

## Hemoglobinúria Paroxística Noturna - Principais Aspectos

Ana Elisa da Silva Nazário Neves<sup>1</sup>

### Resumo:

A Hemoglobinúria Paroxística Noturna é uma doença rara. Uma mutação somática atinge a célula tronco hematopoiética, especificamente no gene PIG-A, que se localiza no cromossomo X. Em consequência, há uma deficiência na formação de uma proteína conhecida como GPI (Glicosil Fosfatidil Inositol), que é uma proteína de membrana responsável por ancorar outras proteínas na superfície das células da linhagem hematopoiética.<sup>1</sup>

Por faltar essa âncora, moléculas importantes que deveriam estar na superfície da membrana estão ausentes, como é o caso dos antígenos que protegem as células da ação citolítica do Sistema Complemento, o CD55 e CD59.<sup>2,3</sup>

O paciente clássico apresenta sinais óbvios de hematúria, pois as hemácias sofrem constante processo de destruição liberando quantidades exacerbadas de hemoglobina na urina, o que a torna com coloração escura. Apresentam alto risco de trombose pela ativação plaquetária elevada e os leucócitos são ativados, liberando diversas citocinas inflamatórias. O quadro é, em geral, de anemia, citopenias, fadiga, problemas renais, dentre outros, dependendo da história e da evolução do paciente<sup>13</sup>. O diagnóstico pode envolver diversos testes, sendo, hoje, a citometria de fluxo o mais indicado<sup>4</sup>.

O tratamento envolve uso de medicamentos que evitem a hemólise e a grande ativação dos leucócitos, prevenção de trombose e cuidados com anemia<sup>5</sup>.

**Palavras-chave:** Hematúria; Linhagem hematopoiética; GPI; Sistema Complemento.

## 1 INTRODUÇÃO

A Hemoglobinúria Paroxística Noturna (HPN) é uma doença clonal da célula tronco hematopoiética. Clinicamente se apresenta como anemia hemolítica crônica adquirida e rara, e na maioria das vezes, está associada a outras doenças hematológicas, como Síndromes Mielodisplásicas e Anemia Aplásica.<sup>5,6</sup>

A HPN decorre de uma mutação somática do gene PIG-A (Glicosilfosfatidil Inositol Classe A) localizado no cromossomo X, que leva à deficiência na síntese da proteína GPI (Glicosil Fosfatidil Inositol), a qual é responsável por ancorar proteínas na superfície da membrana celular de eritrócitos, leucócitos e plaquetas. Com isso, diversas proteínas estão ausentes nas células provenientes dos clones com esse defeito, dentre elas o CD55 e o CD59, que garantem proteção contra o Sistema Complemento (SC), logo, sem esses antígenos, as células estão em risco.<sup>6,7</sup>

É possível encontrar hemoglobina na urina, devido à lise que as hemácias são submetidas por não apresentarem proteção. Esse sinal já caracterizava a doença desde a sua primeira descrição como síndrome clínica, na segunda metade do século XIX, por Paul Strubing, o que justifica o termo hemoglobinúria, onde a primeira urina da manhã se apresenta com coloração escurecida.<sup>8</sup> Assim, a anemia é uma das consequências mais notáveis em relação aos eritrócitos. Os leucócitos e plaquetas sofrem estímulo de ativação pelo SC, gerando, processos inflamatórios, e eventos de trombose, respectivamente. Logo, apesar do nome da doença sugerir

---

<sup>1</sup> Pós-graduanda da Especialização lato sensu em Hematologia e Banco de Sangue da Academia de Ciência e Tecnologia – AC&T.

que somente as hemácias são afetadas todas as três linhagens são atingidas de forma diferente pela ação do SC.<sup>5</sup>

O melhor diagnóstico descrito e utilizado até hoje, por ser mais sensível e específico, é a citometria de fluxo, que é capaz de determinar a presença das proteínas ancoradas ao GPI de qualquer uma das linhagens hematológicas, associado à clínica do paciente e outros testes laboratoriais.<sup>4</sup>

O tratamento varia conforme a clínica do paciente, o que pode envolver a prevenção de trombose, transfusão sanguínea para tratamento da anemia, imunossupressores, transplante de medula óssea alogênico e recentemente, a terapia com o anticorpo monoclonal, Eculizumab, tem trazidos relevante diminuição nos processos de hemólise<sup>1</sup>.

Por ser rara e de difícil diagnóstico, sua incidência não é completamente conhecida, mas atinge por volta de 1,3 casos por milhão de habitantes por ano e é predominante em adultos. A sobrevida gira em torno de 10 a 15 anos após o diagnóstico, contudo, outros pacientes sobrevivem por maior período.<sup>1</sup> Homens e mulheres são atingidos de forma igual; crianças e adolescentes são pouco afetados.

## 2 FISIOPATOLOGIA

Uma mutação adquirida em um ou mais clones da célula tronco hematopoiética, no gene da fosfatidilinositolglicana classe A (PIG-A), que está localizado no braço curto do cromossomo X (Xp22.1) leva ao desenvolvimento da HPN. Este gene é responsável pela síntese de uma proteína que participa da formação da glicosil-fosfatidil-inositol (GPI), que é uma proteína de membrana responsável por ancorar antígenos, e proteínas na superfície das hemácias, leucócitos e plaquetas.<sup>8</sup>

Foram descobertas mais de 100 mutações que envolvem pequenas inserções ou deleções, no gene PIG-A, resultando em uma produção nula da proteína GPI, ou em outros casos de mutação, uma proteína parcialmente funcional. Os clones mutados resultam linhagens inteiras deficientes, e revelam na medula óssea e no sangue periférico células sanguíneas que não expressam diversas proteínas de superfície que necessitam se ancorar na molécula GPI.<sup>7</sup> A consequência mais severa dessa mutação é a exposição dessas células à lise mediada pelo Sistema Complemento (SC) pela falta de, principalmente, dois antígenos específicos, conhecidos como CD55 e CD59.<sup>9</sup>

O SC pertence ao Sistema Imune e é composto por diversas proteínas produzidas no fígado e que podem ser encontradas na corrente sanguínea e em diversos tecidos. Ele atua na proteção contra invasores estranhos ao organismo através de sequências de ativações enzimáticas, e gera produtos com atividade pró-inflamatórias tendo por finalidade destruir o agente invasor com ações citolíticas.<sup>10</sup>

O CD55 (DFA- Fator Acelerador da Degradação do Complemento) é um antígeno de superfície celular dependente de ser ancorado ao GPI, e é de fundamental importância para que a ação de defesa do organismo seja eficiente. Age degradando a C3-convertase presente no soro, pois esta enzima quebra a molécula C3 e a transforma em C3a e C3b dando continuidade à cascata de ativações do SC, que prossegue até que o processo de lise na membrana celular do corpo estranho aconteça. A Via Alternativa mantém uma ativação em níveis baixos dessa enzima, o que garante no soro uma quantidade de C3-convertase constante. Refere-se a isso a cronicidade da hemólise.<sup>1,8</sup>

O CD59 (MIRL- Inibidor da Lise Reativa de Membrana) é, também, dependente da âncora GPI, sendo o antígeno mais importante na defesa contra o complemento, pois ele protege a célula contra o complexo de ataque à membrana.<sup>6,11</sup>

### 3 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Como já descrito, devido à sensibilidade das células hematopoiéticas ao complemento, as hemácias são lisadas e produzem sinais e sintomas significativos no quadro clínico do paciente, um desses sinais é a urina escurecida. Esse fato deve-se à hemólise intravascular crônica, dessa maneira, essas hemácias destruídas são liberadas na urina, deixando-a com coloração marrom-escura. Esses eventos são chamados de paroxísticos, pois as ativações ocorrem acima do normal, de forma exarcebada.<sup>12</sup>

Pesquisadores acreditam que durante o sono há maior absorção de endotoxinas pelo intestino que são responsáveis por ativar o complemento, o que resulta na primeira urina da manhã com o sinal de hematúria, entretanto já é de conhecimento que a destruição das hemácias acontece durante todo o dia, e que diante de processos inflamatórios a ação do SC é intensificada. Outro fator proeminente é a anemia, tornando-se, portanto, um marcador laboratorial significativo diante da perda intensa de hemácias. Dependendo do grau de hemólise o paciente apresenta-se fadigado e com palidez.<sup>12</sup>

Faz-se necessário ressaltar que uma grande quantidade de hemoglobina livre e ferro são liberados com essa destruição celular. A haptoglobina é uma molécula responsável por retirar a hemoglobina livre no soro, porém, frente à maciça destruição de eritrócitos sua capacidade é esgotada. Portanto, outra complicação decorre disso: a hemoglobina tem uma forte afinidade ao óxido nítrico (NO), que age mantendo o tônus muscular da parede dos vasos sanguíneos e também evita a ativação e agregação plaquetária. Com a depleção do NO, o paciente desenvolve uma intensa fadiga, consequência de uma baixa tonicidade dos vasos onde a pressão sanguínea é comprometida, podendo desencadear espasmos musculares, hipertensão pulmonar, dores no peito, dores abdominais, disfagia, impotência sexual masculina e, além disso, induz a fenômenos de trombose.<sup>5</sup>

A função renal é igualmente prejudicada pela destruição dos glóbulos vermelhos. O ferro livre no sangue se deposita nos rins como hemossiderina, prejudicando a atividade renal. Pacientes podem desenvolver doença renal crônica com distúrbios de volume urinário, pressão glomerular baixa, desidratação, dentre outras manifestações. Dessa maneira o quadro pode evoluir para Insuficiência Renal Aguda mediante a necrose dos túbulos renais, podendo ser uma das causas de mortalidade na HPN.<sup>13</sup>

Pacientes com HPN tem maiores riscos de trombose, estudos indicam que esse fato, na maioria dos casos está diretamente proporcional ao tamanho dos clones. Os eventos trombóticos acontecem com maior frequência em veias e raramente é encontrado um trombo arterial. Veias hepáticas são comumente atingidas gerando hepatomegalia, dor intensa, ascite, dentre outros sintomas; as veias mesentéricas, porta, esplênicas também são locais de importantes casos de trombofilia, porém, em alguns casos é possível ocorrer trombose cerebral, abdominal e até na superfície corporal, comprometendo o fluxo sanguíneo da pele.<sup>12</sup>

A relação entre a trombose e a HPN ainda não é completamente esclarecida, contudo há algumas explicações que justificam tal acontecimento. Um deles é o

aumento de fatores procoagulantes. A intensa destruição celular leva à exposição de fatores internos da membrana plasmática, bem como sua degradação, gerando pequenas vesículas chamadas de micropartículas, que atraem enzimas procoagulantes que catalisam a coagulação.<sup>14</sup>

Como mencionado acima, com a lise dos eritrócitos há liberação de hemoglobina livre e arginina no plasma. A arginina é utilizada para formar NO, e a hemoglobina livre se liga a ele formando nitrato e metahemoglobina. Sendo o NO responsável pela inibição da ativação plaquetária, a sua ausência no plasma leva ao aumento dos riscos trombóticos.<sup>14</sup>

Mais uma justificativa está na ausência do Receptor do Ativador de Plasminogênio Uruquinase (u-PAR), em leucócitos e plaquetas. Esse receptor age transformando o plasminogênio em plasmina favorecendo a fibrinólise, entretanto ele depende de estar ancorado à molécula de GPI que nessa patologia não está presente.<sup>9</sup>

É importante ressaltar que além das manifestações clínicas descritas há outra forma de manifestação, que é associada a outras doenças, como Anemia Aplásica (AA) e Síndrome Mielodisplásica (SMD). Nos dois casos é possível a detecção de clones da HPN; estudos demonstram que na AA esses clones apresentam-se até 70% enquanto na SMD essa população é por volta de 8 a 18%.<sup>11</sup>

### 3 CLASSIFICAÇÃO DA HPN

Tabela 1. Classificação da HPN

TIPO	MANIFESTAÇÕES
Clássica	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Anemia hemolítica intravascular evidente;</li> <li>• Hemoglobinúria;</li> <li>• Grande população de clones;</li> <li>• Citopenia: leve à moderada</li> <li>• Trombose frequente</li> </ul>
Associada a outro transtorno	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Presença de hemólise;</li> <li>• Associação com alguma Síndrome de Falência Medular, como AA;</li> <li>• Anormalidade Medular (hipoplasia, aplasia, etc.)</li> <li>• Variável tamanho do clone;</li> <li>• Raros casos de trombose</li> </ul>
Subclínica	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Em geral, sem evidências de hemólises;</li> <li>• Pequenos Clones;</li> <li>• Insuficiência de medula óssea;</li> <li>• Pancitopenia;</li> <li>• Ausência de trombose</li> </ul>

Fonte<sup>11</sup> / Elaborada pela autora

## 4 DIAGNÓSTICO

Alguns testes são utilizados na busca do diagnóstico para HPN, dentre eles, encontram-se o teste de Ham e o teste da sacarose.<sup>4</sup>

O teste de Ham busca hemácias sensíveis ao complemento, dessa forma, baseia-se em expor hemácias da HPN a um soro com pH acidificado (por volta de 6,2), assim elas sofrem hemólise. Esse teste é bem específico, mas pouco sensível, pois em casos de pequenas populações não há resultado positivo.<sup>15</sup>

Já o teste da sacarose também se fundamenta no princípio de ativação do complemento. O soro do paciente é adicionado a uma solução isotônica de sacarose provocando agregação de globulinas séricas que fixam o complemento e consequentemente lisam os eritrócitos HPN. É um teste bem sensível e pouco específico e o resultado é positivo quando a hemólise apresenta-se superior a 5%.

É preciso ter cuidado com pacientes transfundidos, pois os resultados desses dois testes serão falso-negativos.<sup>1</sup>

A Citometria de Fluxo é considerada hoje, como o melhor teste diagnóstico para determinação de HPN. Por ser de altíssima sensibilidade e especificidade, essa tecnologia demonstra diversos pontos que a faz ser o diagnóstico padrão. Alguns desses pontos são: o fato de poder avaliar todas as linhagens- plaquetas, leucócitos e eritrócitos; avalia o tamanho do clone e quantifica as células GPI-deficientes.<sup>11</sup>

Esse recurso de diagnóstico utiliza anticorpos monoclonais específicos para CD55 e CD59, onde apenas com esses dois marcadores é possível se obter um diagnóstico, contudo anticorpos como o CD24, CD66, CD48, dentre outros podem ser utilizados também.<sup>9</sup>

Exames paralelos podem ser realizados para auxiliar no fechamento do diagnóstico e no acompanhamento do paciente, bem como a evolução da doença. O hemograma é um dos testes extremamente importantes e que demonstram, em geral: anemia, leucopenia, trombocitopenia, reticulocitose. Testes de dosagem de haptoglobina, bilirrubina indireta, dosagem da enzima desidrogenase láctica (apresenta-se com dosagens muito altas em crises hemolíticas), dosagem de creatinina, proteinúria, e testes para monitoramento da trombose.<sup>8</sup>

## 5 TRATAMENTO

A terapêutica é baseada no desenvolvimento das manifestações clínicas do paciente. Em geral é importante prevenir os processos de hemólise; controlar a anemia e as citopenias; e prevenir trombose.<sup>5</sup>

A anemia pode ser contida com o uso de drogas corticosteroides que diminuem a hemólise inibindo a ação do complemento e com a administração de ferro e folatos. Outra maneira é a transfusão de glóbulos vermelhos, que elevam as concentrações de hemoglobina podendo até evitar os processos hemolíticos, porém, é importante ter um cuidado com pacientes com muitas transfusões pelo excesso de ferro. Em alguns casos é necessária a utilização de quelantes.<sup>8</sup>

Prevenir a trombose é, também, uma ferramenta muito importante no tratamento, sendo assim o uso de anticoagulante é indispensável para os pacientes da HPN.<sup>5</sup>

O único tratamento curativo é o transplante de células-tronco hematopoiéticas alogênicas, contudo essa intervenção é utilizada com precaução para evitar a morbimortalidade associada à ela, além disso, o estado clínico do paciente precisa ser avaliado e ainda existe a dificuldade de encontrar doadores compatíveis.<sup>1</sup>

O Eculizumab é um anticorpo monoclonal humano muito eficaz no tratamento da HPN. Trata-se de uma droga capaz de se ligar à proteína C5 do SC evitando a formação do complexo de ataque à membrana. Dessa forma ele evita a hemólise e conseqüentemente a anemia, estabilizando os níveis de hemoglobina, o que também, previne excessivas transfusões. Ele também é responsável por diminuir processos trombóticos e otimizar a função renal. Apesar de ser uma ótima terapia ele não é capaz de curar a HPN pois não elimina o clone da medula como o transplante faz. Mas hoje em dia tem sido o melhor medicamento e mais eficiente em seus resultados.<sup>8</sup>

O prognóstico depende do desenvolvimento da doença, principalmente as avaliações dos eventos de trombose e a atividade medular.<sup>5</sup>

## 6 CONCLUSÃO

A HPN é uma doença rara e que precisa de muita atenção aos sinais para um diagnóstico precoce e eficiente. As manifestações de hematúria, eventos trombóticos sem razão, cansaço frequente, dentre outros sintomas necessita ser investigada. É preciso utilizar meios corretos de diagnóstico, como a citometria de fluxo para pesquisar a ausência de proteínas de membrana.

O desenvolvimento da doença pode ser controlado ou até interrompido por tratamentos eficazes. A cura só é possível através de transplante. Em geral, os pacientes apresentam uma média de sobrevida em torno de 10 a 15 anos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Rodrigues BMT. Fisiopatologia, Diagnóstico e Novas Terapêuticas da Hemoglobinúria Paroxística Noturna. ICAS-UP, 2010/2011.
- 2- Nomura ML, et al. Hemoglobinúria Paroxística Noturna e Gravidez. RBGO 26(7): 579-582, 2004.
- 3- Raza Azra, et al. A prospective multicenter study of paroxysmal nocturnal hemoglobinúria cells in patients with bone marrow failure. Cytometry Part B (Clinical Cytometry) 86B:175-182 (2014).
- 4- Modesto TM, et al. Importância e vantagem da citometria de fluxo frente aos testes de triagem no diagnóstico da hemoglobinúria paroxística noturna. Rev. bras. Hematol. Hemoter. 2006;28(4): 275-279
- 5- Vivek RS. Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: Pathogenesis, Testing, and Diagnosis. University of Louisville School of Medicine Louisville, Kentucky. Volume 11, Issue 9, Supplement 13
- 6- Arruda MMAS, et al. Hemoglobinúria Paroxística Noturna: da fisiopatologia ao tratamento. Rev Assoc Med Bras 2010; 56(2): 214-21.
- 7- Shen Wenyi, et al. Deep sequencing reveals stepwise mutation acquisition in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. The journal of clinical investigation, 2014; 124(10):4529-4538.
- 8- Azambuja AP. Características Clínicas e Laboratoriais de Pacientes que Apresentam Clone de Hemoglobinúria Paroxística Noturna Detectado por Citometria de Fluxo. Dissertação. Departamento de Clínica Médica do Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
- 9- Pérez IM, et al. Revista Cubana Hematología, Inmunología y Hemoterapia. 2013; 29(3) : 218-232
- 10- Iturry-Yamamoto GR, et AL. Sistema Complemento: Ativação, Regulação e Deficiências Congênitas e Adquiridas. Rev Ass Med Brasil 2001; 47(1):41-51.
- 11- Souza CER. Diagnóstico de Hemoglobinúria Paroxística Noturna, por citometria de fluxo, em pacientes atendidos na Fundação Hemopa. Pré-Projeto de Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Pará.
- 12- Zago MA, et al. Hematologia: fundamentos e prática/editores 01-6650
- 13- Matos CJ, Araújo RI, Bulbol SW. Insuficiência Renal Aguda na Hemoglobinúria Paroxística Noturna. Relato de Caso. Revista do Hospital Universitário Getúlio Vargas v.9. n. 1-2 jan/dez. – 2010
- 14- Van Bijen STA, et al. Mechanism and Clinical implications of thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 10:1-10
- 15- Krauss JS. Laboratory Diagnosis of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. Annals of Clinical & Laboratory Science, vol. 33, no 4, 2003.