, em casos mais sérios de deficiência leva a patologias cardiovasculares e neurológicas. O diagnóstico desta anemia é realizado por testes como ácido metilmalônico (MMA), homocisteína (Hcy) e Holo-T; ambos para indicar a presença ou a ausência de vitamina B₁₂ e ácido fólico no organismo. A deficiência é causada por má absorção ou pela falta da ingestão dos dois elementos, e esta anemia costuma apresentar-se em pessoas idosas e em vegetarianos. A vitamina B₁₂ e o ácido fólico estão presentes em alimentos como feijão, verduras, carnes e leite. Após do diagnóstico definitivo da doença, o uso de cápsulas que contenham a vitamina B₁₂ e o ácido fólico são indicados no início do tratamento, visando a diminuição da sintomatologia geral desencadeada pela anemia megaloblástica e evitar a manifestação mais grave da doença.

PALAVRAS-CHAVE: Anemia megaloblástica; Deficiência de vitamina B₁₂; Deficiência de ácido fólico.

INTRODUÇÃO

A anemia tem relação direta com a formação e diminuição da síntese do DNA. As manifestações clínicas são variadas e decorrem da redução na capacidade de transporte de oxigênio do sangue e conseqüentemente menor oxigenação dos tecidos. Os sinais e sintomas principais da anemia refletem a hipóxia tecidual, onde inclui-se dores de cabeças, tonturas e fraqueza muscular. (ZAGO; FALCÃO; PASQUINI, 2001). Dentre o conjunto formado pelas anemias, uma das mais intrigantes é a anemia megaloblástica, que é causada por diferentes fatores, dentre eles destacam-se a deficiência de catecolaminas (vitamina B₁₂) e de folatos. (PANIZ, 2015).

A vitamina B₁₂ é uma vitamina hidrossolúvel, que ajuda na formação das hemácias e na manutenção da atividade do sistema nervoso. Sua deficiência é rara, entretanto, pode ocorrer em idosos e em vegetarianos devido à má absorção pelo organismo ou por falta da ingestão de vitamina B₁₂, que está presente em ovos, carnes e leite. Além de idosos e vegetarianos, a deficiência da absorção de vitamina B₁₂ ocorre em pacientes com alterações gástricas, doenças do íleo, pancreatite grave e algumas síndromes, como a de Zollinger-Ellison e a de Imerslund-Grasbeck (PANIZ, 2015).

Além de participar no processo de síntese de DNA, a vitamina B₁₂ é um cofator e uma coenzima em diversas reações bioquímicas, como síntese de metionina a partir da homocisteína e conversão do propionil em succinil coenzima A, a partir do metilmalonato (ANDRÉS et al., 2004).

Em relação ao ácido fólico, sua deficiência diminui a síntese dos ácidos tetraidrofólicos, acarretando danos e diminuição da síntese de proteínas, afetando diretamente a maturação e divisão celular, levando ao quadro de anemia megaloblástica (VERRASTRO et al., 2005).

A deficiência de vitamina B₁₂ e ácido fólico no organismo, podem evoluir para um quadro de anemia megaloblástica, entretanto, os mecanismos envolvidos na liberação de eritrócitos macrocíticos são distintos para cada elemento citado. O presente estudo objetivou descrever o envolvimento da vitamina B₁₂ e do ácido fólico no mecanismo de maturação normal dos eritrócitos durante a eritropoiese normal. Identificando-se qual o elemento que está em deficiência no organismo para gerar a

anemia megaloblástica, um tratamento de reposição imediata do composto deve ser iniciada.

2 METODOLOGIA

Este artigo foi confeccionado através de pesquisa bibliográfica realizada em artigos, jornais e revistas científicas nas bases de dados eletrônicas *Scientific Electronic Library Online Brasil (SciELO)*, *Lilacs* (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde), *PubMed* e em livros de áreas afins, utilizando-se como palavras-chave: “anemia megaloblástica”, “deficiência de vitamina B₁₂” e “deficiência de ácido fólico”.

3 DESENVOLVIMENTO

Animais e plantas não promovem a síntese da vitamina B₁₂, portanto os humanos são completamente dependentes da dieta para sua obtenção (KELLY, 1997). No organismo humano, a absorção de vitamina B₁₂ já inicia na boca, por ação da saliva, e continua até o final do intestino delgado. Neste processo, várias proteínas são necessárias para promover captação da vitamina B₁₂. Inicialmente, as glicoproteínas secretadas na saliva e no suco gástrico unem-se à vitamina B₁₂, a caminho do duodeno (KELLY, 1997; VERRASTRO et al., 2005).

Na porção inicial do duodeno as proteases do suco pancreático rompem as ligações entre a vitamina B₁₂ e as glicoproteínas, posteriormente, outra proteína, o fator intrínseco (FI), se une à vitamina B₁₂, e a leva até outras proteínas, os receptores do fator intrínseco, localizados nas células que constituem a porção final do intestino delgado. As proteínas receptoras do fator intrínseco introduzem a vitamina B₁₂ nas células intestinais e, então, a vitamina passa para o sangue circulante. Já na circulação, a vitamina B₁₂ se liga à proteína denominada transcobalamina II, que a transporta para os diferentes tecidos e células (KELLY, 1997; VERRASTRO et al., 2005).

O folato ou ácido fólico é um composto que quando se liga a quatro átomos de hidrogênios origina o ácido tetraidrofólico, que é importante para síntese das bases pirimidinas e purinas, bases nitrogenadas essenciais à formação da estrutura

do DNA e RNA. A diminuição da formação dos ácidos tetraidrofólicos, devido à deficiência da ingestão de folatos, causa danos sérios na síntese das proteínas, afetando a formação e divisão celular, levando ao quadro de anemia megaloblástica (VERRASTRO et al., 2005). O ácido fólico está presente em maiores quantidades no feijão, em diversas frutas e em vegetais e sua deficiência sistêmica ocorre pela ingestão inadequada ou pela má absorção dos folatos presentes nos alimentos citados. A diminuição da síntese protéica devido ao déficit de folatos pode ocorrer por diversos fatores, como: i) o aumento do consumo (durante a amamentação ou gestação), ii) o aumento da perda durante o uso de drogas antifólicas, iii) uso excessivo de álcool e, iv) na ingestão de alguns medicamentos que impedem a sua absorção (OLIVEIRA, 2015).

A deficiência de ácido fólico tem maior incidência em idosos, pessoas que utilizam medicamento para artrite reumatóide e em pessoas que apresentam o alcoolismo crônico, aumentando a chance de desnutrição (VERRASTRO et al., 2005).

O diagnóstico da anemia megaloblástica inicialmente é realizado com a identificação da origem da deficiência dos folatos e da vitamina B₁₂, por exemplo, devido aos hábitos alimentares, e unindo as causas e os sintomas apresentados, seu diagnóstico será realizado por exames laboratoriais. O diagnóstico precoce e preciso é fundamental para a indicação do medicamento adequado para o tratamento do paciente (VERRASTRO et al., 2005).

Além da diminuição da síntese protéica e de DNA, a anemia megaloblástica pode desencadear algumas complicações sérias como danos ao sistema nervoso (demência) e nas gestantes acarreta o aumento do risco de má-formação fetal (PANIZ, 2015).

Devido à gravidade e variedade de manifestações clínicas da doença e os fatores associados que a deficiência do ácido fólico e da vitamina B₁₂ causa no organismo, tem-se como objetivo do presente estudo, orientar os profissionais da saúde para um diagnóstico correto e preciso desta anemia, além de citar e comentar sobre os exames essenciais para a identificação da anemia megaloblástica desencadeada pela deficiência de vitamina B₁₂ e ácido fólico.

3.1 Características gerais desencadeadas pela anemia megaloblástica

A anemia megaloblástica representa a principal anemia macrocítica e é originada principalmente pela deficiência de vitamina B₁₂ ou ácido fólico. Esses dois nutrientes são de vital importância, pois atuam como coenzimas em reações que culminam na síntese de DNA. De forma geral, alteração na síntese do DNA é caracterizada por diminuição do período de divisão celular, que se torna lenta em relação ao crescimento citoplasmático. Esta anormalidade nada mais é do que uma falta de sincronia da maturação nuclear em relação à maturação citoplasmática. As células se preparam para uma divisão que não ocorre ou que demora mais para ocorrer, e como resultado, as células se tornam maiores (FAILACE; FERNANDES, 2009).

Com o aumento do tamanho do eritrócito, ele passa a ser denominado de célula megaloblástica ou macrocítica (PANIZ, 2015). Conseqüentemente, ocorre uma baixa contagem do nível de plaquetas e leucócitos, além disso, a alteração morfológica do eritrócito prejudica o desencadeamento preciso de sua função, e como consequência o transporte ineficiente de oxigênio (VERRASTRO et al., 2005; HOFFBRAND, 2015).

De maneira simplificada, os sinais e sintomas da anemia megaloblástica incluem: perda de apetite e astenia, dores abdominais, enjôos e diarreia, desenvolvimento de úlceras dolorosas na boca e na faringe, alterações da pele, perda de cabelo, cansaço, perda de energia e de vontade, sensação de boca e língua doloridas, e durante a gestação, pode provocar partos prematuros e/ou a má-formação do feto, e em crianças, o seu desenvolvimento e crescimento pode ser retardado e a puberdade pode ser atrasada (ZAGO; FALCÃO; PASQUINI, 2001). As manifestações clínicas da deficiência de vitamina B₁₂ são inúmeras, variando de estados mais leves até condições muito severas. Essa desordem, que se manifesta pela anemia megaloblástica, está associada a sintomas neurológicos com frequente aparecimento da tríade fraqueza, glossite e parestesias (GARAY, 2006) Incluem alterações neuropsiquiátricas, neuropatia óptica, neuropatia sensitiva e neuropatia autonômica, situações que podem ser revertidas ou melhoradas com o tratamento de reposição com vitamina B₁₂ (NETO, 2008).

Na deficiência de folatos, os sintomas são semelhantes, como a glossite ou ardência, dor e vermelhidão da língua, “língua careca”, diarreia, perda de apetite e anemia megaloblástica indistinguível da anemia megaloblástica causada pela deficiência de vitamina B₁₂. No entanto, ao contrário da deficiência de vitamina B₁₂, na carência de ácido fólico, não se observa as alterações neurológicas típicas da deficiência de vitamina B₁₂, pois o sistema nervoso do adulto não depende de ácido fólico (ZAGO; FALCÃO; PASQUINI, 2001). A deficiência de ácido fólico no início da gestação pode ocasionar má formação do tubo neural do feto, processo conhecido como mielomeningocele, hidrocefalia e anencefalia, uma vez que o folato é essencial para o feto em formação, durante a intensa renovação celular, intensa atividade do sistema hematopoiético e desenvolvimento do sistema nervoso (MCDONALD et al., 2003; MELERE, 2010).

3.2 Identificação da anemia megaloblástica

Para avaliar a deficiência de vitamina B₁₂ ou folatos no organismo, as dosagens em níveis séricos são indispensáveis (Tabela 1). A cobalamina sérica é baixa na anemia megaloblástica e na neuropatia causado por deficiência de vitamina B₁₂. O folato sérico e o eritrocitário estão em níveis baixos na anemia megaloblástica causada por deficiência de folato. A dosagem de ácido metilmalônico sérico é útil para avaliar a deficiência de B₁₂ e a dosagem da homocisteína (Hcy) permite a identificação da deficiência de ambos (HOFFBRAND et al., 2008).

Tabela 1 - Exames laboratoriais utilizados para identificar a deficiência de vitamina B₁₂ e de ácido fólico.

Exame/ Dosagem	Valores de referência*		Resultado	
			Deficiência de vitamina B ₁₂	Deficiência de ácido fólico
Vit. B12 sérica	160-925 ng/L	120-680pmol/L	Baixa	Normal ou limítrofe
Folato sérico	3-15 mg/L	4-30nmol/L	Normal ou alto	Baixo
Folato eritrocitário	160-640 mg/L	360-1.460	Normal ou baixo	Baixo

Fonte: HOFFBRAND, 2015. Editado por SANTANA, 2015.

Na observação dos esfregaços derivados de punção da medula óssea é possível a identificação de alterações em todas as linhagens celulares, casos em que a série eritroblástica pode ser completamente substituída pela linhagem megaloblástica, no qual os precursores eritróides são de grande tamanho com cromatina nuclear frouxa e grumosa. Avaliando a série branca e a série megacariocítica, nota-se dificuldade de amadurecimento destes progenitores, como a presença do gigantismo celular, núcleos grandes e frouxos, granulação escassa e às vezes muito volumosa nos granulócitos. Ainda, conforme Failace (2003) pode haver neutropenia no sangue periférico e a trombocitopenia pode não ser constante.

Nekel (2003) ressalta que a anemia megaloblástica é caracterizada pela presença de eritroblastos gigantes que originarão eritrócitos macrocíticos com aumento do Volume Corpuscular Médio (VCM maior que 98fl), aumento da Hemoglobina Corpuscular Média (HCM, superior a 38 pg), e com a Concentração de Hemoglobina Corpuscular Médica (CHCM) em valores dentro da normalidade (30 a 35g/dL). A eritropoiese é ineficaz na anemia megaloblástica devido à diminuição da síntese proteica e aliada à hemólise intramedular, ocorre simultaneamente um aumento da desidrogenase láctica, um discreto aumento da bilirrubina indireta, aumento considerável da homocisteína sérica, além das dosagens séricas de vitamina B₁₂ e ácido fólico diminuídas.

Independente se a causa da anemia megaloblástica ocorre por deficiência de vitamina B₁₂ ou por ácido fólico, no hemograma das anemias macrocíticas não é possível a identificação da causa da patologia, pois a macrocitose decorre de alterações medulares (NEKEL, 2003).

Observa-se no hemograma que a macrocitose e anisocitose precede a instalação da anemia, e a hemoglobina diminuída normalmente é notada devido à baixa contagem de eritrócitos. Na avaliação microscópica do esfregaço sanguíneo são observados macrócitos ovalados, e podem ser observados eritrócitos fragmentados (esquisócitos). A contagem de reticulócitos é baixa e a Fração Reticulocitária Imatura (IRF) vai estar aumentada. No leucograma observa-se neutropenia e presença de neutrófilos hipersegmentados. A contagem de plaquetas pode estar normal ou diminuída (NEKEL, 2003).

A dosagem de vitamina B₁₂ sérica é o teste mais comumente utilizado para o diagnóstico da deficiência por esta vitamina, os níveis são considerados baixos

quando a concentração de vitamina B₁₂ é menor que 200pg/mL. Outra opção é a dosagem de metabólitos gerados a partir da vitamina B₁₂, como o ácido metilmalônico e de homocisteína, ambos apresentam-se elevados com a diminuição da disponibilidade de vitamina B₁₂. Além do estado de anemia, a deficiência de ácido fólico e vitamina B₁₂ estão relacionadas por inúmeros autores ao desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, cardiovasculares, além de ser fator de risco para o desenvolvimento de câncer colorretal e desmineralização óssea (NEKEL, 2003).

Devido a gravidade e variedade de doenças associadas que a deficiência destes nutrientes causa é que se faz necessário um correto diagnóstico e tratamento da deficiência, pois o inapropriado tratamento pode até corrigir os sinais, no entanto propiciará o desenvolvimento de sintomas neurológicos, ou agravará permitindo o progresso dos danos, podendo torná-los irreversíveis (NEKEL, 2003).

De acordo com Painz et al. (2015) busca-se desenvolver testes mais eficientes para diagnosticar a deficiência de cobalamina, vulgarmente chamada de vitamina B₁₂, com marcadores que representam níveis melhores da sua concentração intracelular, apresentando maior confiança aos resultados, permitindo um diagnóstico precoce e uma avaliação em pacientes assintomáticos. Os testes com alta sensibilidade são os de dosagem de transportadores (holo- Tc), e de metabólitos, como o MMA (ácido metilmalônico) e a Hcy (homocisteína), que se elevam com a diminuição da disponibilidade de vitamina B₁₂.

3.3 Tratamento indicado para as diferentes manifestações da anemia megaloblástica

O tratamento da anemia megaloblástica depende de sua causa, se o distúrbio for por baixa ingestão de vitaminas, trata-se com a inclusão dessas vitaminas, além de incluir a vitamina B₁₂ e B₉, pode-se também incluir a vitamina C, que auxilia na absorção do ferro (PANIZ, 2015).

O tratamento por deficiência de ácido fólico tem que ter correção na dieta, com suplementos farmacológicos por via oral, doses de 1 a 5 mg/dia por um a quatro meses até a normalização da anemia, além da inclusão na dieta dos vegetais verdes, que são ricos em folatos. Antes de ser iniciado o tratamento deve-se observar se o paciente apresenta os níveis adequados de folatos e vitamina B₁₂, se

não, tanto o ácido fólico quanto a vitamina B₁₂ devem ser administradas simultaneamente (PIZZINO, 2015).

O tratamento por deficiência de vitamina B₁₂ em pacientes vegetarianas pode durar cerca de 1 mês e é realizado com suplementos vitamínicos ingeridos uma vez por semana. No instante curar-se definitivamente da anemia deve se ingerir regularmente alimentos ricos em vitamina B₁₂ (HOFFBRAND, 2015).

A resposta ao tratamento é de eficácia em 48 horas, com restabelecimento da hematopoiese normal. A sua eficácia é controlada pela contagem do número de eritrócitos que atinge seu valor normal máximo 10 dias após o início do tratamento via oral. Os níveis de hemoglobina e do hematócrito se elevam entre quatro a sete dias e o número de neutrófilos se normaliza em uma semana, mas a hipersegmentação dos neutrófilos desaparece de forma gradualmente após duas semanas. A contagem das plaquetas se normaliza em até uma semana e pode-se evidenciar uma trombocitose transitória (HOFFBRAND, 2015). A tabela 2 resume as formas de tratamento da anemia megaloblástica.

Tabela 2 – Tratamento dos déficits de vitamina B₁₂ e ácido fólico na anemia megaloblástica.

	Deficiência de vitamina B₁₂	Deficiência de folato
Composto	Hidroxocobalamina	Ácido fólico
Via	Intramuscular	Oral
Dose	1.000 µg	5 mg
Dose inicial	6 x 1.000 µg em 2-3 semanas	Diariamente por 4 meses
Manutenção	1.000 µg a cada 3 meses	Depende da doença de base; pode ser necessário tratamento durante toda a vida em anemias hemolíticas hereditárias crônicas, mielofibrose e diálise
Profilático	Gastrectomia total, ressecção ileal	Gestação, anemias hemolíticas graves, diálise, prematuridade

Fonte: HOFFBRAND, 2015. Editado por PRADO, M. R., 2015.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O diagnóstico laboratorial é de suma importância para um diagnóstico correto das deficiências descritas neste estudo. A vitamina B₁₂ e ácido fólico participam no desenvolvimento da hemácia durante a eritropoiese, e a deficiência destes elementos acarretam mudanças na morfologia dos eritrócitos e podem gerar patologias cardiovasculares e neurológicas.

Os testes indicados para a avaliação da deficiência destes elementos são MMA, Hcy e Holo-tc e considera-se que são capazes de indicar um diagnóstico precoce. O Holo-tc é usado para identificar a deficiência vitamina B₁₂, porém, encontra-se uma dificuldade de se identificar a dosagem correta da vitamina no organismo. O MMA e o Hcy são métodos bem semelhantes, ambos usados concomitantemente se elevam na insuficiência de vitamina B₁₂, mas o Hcy se eleva também na insuficiência de folato e assim é possível diferenciar qual deficiência está associada à anemia megaloblástica. Atualmente, as deficiências são controladas por uso de medicamentos, suplementos compostos por vitamina B₁₂ e ácido fólico, entretanto, ressaltamos que uma adequada alimentação, com a inclusão de todos os grupos alimentares, já fornece uma prevenção contra o desenvolvimento da anemia megaloblástica.

REFERÊNCIAS

ANDRÉS E, LOUKILI, N. H.; NOEL, E.; KALTENBACH, G.; ABDELGHENI, M. B.; PERRIN, A. E.; NOBLET-DICK, M.; MALOISEL, F.; SCHLIENGER, J. L.; BLICKLÉ, J. F. *Vitamin B12 (cobalamin) deficiency in elderly patients. Canadian Medical Association Journal*, v. 171, p. 251-9, 2004.

FAILACE, R. R.; FERNANDES, F. B.; FAILACE, R. **Hemograma: manual de interpretação.** 5ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

FAILACE, R. R. **Hemograma: manual de interpretação.** 4ª ed. Porto Alegre. Artmed, 2003.

GARAY, J. B. *Anemias carenciales II: anemia megaloblástica y otras anemias carenciales. Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud. Madrid*, v. 30, p. 67-75, 2006.

HOFFBRAND, A. V. **Fundamentos em Hematologia/** A.V. Hoffbrand.P.A.H. Moss. J. E. Pettit; Tradução: Renato Failace. 5ª Ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.

KELLY, N. D. G. *The coenzyme forms of vitamin B12: toward an understanding of their therapeutic potential.* **Alternative Medicine Review**, v. 2, p. 459-71, 1997.

MCDONALD, S. D.; FERGUSON, S.; TAM, L.; LOUGHEED, J.; WALER, M. C. *The prevention of congenital anomalies with periconceptional folic acid supplementation.* **Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 25, n. 2, p. 115–121, 2003.

MELERE, C. Índice de Alimentação Saudável: proposta de adaptação para uso em gestantes brasileiras. Porto Alegre, 2010. 117f. **Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, 2010.

NEKEL, J. C. **Anemia carencial em idosos por deficiência de ferro ácido fólico e vitamina B12.** Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2013. Dissertação (Mestrado).

NETO, F. T. **Nutrição clínica.** Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan S.A., 2008.

OLIVEIRA, E. A. S. **Anemia ferropriva/Anemias megaloblásticas/ Anemia aplásica.** 2009. Disponível em <<http://www.easo.com.br/Downloads/Anemia%20Falciforme.pdf>>. Acesso em: 16 jun. 2015.

PANIZ, C.; GROTTTO, D.; SCHMITT, G. C.; VALENTINI, J.; SCHOTT, K. L.; PLOMBLUM, V. J.; GARCIA, S. C. Fisiopatologia da deficiência de vitamina B12 e seu diagnóstico laboratorial. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 41, n. 5, p. 323-34, 2005.

PAZ, R.; NAVARRO, H. F. *Manejo Prevención y Control de la Anemia Megaloblástica Secundaria a Déficit de Ácido Fólico.* **Nutri. Hospital**, v. 21, n. 1, p. 115, 2006.

VERRASTRO, T.; LORENZI, F. T.; NETO, S. W. **Fundamentos de Morfologia, Fisiologia, Patologia e Clínica.** São Paulo: Editora Atheneu, 2005

ZAGO, M. A.; MALVEZI, M. Deficiências de vitamina B12 e de folato: anemias megaloblásticas. In: ZAGO, M.A; FALCÃO, R.P.; PASQUINI, R. (Org.). **Hematologia: fundamentos e prática.** Rio de Janeiro: Editora Atheneu, 2001. cap. 21, p. 1081.