

**ESPECIALIZAÇÃO EM HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA – ACADEMIA DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA**

THIAGO DA SILVA FELIX

PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA TROMBÓTICA

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

2020

THIAGO DA SILVA FELIX

PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA TROMBÓTICA

Trabalho de conclusão de curso para
obtenção do título de pós graduação
em Hematologia e Hemoterapia
apresentado à Academia de Ciência e
tecnologia de São José do Rio Preto

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

2020

PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA TROMBÓTICA

Thiago da Silva Felix

Autor de correspondência:

Thiago da Silva Felix - Rua Massaharu Tanigushi , nº122, Jardim Morada do Sol ,
Indaiatuba, São Paulo Telefone (19) 991315382

Email- thiagosilvas@hotmail.com

Trabalho desenvolvido na área de Biomedicina

RESUMO

A púrpura trombocitopênica trombótica é um distúrbio grave, trata-se geralmente de autoanticorpos ADAMTS13 que é a protease de clivagem do fator de von Willebrand, conseqüentemente formam-se em todo o sistema circulatório microtrombos, assim o número de plaquetas reduz drasticamente, a fragmentação de eritrócitos é evidente. O teste usado no diagnóstico é a pesquisa de ADAMST13. O tratamento normalmente é realizado através de plasmaférese e deve ser iniciado o mais rápido possível pois a doença pode acarretar danos renais e cerebrais.

Palavras-chaves: Púrpura, PTT, ADAMST13, plasmaférese.

ABSTRACT

Thrombotic thrombocytopenic purpura is a serious disorder, it is usually ADAMTS13 autoantibodies which is the von Willebrand factor cleavage protease, consequently microthrombi are formed throughout the circulatory system, so the number of platelets drastically reduces erythrocytes is evident. The test used in the diagnosis is the search for ADAMST13. Treatment is usually carried out through plasmapheresis and should be started as soon as possible as the disease can cause kidney and brain damage.

Keywords: Purple, PTT, ADAMST13, plasmapheresis.

INTRODUÇÃO

A púrpura trombocitopênica trombótica (PTT) foi descrita pela primeira vez em 1924 pelo pesquisador Moschowitz a doença também é conhecida como síndrome de Moschowitz. Essa é uma doença rara (5-10 casos/1.000.000 de pessoas/ano), que afeta ambos os sexos, sendo sua incidência duas a três vezes maior em mulheres entre 30 e 40 anos de idade.¹ Sua apresentação clínica consiste em cinco sinais clássicos: Trombocitopenia, anemia hemolítica microangiopática, insuficiência renal, sintomas neurológicos e a febre.² Esses sintomas citados ocorrem devido ao curso da doença que é caracterizada por ser hereditária ou adquirida, e inicia-se de maneira rápida e promove a oclusão de arteríolas e capilares da microcirculação, causando à isquemia dos tecidos adjacentes. Essa oclusão é causada por microtrombos de plaquetas, formados após agregação plaquetária intravascular.¹ Esses microtrombos promovem no acometido o surgimento de petéquias e equimoses, esse paciente também sofre crises de isquemia, essa sendo o principal agravante da doença. A isquemia é responsável pela febre e também dependendo de seu grau de acometimento e local as consequências podem ser gravíssimas. No cérebro pode surgir uma simples cefaleia ou em casos mais críticos o paciente pode entrar em coma. O rim também é muito acometido por essa isquemia, pois o mesmo pode apresentar disfunção tendo como característica preponderante a proteinúria e a hematúria.

A PTT tem como principal mecanismo a deficiência ou inibição da protease de clivagem do fator de von Willebrand (ADAMTS13) essa deficiência ocasiona a presença de polímeros na microvasculatura e trombos ricos em plaquetas.³ Essa deficiência de ADAMTS13 pode ser congênita, secundária à mutação do gene dessa enzima ou mais comumente devido à presença de autoanticorpos circulantes antiADAMTS13.^{3,4} A PTT tem outros mecanismos envolvidos na origem da doença que incluem lesão endotelial por imunocomplexos, anticorpos, toxinas ou diretamente por microrganismos, pode ser por predisposição genética, deficiência de substâncias antiagregantes como a prostaciclina e a diminuição da produção de óxido nítrico.^{5,6} Assim que realizado o diagnóstico de PTT de qualquer etiologia, o tratamento mais

comumente utilizado é a plasmaférese que consiste na retirada do plasma do paciente e infusão de plasma fresco congelado (PFC) ou de sobrenadante do crioprecipitado que contém a ADAMTS13. Em poucas horas após este tratamento a melhora clínica já é significativa. Em situações onde a plasmaférese não está disponível, deve-se iniciar a terapia com corticosteroides visando a redução da produtividade de anticorpos antiplaquetários.¹

FATOR DE VON WILLEBRAND E SUA RELAÇÃO COM ADAMTS13

O Fator de Von Willebrand é uma glicoproteína multimérica de alto peso molecular, sua produção ocorre nas células endoteliais e nos megacariócitos, presente no plasma e nas plaquetas respectivamente. O FVW é armazenado nos grânulos alfa dos megacariócitos e das plaquetas, e nos corpos de Weibel-Palade das células endoteliais de onde é secretado no plasma. As duas principais funções do FVW são as seguintes: (1) ligar-se ao colágeno presente no subendotélio e nas plaquetas, formando-se assim o tampão plaquetário no local da lesão endotelial; e (2) ligar e transportar o fator VIII (FVIII), protegendo-o da degradação proteolítica no plasma. O FVW liga-se às plaquetas por meio da glicoproteína plaquetária (Gp) Ib – GpIb (adesão plaquetária). Os multímeros de alto peso molecular ligam-se a GpIb com maior afinidade que os de baixo peso molecular. Após a ativação plaquetária, uma outra glicoproteína plaquetária, a GpIIb/IIIa, também se liga ao FVW permitindo a aderência das plaquetas entre si (agregação plaquetária). A estrutura modular do FVW permite que ele tenha diferentes funções, em geral associadas aos seus diferentes domínios: a Gp Ib liga-se ao domínio A1; no domínio C1 encontra-se a seqüência RGD (Arg-Gly-Asp), responsável pela

ligação do FVW à Gp IIb/IIIa; o fator VIII liga-se no domínio D' e D3; os sítios de ligação ao colágeno encontram-se nos domínios A1 e A3.⁷

Em condições normais, os multímeros do FVW são liberados da célula endotelial, esses fatores são clivados e removidos da circulação pela enzima ADAMTS13.¹ Nos corpos de Weibel-Palade o FVW e as moléculas de selectina P são produzidas, elas se fixam nas membranas das células endoteliais e na porção transmembranar, e os monômeros de FVW vão se dispondo em fileiras formando os gmFVW. A molécula ADAMTS13 liga-se a porção terminal do gmFVW e o cliva em unidades monoméricas.¹

FISIOPATOLOGIA DA PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA TROMBÓTICA

Em 1982 a fisiopatologia da PTT foi esclarecida. Foi proposto que na PTT as células endoteliais liberavam gmFvW de forma irregular e havia deficiência de uma protease responsável por clivar esses multímeros. Os gmFvW no plasma formavam agregação plaquetária intravascular promovendo trombose microvascular e hemólise mecânica. Somente no ano de 2001, através de uma clonagem de genes e o sequenciamento dessas proteínas, foi identificada a protease que é responsável por clivar os multímeros de fator von Willebrand a já citada ADAMTS13.^{1,8}

A deficiência da ADAMTS13 é apontada como a principal causa de PTT.^{1,8} Baseando-se nessa deficiência, a PTT pode ser classificada como congênita ou adquirida. No caso da congênita ocorre ausência ou a redução da atividade de ADAMTS13, que é ocasionada pela mutação no gene desta protease⁹. Na maioria desses casos congênitos as primeiras crises agudas podem ocorrer nos primeiros anos de vida, ou a doença se comporta de forma assintomática até a juventude dos 20 aos 40 anos de idade. Com o primeiro episódio de formação dos microcoágulos da PTT aguda, os pacientes apresentam um quadro recidivante crônico. Os episódios recorrentes são

geralmente desencadeados por processos secundários, como gravidez e ingestão de álcool.⁸

A outra forma de apresentação da doença é a PTT Adquirida que é dividida nas formas imunomediadas onde observamos a presença de autoanticorpos anti ADAMTS13. Pode apresentar-se também na forma secundária a qual ocorre liberação exagerada de multímeros de fator von Willebrand (gmFVW) pelas células endoteliais e os baixos níveis da enzima ADAMTS13 não efetuam sua função adequadamente.^{1, 9, 10} Outro fator importante é que a ADAMTS13 é sintetizada pelas células de ito no fígado, diminuições de sua síntese podem ocorrer em quadros de insuficiência hepática.⁸ Outras condições clínicas associadas à PTT adquirida incluem os processos cancerígenos, transplantes de órgãos sólidos ou de células-tronco, pré-eclâmpsia, uso de drogas (ciclosporina, mitomicina e α -interferon), entre outras causas. Nessas situações, a deficiência de ADAMTS13 não é muito acentuada. Na maioria dos casos de PTT adquirida, ocorre um único episódio agudo esporádico. Mas há formas crônicas recorrentes 20% a 30% dos casos, nesses casos existe o envolvimento de um fator genético ou estão associadas à produção e/ou persistência de autoanticorpos anti- ADAMTS13.^{1,8}

DIAGNÓSTICO DA PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA TROMBÓTICA

O diagnóstico da PTT, em geral, é feito por exclusão de outras possíveis causas da trombocitopenia. O diagnóstico precoce da doença é de fundamental importância, pois o tratamento deve ser instituído prontamente de forma a diminuir a morbidade, evitar procedimentos invasivos, como a esplenectomia, e garantir uma melhor qualidade de vida aos portadores dessa doença.¹

No hemograma desses pacientes índices como RDW, VPM e PDW podem estar aumentados, a quantidade de plaquetas reticuladas está aumentada costumeiramente. Ao avaliar a distensão sanguínea observamos sinais de anemia hemolítica microangiopática que são os eritrócitos fragmentados e a policromasia, junto com a trombocitopenia e a anisocitose plaquetária. A presença de eritrócitos fragmentados acima de 1% deve ser

considerada altamente sugestiva de PTT. Entretanto, eles podem ser escassos nos primeiros dias de doença ou mesmo ausentes., de modo que, se houver suspeita consistente de PTT devem ser cuidadosamente pesquisados em hemogramas repetidos e deve ser feita a dosagem de ADAMTS13.

Nos exames laboratoriais os níveis da lactato desidrogenase (LDH) são usados como marcador da isquemia tecidual e hemólise e apresentam-se elevados. ^{2, 8,11} São encontrados níveis baixos de haptoglobina que tem a função de ligar-se a hemoglobina livre de eritrócitos que foram lisados, evitando seus efeitos tóxicos. Na PTT há grandes quantidades de hemoglobina livre devido à hemólise, com isso os níveis de haptoglobina se esgotam. A diminuição da haptoglobina é um marcador significativo de lise eritrocitária.^{8,12} O teste direto de Coombs é negativo. Tempo de protrombina e tempo de tromboplastina parcial ativada e fibrinogênio apresentam-se com resultados normais. ¹³

Com o passar dos anos foram desenvolvidos ensaios que são capazes de detectar a presença de inibidores enzimáticos e deficiências quantitativas e funcionais da enzima ADAMTS13. Esses ensaios diagnósticos devem revelar atividade de ADAMTS13, inibidor funcional baseado em estudos de mistura e/ou anti-ADAMTS13 IgG. A função desse painel é identificar corretamente os pacientes com PTT na maioria dos casos.^{14, 15} Em princípio o método deve avaliar a atividade da enzima ADAMTS13. Para isso há vários ensaios disponíveis, cujo princípio geral consiste em adicionar ao plasma citratado uma solução contendo o FvW (um substrato ou peptídeo pequeno de FvW) e subsequentemente clivá-lo com ADAMTS13. Essa clivagem do substrato aumenta sua fluorescência e a taxa de aumento é proporcional à concentração de ADAMTS13 ativa. Os produtos de clivagem podem ser detectados utilizando uma variedade de técnicas incluindo: de imunoensaio, eletroforese e transferência de energia de ressonância de fluorescência (ensaio FRET). ^{4, 8, 16} Os valores são expressos em porcentagem da atividade ADAMTS13 em plasma normal agrupado definido como 100% e calibrado de acordo com o novo padrão internacional da Organização Mundial da Saúde. Alguns testes visam evidenciar o mecanismo que causa a deficiência grave da ADAMTS13: ensaios para autoanticorpos ADAMTS13, ou para a busca de um inibidor da ADAMTS13. ^{8, 17}

O ensaio FREST-vWF73 é um teste referência que utiliza uma técnica de transferência de energia de ressonância de fluorescência detectando dessa forma a clivagem do peptídeo utilizado. É um teste comercial considerado simples, rápido e quantitativo, apresentando boa reprodutibilidade.⁸ Mas, os resultados nem sempre estão de acordo com aqueles obtidos por outras metodologias usando um multímeros de FvW como substrato.^{8,17}

Outro método considerado referência na quantificação de atividade da ADAMTS13 é a atividade de ligação do colágeno (CBA), porém, o FREST-vWF73 é ainda superior. O coeficiente de correlação relatado entre essas metodologias é de aproximadamente 0,80 ou 0,83 para avaliar amostras clínicas.⁸ Com isso a interpretação dos resultados do teste exige conhecimento do método que está sendo utilizado e do quadro clínico do paciente.^{8,17}

Já as pesquisas de autoanticorpos anti ADAMTS13 são realizados por ensaios imunoenzimáticos (ELISA), Western blotting.⁸ Quase em sua totalidade os pacientes com PTT adquirida possuem esses autoanticorpos já a deficiência grave de ADAMTS13 sem anticorpos anti ADAMTS13 é fortemente associado a forma congênita da doença, o que pode ser confirmado por testes de sequenciamento do gene ADAMTS13.¹⁷

Durante o tratamento as medições da ADAMTS-13 em intervalos regulares e durante a remissão da doença fornecem dados sobre o risco de recidiva e persistência da atividade da doença subclínica.⁸

TRATAMENTO DA PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA TROMBÓTICA

Com a confirmação diagnóstica da PTT independente da etiologia, o tratamento mais usado e que apresenta os melhores resultados é a troca do plasma, que é denominado plasmaférese, ele visa eliminar da circulação os gmFvW e ocorre nesse processo a infusão de plasma fresco congelado (PFC) ou do sobrenadante do crioprecipitado que é rico em ADAMTS13. Com esse tratamento a melhora clínica tem se mostrado muito relevante. Em casos onde a plasmaférese não pode ser realizada a alternativa terapêutica passa a ser a administração de corticosteroides, esse tratamento tem como objetivo a redução da produção de anticorpos antiplaquetários. A plasmaférese realizada empiricamente é preconizada como tratamento primário para PTT idiopática e

tem apresentado resultados de redução da mortalidade aguda de mais de 90% para menos de 20%.¹ Na apresentação aguda da PTT a plasmaférese deve ser realizada diariamente, substituindo o plasma do paciente por PFC. A monitorização deve ser feita diariamente pelos valores de hemoglobina, plaquetas, LDH e de creatinina e a presença de esquizócitos também deve ser observada, além da regressão dos sintomas neurológicos. São necessárias sessões recorrentes de plasmaférese, em um período médio de dez dias. Esses procedimentos não podem ser interrompidos antes que se estabeleça uma remissão estável, com normalização da contagem de plaquetas e dos níveis de hemoglobina e de LDH, por pelo menos três dias consecutivos. Em casos de interrupção precoce do tratamento existe a possibilidade de recorrência da doença em cerca de 40% a 50% dos pacientes.¹

Doses altas de corticosteroides (prednisona 2 mg/kg/dia) tem sido recomendado, em conjunto com a plasmaferese, visando a redução dos títulos dos autoanticorpos. Com objetivo de reduzir a mortalidade e morbidade da PTT, vários protocolos terapêuticos têm sido colocados em prática incluindo a administração de vincristina, imunoglobulina intravenosa, prostaciclina, ciclosporina a esplenectomia tem sido realizada, além da quimioterapia com diversas drogas e até mesmo o transplante de medula óssea, porém, a efetividade desses tratamentos tem se mostrado variável. O uso de vincristina melhorou a contagem de plaquetas, mas não alterou o nível do anticorpo inibidor.¹

Mesmo com a associação da plasmaférese e de corticosteroides sendo o tratamento prioritário da PTT, e tenha obtido melhora significativa da sobrevida destes pacientes, alguns portadores da patologia não apresentam uma boa resposta ao tratamento PTT refratária que consiste em trombocitopenia persistente que é caracterizada por contagem de plaquetas inferior a 150.000/mm³ ou elevação do LDH após um total de sete sessões de plasmaférese.¹

Os pacientes refratários apresentam alta taxa de mortalidade quando tratados de forma usual, com isso, o transplante de células-tronco poderá constituir uma alternativa eficaz, apesar da dificuldade e custo deste procedimento. A esplenectomia tem sido realizada em pacientes refratários aos tratamentos

usuais e parece melhorar a resposta à plasmaférese subsequente, bem como reduz a taxa de recaída.^{1,19}

Nesses pacientes refratários ao tratamento, a administração precoce de rituximabe que é um anticorpo monoclonal contra CD20, que é expresso em células B humanas, e que rapidamente retira essas células da circulação quando associado à plasmaférese com reposição de plasma do crioprecipitado, é eficaz para induzir a remissão completa da doença.¹

A maior taxa de mortalidade está ligada a pacientes refratários ao tratamento com plasmaférese, devido a isso, quanto mais rápido o diagnóstico e quanto mais precoce se iniciar o tratamento maior a probabilidade de remissão da doença.

CONCLUSÃO

A PTT tem se tornado o foco de muitas pesquisas devido à sua fisiopatologia que é algo muito complexo, a sua taxa de mortalidade e o alto risco de recidivas tem tornado a doença alvo desses estudos. Podemos citar como divisor de águas para o diagnóstico da PTT a descoberta da ADAMTS13 assim destacamos uma melhor compreensão da fisiopatologia da doença. Outro fato importante é que o laboratório clínico mostrou-se fundamental no auxílio diagnóstico da PTT, pesquisas da tão importante ADAMTS13 realizada em um número limitado de laboratórios é fundamental, mas exames clássicos como hemograma, contagem de plaquetas, testes bioquímicos como creatinina e LDH mostram-se de muita importância tanto na ajuda de um diagnóstico mais preciso como acompanhamento durante o período de tratamento. O profissional deve estar capacitado para identificar alterações morfológicas no hemograma para relata-las em seus laudos, equipamentos devem estar preparados e sob rigoroso controle de qualidade para liberação de resultados precisos. Além disso, o corpo clínico deve estar capacitado para a identificação dos sinais clínicos e alterações laboratoriais para diagnosticar o mais precoce possível a doença e iniciar o tratamento.

Observamos também que o tratamento por plasmaférese tem sido o mais comumente utilizado, a melhora foi significativa em casos de diagnóstico rápido, porém quando ele ocorre de forma mais lenta a efetividade é menor,

com isso tratamentos alternativos estão sendo produzidos e testados, mas a eficácia acaba sendo questionável pois as variações e possibilidades de testes são reduzidas.

REFERÊNCIAS

1. TONACO, L. C. et al. Púrpura trombocitopênica trombótica: o papel do fator von Willebrand e da ADAMTS13. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, São Paulo, v. 32, n. 2, p. 155-161, may 2010.
2. BÁRBARA BAIN: *Células Sanguíneas: um guia prático*, Editora Arimed, 2016; 5a edição.
3. MOAKE, J. L. et al. Unusually large plasma factor VIII: von Willebrand factor multimers in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *The New England Journal of Medicine*, Boston, v. 307, n. 23, p. 1432-1435, dec. 1982. Doi: 10.1056/NEJM198212023072306
4. ZHENG, X. et al. Structure of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13), a metalloprotease involved in thrombotic thrombocytopenic purpura. *The Journal of Biological Chemistry*, Baltimore, v. 276, n. 44, p. 41059-41063, nov. 2001. Doi: 10.1074/jbc.C100515200
5. FURLAN M. et al. Von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. *The New England Journal of Medicine*, Boston, v. 339, n. 22, p. 1578-1584, nov. 1998. Doi: 10.1056/NEJM199811263392202.
6. TSAI, H. M.; LIAN, E. Antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. *The New England Journal of Medicine*, Boston, v. 339, n. 22, p. 1585-1594, nov. 1998. Doi:10.1056/NEJM199811263392203
7. http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_tratamento_willebrand.pdf -- Acesso realizado 05/11/2020.

8. ROSA, A. P.; SILVA, M. A. B; DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA TROMBÓTICA: UMA REVISÃO. Maio 2019.
9. KILERCİK, M; COSKUN, A; SERTESER, M; INAN, D; UNSAL, I. Biological variations of ADAMTS13 and von Willebrand factor in human adults. *Biochemia Medica*, vol. 24, no.1, p-138-145, 2014.
10. KISS, J.E. Thrombotic thrombocytopenic purpura: recognition and management. *International Journal of Hematology*, vol.91, no.1, p. 36-45, 2010.
11. RUBIA, J de la; CONTRERAS, E; GARMA, J. del. R. Púrpura Trombótica Trombocitopénica. *Medicina Clinica (Barc)*, vol. 136, no. 12, p 534–540, 2011.
12. SHIH, A.W.Y; MCFARLANE, A; VERHOVSEK, M. Haptoglobin testing in hemolysis: Measurement and interpretation. *American Journal of Hematology*, vol. 89, no. 4, 2014
13. POLITO, M.G; KIRSZTAJN, G.M. Microangiopatias trombóticas: púrpura trombocitopênica trombótica e síndrome hemolítico-urêmica. *J. Bras. Nefrol*, vol.32, no. 3, p. 303-315, 2010.
14. LANSIGAN, F; ISUFI, I; TAGOE C. E. Microangiopathic haemolytic anaemia resembling thrombotic thrombocytopenic purpura in systemic lupus erythematosus: the role of ADAMTS13. *Rheumatology*, Vol.50, no.5, p.824–829, 2011
15. SCULLY, M; CATALAND, S; COPPO, P; RUBIA, J. de la; FRIEDMAN, K.D; HOVINGA, J.K; LÄMMLE, B; MATSUMOTO, M; PAVENSKI, K; SADLER, E; SARODE, R; WU, H. Consensus on the standardization of terminology in thrombotic thrombocytopenic purpura and related thrombotic microangiopathies. *Journal of thrombosis and haemostasis*, vol. 15, no.2, p- 312-322, 2016.
16. SADLER, J.E. What's new in the diagnosis and pathophysiology of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program*, vol. 2015, no. 1, p. 631–636, 2016.
17. JOLY, B.S; COPPO, P; VEYRADIER, A. Thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood Journal*, vol. 129, no.21, p.2836-2846, 2016.

18. BOMBLERY, P; SCULLY, M. Management of thrombotic thrombocytopenic purpura: current perspectives. *Journal of Blood Medicine*, vol.5, no.2014, p. 15-23, 2014.
19. Fakhouri F, Vernant JP, Veyradier A, Wolf M, Kaplanski G, Binaut R, et al. Efficiency of curative and prophylactic treatment with rituximab in ADAMTS13-deficient thrombotic thrombocytopenic purpura: a study of 11 cases. *Blood*. 2005;106(6):1932-7