

ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
São José do Rio Preto – SP

HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA

ALUNA: GLAUCIELLI JUSTEN GARCETE
Dourados, MS
TURMA DE HEMATOLOGIA E BANCO DE SANGUE - 2011

HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA

Hemoglobinúria paroxística noturna (HPN) é uma doença rara causada por defeito mutacional clonal das células-tronco hematopoéticas, caracterizada por anemia hemolítica, trombose e pancitopenia. A destruição dos eritrócitos e granulócitos são feitas pelo sistema complemento, ativado devido à ausência do CD 55 e CD 59 na superfície celular.

Seu quadro clínico, extensamente variado, cursa com infecções recorrentes, neutropenia, trombocitopenia, trombozes venosas variadas, podendo surgir em associação com falências medulares, como anemia aplástica, síndrome de insuficiência medular e síndromes mielodisplásicas.

A hemoglobinúria se deve a hemólise, ocorrida durante o dia todo, mas só é observada na primeira urina da manhã, concentrada durante o período noturno. Afeta igualmente homens e mulheres e é mais comum no adulto jovem, porém pode ocorrer em qualquer idade. Não foi observada predisposição familiar. A média de sobrevida dos pacientes é estimada entre 10 a 15 anos. A causa mais freqüente de mortalidade é a trombose, com *predileção pelas veias abdominais*. Entretanto, cerca de 10 a 15% dos pacientes apresentam remissão espontânea, que pode ocorrer após anos de doença.

No passado, a terapia era restrita ao tratamento e prevenção das complicações, por exemplo, com transfusões sanguíneas para tratar anemia, anticoagulantes para prevenir a trombose e imunossupressores para a falência medular. Hoje já está disponível um inibidor de proteínas do complemento, que parece ser um tratamento mais eficaz, já que diminui os episódios de hemólise. A cura só é possível com o transplante de medula óssea.

O diagnóstico laboratorial é feito com base no teste de Ham, imunofenotipagem por citometria de fluxo e biologia molecular.

OBJETIVO: revisão bibliográfica com ênfase na fisiopatologia, diagnóstico laboratorial e alterações hematológicas e bioquímicas importantes na HPN.

Palavras chaves: HPN; anemia hemolítica; diagnóstico laboratorial.

FISIOPATOLOGIA

HPN é causada por um clone de células hematopoéticas que adquiriram uma ou mais mutações somáticas no gene PIG-A (fosfatidil-inositol-glicana classe-A) localizado no braço curto do cromossomo X. Esse gene é responsável pela síntese da proteína GPI (glicosil fosfatidil inositol), âncora de vários antígenos de superfície, dentre eles os reguladores do sistema complemento CD55 (DAF: decay accelerating factor) e CD59 (MIRL: membrane inhibitor of reactive lysis). A síntese deficitária da GPI ocasiona um decréscimo na expressão dos antígenos ancorados por ela na superfície celular, deixando a célula suscetível à ação lítica do sistema complemento. O grau de deficiência de GPI nas células advindas do clone HPN pode ser parcial, com 10% de expressão normal na HPN tipo II, ou total na HPN tipo III, onde há ausência completa da GPI.

As células da HPN são vulneráveis às três vias de ativação do sistema complemento – via clássica, via alternativa e via da lecitina – pois todas resultam na geração de complexos C3-convertase, que quebram C3 em C3a e C3b.

O CD 55 participa do controle da ativação do complemento na superfície da célula ao acelerar a taxa de destruição de C3-convertase (C4b-C2a) ligada à membrana,

diminuindo assim a dissociação de C3 em C3a e C3b. Sua deficiência por si só não justifica o quadro clínico de hemólise mediada pelo complemento.

Já o CD 59 é uma glicoproteína que interage com o complexo de ataque a membrana, também chamado complemento terminal (C5b-9), e impede a conjugação das várias moléculas de C9 que formariam o poro lítico na superfície celular. Dentre as duas proteínas, o CD59 tem maior importância na proteção contra a lise celular mediada por complemento.

Sendo assim, a hemólise na HPN resulta de uma maior susceptibilidade dos eritrócitos, provindos de um clone mutado, pela diminuição ou ausência completa das proteínas reguladoras na superfície celular.

A hemólise intravascular libera no plasma grande quantidade de hemoglobina, que é captada pela haptoglobina. As duas formam um complexo - haptoglobina-hemoglobina – que impede a excreção renal da hemoglobina plasmática. Em surtos hemolíticos a haptoglobina não é suficiente para captar toda a hemoglobina, deixando-a livre no plasma para se ligar ao óxido nítrico, por quem tem alta afinidade, ou ser oxidada a hematina. A hemólise também libera arginase eritrocitária, uma enzima que consome a arginina, substrato para a produção de óxido nítrico (NO). O óxido nítrico produzido pelas células endoteliais tem um papel essencial em diversos processos biológicos, dentre eles o controle da função plaquetária e relaxamento dos vasos sanguíneos. O NO difundido na corrente sanguínea adentra as plaquetas justapostas à parede do vaso ou nas hemácias, promovendo a diminuição do cálcio livre através do aumento de GMP cíclico. Como o cálcio é necessário para a ativação plaquetária, esse processo estará inibido. Como conseqüências têm a vasoconstrição, hipertensão pulmonar e aumento da coagulabilidade.

As manifestações clínicas da depleção tecidual de NO são dor abdominal, astenia, espasmo esofágico, disfagia, impotência sexual masculina e possivelmente trombose.

Pouco se sabe sobre o mecanismo fisiopatológico da trombofilia. Evidências demonstram que os episódios tromboembólicos acompanham os surtos hemolíticos, sugerindo que a hemólise inicie a ativação e agregação plaquetárias. A ausência de outras proteínas também ancoradas pela GPI pode favorecer o aumento da incidência de trombose. Citam-se o receptor do ativador de plasminogênio uroquinase, cuja deficiência gera redução da fibrinólise local, e o inibidor da via do fator tecidual que, quando ausente, permite o aumento da atividade pró-coagulante deste fator.

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

A variabilidade das manifestações clínicas permite a classificação da HPN em subgrupos que incluem HPN hemolítica e HPN trombótica, outros se referem a HPN clássica e subclínica. Há ainda a HPN associada à alterações medulares, como a Anemia Aplástica (AA) e Síndromes Mielodisplásicas.

Pacientes com HPN estão sob risco aumentado de desenvolver anemia aplástica e aproximadamente 20 a 25% pacientes com diagnóstico para anemia aplástica são portadores de clones de HPN sem manifestações clínicas evidentes. A anemia aplástica é uma doença imunomediada provocada pela destruição ativa das células-tronco hematopoéticas por linfócitos T autorreativos. Há evidências de que células deficientes de proteínas ancoradas pela GPI são mais resistentes ao ataque dos linfócitos T e NK, o que daria ao clone HPN uma vantagem adaptativa quando ocorre destruição imunomediada de células-tronco normais.

Anemia e hemólise na HPN

Ocorre hematopoese ineficaz, hipoplasia medular e hemólise crônica. A hemólise crônica traz enormes prejuízos ao paciente e reduz sua qualidade de vida. Suas principais queixas são de letargia, astenia, mialgia difusa e perda de sensação de bem-estar. Durante os surtos de hemólise, ocorre hemoglobinúria, que pode vir acompanhada de sintomas gastrointestinais, náuseas, icterícia, dor abdominal (simulando abdome agudo), disfagia, espasmo esofágico, disfunção erétil masculina e piora da astenia. Como já foi citado anteriormente, existe correlação entre a hemólise e episódios tromboembólicos.

HPN e insuficiência renal

Infecções recorrentes no trato urinário, trombose de veias renais, tubulonecrose devido a deposição de compostos nefropáticos provenientes do grupo heme (hemossiderina) no parênquima renal são as principais causas de insuficiência renal em pacientes com HPN. A trombose de veias renais causa dor nos flancos e hematúria macroscópica. Já a tubulonecrose e insuficiência renal podem acontecer após episódios de hemólise intensa, onde ocorre hemoglobinúria, toxicidade do heme, diminuição da perfusão renal e obstrução tubular. A insuficiência renal nesses pacientes é crônica e ocorre após anos de hemoglobinúria, associada a glomerulonecrose, atrofia tubular, fibrose intersticial e infecções recorrentes no trato urinário, o último mais comum em mulheres.

Trombose em HPN

Pacientes com HPN tem maior propensão a desenvolver trombose venosa, particularmente em veias cerebrais, hepáticas, portais, mesentéricas, esplênicas e renais. Aproximadamente 40% dos pacientes com HPN apresentam episódios trombóticos venosos durante o curso da doença. Esta é a maior causa de morte nesses pacientes.

Tabela 1 – Principais manifestações clínicas da HPN

Hemólise intravascular
Anemia, hemoglobinúria, fadiga, insuficiência renal crônica, Infecções do trato urinário recorrentes, dor abdominal, espasmo esofágico, disfunção erétil, colelitíase.
Trombose
<u>Trombose Veias abdominais:</u> esplênica, mesentérica, portal, renal, Budd-Chiari Hipertensão portal, varises esofágicas, veias abdominais dilatadas
<u>Trombose em veias cerebrais:</u> Veias da retina, perda da visão
Embolia pulmonar, trombose de veias profundas.
<u>Raro:</u> infarto do miocárdio, trombose arterial, trombose de veias cutâneas.
Insuficiência medular
Anemia, infecções, síndrome mielodisplásica, dor nos ossos. <u>Raro:</u> transformação leucêmica para LMA (leucemia mielóide aguda)

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

O Teste de Coombs Direto é usado para descartar a hipótese de anemias hemolíticas auto-imunes. A partir de um resultado negativo para o Coombs Direto, começa-se a investigar outras causas para a hemólise intravascular.

Teste da hemolisina ácida (Teste de Ham), de fácil realização e baixo custo, avalia a hemólise de eritrócitos incubados em plasma levemente ácido (pH 6,2), condição que normalmente não gera hemólise, mas leva a ativação do complemento, que hemolisa células sensíveis. O mesmo pode ser feito utilizando a adição de sacarose, pois sua adição ao soro normal também ativa a via clássica do complemento. É mais sensível que o teste de Ham, mas é menos específico. O teste de Ham tem especificidade de 100%, mas ambos os teste têm baixa sensibilidade, podendo apresentar falso negativo em pacientes com pequena quantidade de clones alterados, que receberam transfusão de sangue ou que sofreram hemólise recente. Atualmente não são mais usados na triagem de HPN.

O teste da sensibilidade à lise por complemento é muito preciso, porém tem grande dificuldade técnica e não está disponível na maioria dos laboratórios. Consiste na adição crescente de quantidades conhecidas de complemento a um número conhecido de eritrócitos sensibilizados. A quantidade de complemento necessária para hemolisar 50% dos eritrócitos é usada como indicador da sensibilidade ao complemento. Este teste possibilitou a observação de duas populações em pacientes com HPN: HPN tipo III, com alta sensibilidade à lise por pequenas quantidades de complemento, e outra com pouco aumento da sensibilidade em relação a células normais (HPN tipo II).

Durante o diagnóstico, é importante fazer um mielograma a fim de verificar a presença de outra doença hematológica associada, como síndrome mielodisplásica (SMD) ou anemia aplástica (AA). Pacientes com diagnósticos confirmados de SMD ou AA devem ser testados para HPN subclínica, mesmo que não apresente de hemólise, pois há evidências de melhora terapêutica imunossupressora em pacientes com falência medular e clones HPN.

A citometria de fluxo avalia a expressão de proteínas ancoradas pela GPI com alta especificidade e sensibilidade. Esta tecnologia está amplamente disponível em laboratórios de imunohematologia, que a utilizam tanto na pesquisa como na clínica diária. Para diagnóstico são usados dois anticorpos monoclonais direcionados contra duas proteínas ancoradas pela GPI em pelo menos duas linhagens diferentes de células. Possui a vantagem de não sofrer interferência por transfusões recentes, pois avalia granulócitos e monócitos. A porcentagem de células deficientes em proteínas ancoradas pela GPI é reflexo direto do tamanho do clone HPN, e este resultado tem relevância clínica e prognóstica.

O estudo de mutações no gene PIG-A é feito utilizando técnicas de biologia molecular, mas somente é feito em caráter de pesquisa.

EXAMES DE ACOMPANHAMENTO

O hemograma apresenta-se com pancitopenia, reticulocitose e plaquetopenia. Na série vermelha aparecem macrócitos, policromasia e eritroblastos policromáticos. Ocorrer reticulocitose quando a medula está hiperclular e produzindo grande quantidade de células para repor as que foram perdidas na hemólise. Quando o reticulócitos está normal ou reduzido, pode ser sinal de insuficiência medular. Portanto, este é usado como marcador da função hematopoética na HPN. O mielograma apresenta

hiperplasia dos precursores eritroblásticos, que desaparece na fase aplástica. A reação de Perls evidencia ausência de depósito de ferro nos macrófagos medulares. É importante dosar ferritina e ferro sérico a fim de avaliar as perdas de ferro pelas vias urinárias.

A enzima Lactato Desidrogenase (LDH) catalisa a oxidação reversível do lactato a piruvato. Está presente em diversos tecidos humanos, dentre eles miocárdio, pulmão, linfócitos, baço, fígado, músculo esquelético, pâncreas e eritrócitos. Possui cinco isoformas, sendo que nos eritrócitos predominam a LDH 1 e LDH 2. É um importante marcador para monitorar a hemólise intravascular. Durante paroxismos graves seu valor pode aumentar cerca de 20 vezes. A bilirrubina indireta também se encontra elevada pela hemólise devido a degradação do heme. A avaliação de uréia e creatinina se fazem importantes na HPN para avaliar se a função renal não está sendo comprometida pela constante hemólise e deposição de hemossiderina no tecido renal. A reação de Perls no sedimento urinária confirma a presença de hemossiderinúria.

TRATAMENTO

A transfusão é uma medida paliativa após episódios de hemólise intensa, pois ocorre um rápido decréscimo na concentração de hemoglobina. Muitas vezes é necessária a reposição de ferro, devido às perdas desse elemento ocorridas constantemente na urina. Recomenda-se a reposição de folatos que são gastos em grande quantidade na eritropoese aumentada secundária a hemólise crônica. Em pacientes com alto grau de hematopoese ineficaz, a politransfusão pode acarretar sobrecarga de ferro e o paciente passa a necessitar de terapia quelante.

Terapia profilática com anticoagulantes é indicada a pacientes com grandes clones HPN e outros fatores de riscos para complicações trombóticas. Aqueles que já apresentaram episódios tromboembólicos devem receber anticoagulantes enquanto houver clones HPN.

O uso de corticosteróides como tratamento para hemólise crônica não é totalmente aceito, muitos o consideram um tratamento empírico, alegando que não há dados experimentais que forneçam uma explicação para o porquê de esteróides melhorarem a hemólise na HPN. No entanto, alguns pacientes apresentam rápida melhora com tratamento de glicocorticóides, principalmente no enfraquecimento da exacerbação das crises de hemólise aguda. Deve-se ter em conta a toxicidade provocada pelo uso crônico dessa medicação, e os danos que podem advir ao uso em longo prazo. Uma alternativa é alternar as doses a cada dois dias, mas mesmo assim algumas reações adversas podem ser observadas. São recomendados profilaxia bacteriana e contra osteopenia induzidas por esteróides.

A terapia com androgênicos, sozinho ou acompanhado de esteróides tem sido usada com sucesso no tratamento da anemia da HPN. O mecanismo não é totalmente conhecido, embora o rápido início da ação seja compatível com a inibição do complemento. Potenciais complicações do uso de androgênios incluem toxicidade hepática, hipertrofia prostática e efeitos virilizantes.

TCTH

O único tratamento considerado curativo para a HPN é o transplante de células tronco hematopoéticas (TCTH). Apesar de nos últimos anos terem ocorrido melhorias impressionantes quanto à qualidade desse procedimento, o advento das células-tronco de cordão umbilical, avaliação de compatibilidade de doadores a nível molecular e melhoria do suporte clínico pós-transplante, o TCTH ainda é um tratamento que oferece muitos riscos ao paciente. O principal risco é a doença do enxerto versus hospedeiro

aguda e crônica. Por isso o transplante só é indicado a pacientes com fatores de risco para pior evolução da doença e mortalidade, principalmente nos casos de síndromes de falência medular com citopenias graves. Além disso, existe a possibilidade de remissão espontânea da doença e a evidência recente de eficácia do eculizimab na prevenção da hemólise e do tromboembolismo.

No entanto, hoje se tem medicações que auxiliam o paciente a ter uma maior sobrevida e com mais qualidade. Em 2010 foi lançada uma medicação eficaz na prevenção da hemólise e tromboembolismo. O eculizimab trata-se de anticorpos monoclonais contra frações protéicas do complemento impedindo a formação de C5a e o complexo de ataque à membrana C5-9. O bloqueio a nível de C5 teoricamente preserva os outros componentes da cascata, necessários para a opsonização de microorganismo e clearance de complexos imunes. No entanto, todos os pacientes devem receber vacinação prévia contra *Neisseria meningitidis*, pois o bloqueio do complemento terminal pode estar associado com o aumento de infecções por essa bactéria. As grandes vantagens do eculizimab são a estabilização dos níveis de hemoglobina, redução das necessidades transfusionais, diminuição da hemólise e dos episódios trombóticos. Um efeito adverso importante é o aumento das infecções no trato respiratório superior.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, Carlos J. et al . Hemoglobinúria paroxística noturna: relato de dois casos.

Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, São José do Rio Preto, v. 24, n. 4, 2002.

ARRUDA, Martha Mariana de Almeida Santos et al . Hemoglobinúria paroxística noturna: da fisiopatologia ao tratamento. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 56, n. 2, 2010.

DUSSE, Luci Maria Sant'Ana; VIEIRA, Lauro Mello; CARVALHO, Maria das Graças. Revisão sobre óxido nítrico. **Jornal Brasileiro de Patologia Médica e Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 4, 2003.

HENRY, John Bernard. **DIAGNÓSTICOS CLÍNICOS E TRATAMENTOS POR MÉTODOS LABORATORIAIS**. 20ª ed. Editora Manole, 2008

HILLMEN, Peter, et al. Effect of eculizumab on hemolysis and transfusion requirements in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. **New England Journal Medicine**, v.5 n. 35, 2004.

NOMURA, Marcelo Luís et al . Hemoglobinúria paroxística noturna e gravidez. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 7, 2004.

PARKER, Charles et al. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. **Blood**, v. 106, n. 12, 2005.

PERES, Luis Alberto Batista et al; Insuficiência Renal Aguda na Hemoglobinúria Paroxística Noturna. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 30, n.1, 2008.

TORRES, Diogo Castelo Branco Alves et al. Avaliação de clone da Hemoglobinúria Paroxística Noturna em pacientes com Anemia Aplástica. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 41, n. 4, 2009.