

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO EM BIOMEDICINA**

GABRIEL DE MELO SALVADOR LIBARDI

HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA E EVENTOS TROMBÓTICOS:

Uma Revisão Integrativa

JOÃO PESSOA

2024

Gabriel de Melo Salvador Libardi

HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA E EVENTOS TROMBÓTICOS:

Uma Revisão Integrativa

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para a obtenção de grau do Bacharelado em Biomedicina pela Universidade Federal da Paraíba.

Orientador: Prof. Dr. Luís Fábio Barbosa Botelho

JOÃO PESSOA

2024

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

L694h Libardi, Gabriel de Melo Salvador.
Hemoglobinúria paroxística noturna e eventos
trombóticos: uma revisão integrativa / Gabriel de Melo
Salvador Libardi. - João Pessoa, 2024.
40 f. : il.

Orientação: Luís Fábio Barbosa Botelho.
TCC (Graduação) - UFPB/CCS.

1. Glicosilfosfatidilinositol. 2. Hemoglobinúria
paroxística noturna. 3. Plaquetas. 4. Sistema
complemento. 5. Trombose. I. Botelho, Luís Fábio
Barbosa. II. Título.

UFPB/CCS

CDU 616.15+616-005.6(043.2)

GABRIEL DE MELO SALVADOR LIBARDI

HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA E EVENTOS TROMBÓTICOS:

Uma Revisão Integrativa

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para a obtenção de grau do Bacharelado em Biomedicina pela Universidade Federal da Paraíba.

Orientador: Prof. Dr. Luís Fábio Barbosa Botelho

Aprovado em: 09/10/2024.

BANCA EXAMINADORA



Luís Fábio Barbosa Botelho (Orientador) - Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Amanda Raphaella de Medeiros Lima - Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW)



Gabriela Matos Falcão Targueta - Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW)

JOÃO PESSOA

2024

Dedico este trabalho ao meu tio, Giovanni “Gianni” Mastroprimiano (*in memoriam*), que foi mais que um pai, a quem eu devo muito. Dedico também aos meus irmãos, Miguel e Marina, que tanto me ensinam e me motivam a ser melhor todos os dias, desde que nasceram.

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, agradeço a Deus por me acompanhar e permitir, em sua bondade sem fim, que tudo ocorresse da melhor forma ao longo da minha vida e caminhada acadêmica.

Agradeço também aos meus pais, Jairo e Cynthia, e meus avós, José Antônio e Eliane, que, apesar das dificuldades em meio ao caminho, deram todo o suporte necessário para que eu pudesse chegar ao fim dessa etapa, foram minha fortaleza frente a cada desafio apresentado e muito fizeram por mim em todos os aspectos.

A toda minha família que esteve sempre presente em todos os momentos me acompanhando e dando todas as condições indispensáveis para ultrapassar os obstáculos desta jornada e ser quem eu sou hoje.

À minha namorada, Mirla Kananda, por todo incentivo e auxílio nos momentos difíceis, por me ouvir tantas vezes e por ajudar a tornar cada momento mais leve e especial.

Aos meus amigos, presentes que a universidade me concedeu, por cada conversa, ajuda e desabafo, por somarem forças em meio a cada adversidade surgida e por todo o convívio e aprendizado ao longo desses anos de curso.

Aos professores que cruzaram o meu caminho, fontes essenciais de conhecimento e experiências, por todos os ensinamentos transmitidos com a vida, trabalho e exemplo.

RESUMO

A hemoglobinúria paroxística noturna (HPN) é um raro distúrbio hematopoiético que pode acometer as hemácias, plaquetas e leucócitos e consiste na deficiência de glicosilfosfatidilinositol (GPI), um importante fosfoglicerídeo presente na membrana das células. Ela pode ser classificada em três subtipos: HPN clássica, associada à aplasia medular e subclínica, os quais podem apresentar variações do grau de acometimento celular, os sintomas e o prognóstico. O GPI é responsável por ancorar inúmeras proteínas envolvidas nos mais diversos mecanismos celulares e quando ausente torna as células mais suscetíveis à destruição, mediada, sobretudo, pelo sistema complemento. Sendo assim, o paciente pode manifestar anemia, leucopenia, trombocitopenia e hemoglobinúria, além de graves complicações, dentre as quais podem ser citadas embolias e eventos trombóticos. Nesse sentido, a trombose é a consequência mais perigosa da doença, podendo levar ao óbito a maior parte dos não tratados. Por isso, o presente estudo teve como objetivo analisar a relação entre a HPN e a trombose, através da bibliografia existente sobre o tema, consistindo, portanto, em uma revisão integrativa da literatura. A partir dos artigos selecionados foram discutidos aspectos relevantes acerca da trombose na doença, contemplando as manifestações e eventuais correlações clínicas, a fisiopatologia, os achados laboratoriais, os tratamentos disponíveis, e os possíveis desfechos. Os trabalhos analisados destacaram o forte envolvimento da ativação plaquetária, da mediação leucocitária, dos produtos da hemólise e da regulação do sistema complemento no desenvolvimento de trombos. Além disso, observou-se uma divergência quanto à relação entre a proporção de células afetadas (tamanho do clone de HPN) e a evolução da doença. A maior parte dos estudos associaram a presença de clones maiores ao risco trombótico aumentado, enquanto um demonstrou não haver forte ligação. Entretanto, sobre o manejo, todos atestam a eficácia do eculizumabe no controle do distúrbio, de modo especial, associado ao uso de anticoagulantes para a contenção da trombose. Por fim, foi possível concluir que a agilidade no diagnóstico é essencial para preservar os pacientes dos riscos envolvidos e aumentar a sobrevivência. Assim, estudos mais aprofundados são necessários para ampliar os conhecimentos sobre os mecanismos do distúrbio e aprimorar os métodos de diagnóstico e tratamento.

Palavras-chave: glicosilfosfatidilinositol; hemoglobinúria paroxística noturna; plaquetas; sistema complemento; trombose.

ABSTRACT

Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is a rare haematopoietic disorder that can affect the erythrocytes, platelets and leukocytes and consists of a deficiency of glycosylphosphatidylinositol (GPI), an important phosphoglyceride present in cell membranes. It can be classified into three subtypes: classic PNH, associated with bone marrow aplasia and subclinical PNH, which may present variations in the degree of cellular involvement, symptoms and prognosis. The GPI is responsible for anchoring numerous proteins involved in the most diverse cellular mechanisms and when absent, it makes cells more susceptible to destruction, mediated mainly by the complement system. Therefore, the patient may develop anemia, leukopenia, thrombocytopenia and hemoglobinuria, in addition to serious complications, including embolisms and thrombotic events. In this sense, thrombosis is the most dangerous consequence of the disease, and can lead to death in most untreated cases. Hence, the present study aimed to analyze the relationship between PNH and thrombosis, through the existing bibliography on the subject, consisting, therefore, of an integrative review of the literature. Based on the selected articles, relevant aspects about thrombosis in the disease were discussed, contemplating the manifestations and possible clinical correlations, pathophysiology, laboratory findings, available treatments, and possible outcomes. The studies analyzed highlighted the strong involvement of platelet activation, leukocyte mediation, hemolysis products and complement system regulation in the development of thrombi. Furthermore, there was divergence regarding the relationship between the proportion of affected cells (PNH clone size) and the progression of the disease. Most articles associated the presence of larger clones with increased thrombotic risk, while only one demonstrated no expressive association. However, regarding management, all articles attest to the efficacy of eculizumab in controlling the disorder, especially when associated with the use of anticoagulants to contain thrombosis. Finally, it was possible to conclude that agility in diagnosis is essential to protect patients from the risks involved and increase survival. Thus, more detailed studies are necessary to expand knowledge about the mechanisms of the disorder and improve diagnostic and treatment methods.

Keywords: glycosylphosphatidylinositol; nocturnal paroxysmal hemoglobinuria; platelets; complement system; thrombosis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	8
2 OBJETIVOS.....	9
2.1 OBJETIVO GERAL.....	9
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	9
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	10
3.1 A HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA AO LONGO DO TEMPO.....	10
3.2 O GLICOSILFOSFATIDILINOSITOL (GPI) E A HPN.....	12
3.3 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E TRATAMENTOS.....	13
4 METODOLOGIA.....	16
4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	16
4.2 PERÍODO DO ESTUDO.....	16
4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.....	16
4.4 COLETA E PROCESSAMENTO DOS DADOS.....	17
4.5 ANÁLISE DOS DADOS.....	18
5 RESULTADOS.....	19
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA.....	19
6 DISCUSSÃO.....	23
6.1 IMPORTÂNCIA DOS EVENTOS TROMBÓTICOS NA HPN.....	23
6.2 FISIOPATOLOGIA DA TROMBOSE NA HPN.....	23
6.3 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DO TROMBOEMBOLISMO NA HPN.....	28
6.4 ACHADOS CLÍNICO-LABORATORIAIS E PERFIL DOS PACIENTES.....	29
6.5 TERAPIA E MANEJO DA DOENÇA.....	32
7 CONCLUSÕES.....	35
REFERÊNCIAS.....	37

1 INTRODUÇÃO

A Hemoglobinúria Paroxística Noturna (HPN) é um raro distúrbio clonal hematopoiético não maligno determinado pela deficiência do fosfoglicerídeo Glicosilfosfatidilinositol (GPI) na membrana das células sanguíneas. Essa disformidade é causada por uma mutação que acomete o gene do fosfatidilinositol glicano classe A (PIG-A) nas células-tronco hematopoiéticas – Hematopoietic Stem Cells (HSCs). Assim, há um prejuízo na expressão do GPI nas células maduras e, conseqüentemente, nas proteínas ancoradas por ele (GPI-APs). Tudo isso torna as hemácias, além de outras linhagens hematopoiéticas, muito sensíveis e favorece a lise no interior dos vasos sanguíneos do paciente.

Nesse sentido, a doença se manifesta como um tipo de anemia hemolítica adquirida, mediada, especialmente, pelo sistema complemento. A doença é marcada por manifestações bastante características, dentre as quais podem ser citados a hemólise intravascular, pancitopenia (redução das três linhagens hematopoiéticas: anemia, leucopenia e trombocitopenia), altos níveis de lactato desidrogenase (LDH) – enzima associada à destruição tecidual no organismo –, hemoglobinúria – comum no período noturno – e, especialmente, uma maior propensão à formação de trombos, podendo ocasionar embolias, isquemias, dores e edemas (Sahin *et al*, 2015).

O diagnóstico da HPN pode ser realizado com o auxílio de alguns testes, no entanto o método mais assertivo no contexto laboratorial é a citometria de fluxo, já utilizada na rotina das análises clínicas para outros ensaios. Ainda no âmbito clínico, a doença pode ser classificada em três subtipos diferentes: HPN clássica, HPN associada a desordens medulares e HPN subclínica. As características dessas variações podem divergir bastante entre si em aspectos como quantidade e intensidade dos sintomas, proporção de células anômalas, bem como no que diz respeito ao prognóstico e tratamento de cada uma (Szlendak *et al*, 2022).

No entanto, apesar de ser estudado por mais de um século, o distúrbio permanece pouco conhecido e esclarecido na medicina. Entre outros fatores, a sua baixa incidência na população atrelada à difícil identificação e, ainda, à grande divergência de características entre os pacientes acometidos ratifica a baixa quantidade de informações acessíveis e o desconhecimento de alguns dos seus mecanismos fisiopatológicos. Dessa forma, evidencia-se a importância do presente estudo para um avanço na compreensão da HPN e sua relação com a ocorrência de trombos através de uma análise e reflexão acerca dos materiais coletados.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Analisar a Hemoglobinúria Paroxística Noturna (HPN) e os eventos trombóticos associados.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar as informações mais importantes da literatura existente acerca do tema.
- Investigar as relações entre a HPN e a ocorrência de trombose.
- Discutir os mecanismos envolvidos nos eventos trombóticos da HPN.
- Evidenciar as implicações da trombose em pacientes com HPN.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

A fim de que possam ser apresentados todos os aspectos aos quais este estudo se propõe, inicialmente, faz-se importante investigar, diante dos conhecimentos previamente existentes, os fatores que permeiam a Hemoglobinúria paroxística noturna (HPN) e as suas características mais importantes.

3.1 A HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA AO LONGO DO TEMPO

Entre o final do século XIX e o início do século XX, estudos sobre a hemoglobinúria paroxística noturna (HPN) – desconhecida como doença até então – começaram a ser registrados. Então, dois cientistas da época, o físico alemão Paul Strübing e o médico italiano Pietro Biffis, perceberam que a hemoglobinúria sucedia apenas no período noturno, característica importante mas inicialmente despercebida pelos pesquisadores (Crosby, 1951; Parker, 2008).

Ao longo da década de 1880, Strübing estudou o distúrbio e criou a hipótese de que os eritrócitos defeituosos eram sensíveis à acidificação e que a hemoglobinúria noturna ocorria pelo aumento de dióxido de carbono e ácido láctico na circulação pela redução da frequência cardiorrespiratória durante o sono. No entanto, não conseguiu comprovar sua tese através de estudos *in vivo*, feito realizado somente após 55 anos pelo americano Thomas Hale Ham com a indução da hemoglobinúria por administração de cloreto de amônio (Parker, 2008).

Baseando-se nos estudos de Strübing, em 1911, o médico holandês A. A. Hijmans van den Bergh realizou ensaios *in vitro* com hemácias de pacientes com HPN em uma atmosfera contendo dióxido de carbono e demonstrou um aumento significativo da hemólise, o que não ocorreu com eritrócitos típicos (Rosse, 2000).

Durante a década de 1920, o médico holandês J. Enneking publicou estudos de caso da doença e, em virtude das características da manifestação clínica, sugeriu pela primeira vez a terminologia usada até os dias atuais: hemoglobinúria paroxística noturna, do latim haemoglobinuria paroxysmalis nocturna (Crosby, 1951).

Posteriormente, ensaios publicados por Wendell Rosse e John Dacie constataram que os eritrócitos de pacientes com HPN eram, na verdade, como um mosaico composto por células com diferentes graus de sensibilidade à atividade lítica do sistema complemento, conceito conhecido como ‘mosaicismo fenotípico’ (Rosse; Dacie, 1966).

Ao final da década de 1960, Richard H. Aster e Sara E. Enright realizaram ensaios de sensibilidade com plaquetas e neutrófilos e comprovaram também nessas linhagens uma vulnerabilidade anormal à lise pelo complemento (Aster; Enright, 1969). Esses resultados evidenciaram o envolvimento das células-tronco hematopoiéticas (hematopoietic stem cells - HSCs) na patogenia da HPN, algo que ainda não era um consenso entre os pesquisadores e serviu de base para os estudos posteriores.

No mesmo ano, Kunstling e Rosse realizaram um trabalho comparativo entre as populações de hemácias HPN sensíveis e insensíveis ao complemento e constataram que apenas as populações sensíveis apresentavam uma deficiência de acetilcolinesterase. (Kunstling; Rosse, 1969). Essa descoberta indicou um possível envolvimento da enzima na fisiopatologia do distúrbio. Atualmente, sabe-se que a acetilcolinesterase é uma das proteínas ancoradas no glicosilfosfatidilinositol, lipídio ausente na membrana dessas células anormais.

Ao longo das duas décadas seguintes, por meio de ensaios mais específicos, foram conhecidas e detalhadas as bases moleculares que permeiam toda a atividade do sistema complemento, seus constituintes e o envolvimento desses mecanismos com os eritrócitos sensíveis na hemoglobínúria paroxística noturna, com destaque para a regulação anômala da C3 convertase e do complexo de ataque a membrana (Rouault *et al.*, 1978; Packman *et al.*, 1979; Parker, 2002).

Esse mesmo período também foi marcado pela descoberta de diversos reguladores e inibidores do sistema complemento, especialmente aqueles presentes na própria membrana eritrocitária (Nicholson-Weller *et al.*, 1982, 1983). Esses achados permitiram uma maior compreensão acerca da fisiopatologia da HPN, indicando, de maneira mais objetiva, as proteínas ausentes nas hemácias aberrantes e os mecanismos utilizados pelo sistema complemento na atividade lítica dessas células (Holguin *et al.*, 1989).

Em 1980, a partir de pesquisas com fosfolipase C específica do fosfatidilinositol, Martin G. Low levantou a hipótese de que essas proteínas ausentes eram ancoradas na membrana plasmática por meio de uma ligação covalente ao fosfatidilinositol, mas a ideia não recebeu a devida atenção na época.

Foi então que, em 1986, um grupo de cientistas de Nova York, utilizando a enzima fornecida por Low, demonstraram que ela era capaz de clivar o regulador da C3 convertase da membrana (Davitz; Low; Nussenzweig, 1986). Esse estudo embasou duas novas hipóteses: que todas as proteínas deficientes no paciente com HPN eram ancoradas no glicosilfosfatidilinositol (GPI) e que todas as proteínas ancoradas por GPI (GPI-APs) em células hematopoiéticas eram deficientes no indivíduo com o distúrbio.

Já na década de 1990, pesquisadores japoneses encontraram a mutação somática responsável pela ausência do GPI na membrana, revelando as bases genéticas da doença. Eles nomearam o gene de PIG-A (fosfatidilinositolglicana de classe A) e conseguiram determinar uma relação de causalidade entre a sua mutação e o desenvolvimento da HPN, sendo até hoje a única mutação conhecida responsável pelo distúrbio (Takahashi *et al.*, 1993). Atualmente já foram encontrados mais de 150 tipos de mutações no gene PIG-A em pacientes acometidos pela HPN (Parker, 2008).

3.2 O GLICOSILFOSFATIDILINOSITOL (GPI) E A HPN

O GPI é um importante glicofosfolípídio, também chamado fosfoglicerídeo, de membrana responsável por ligar diversas proteínas à camada externa da membrana celular, atuando como um complexo de ancoragem indispensável a muitos processos celulares. As proteínas ancoradas a esse complexo glicolipídico, através da extremidade carboxi-terminal (terminal C), estão envolvidas em diferentes funções biológicas como a sinalização e a regulação celular.

Dessa forma, quando a biossíntese de GPI é prejudicada, seja parcial ou totalmente, há uma grande repercussão em todo o organismo podendo causar alterações importantes e até mesmo letais no indivíduo, como é o caso da HPN. Nesse distúrbio a produção de GPI é afetada devido a mutações no gene envolvido na sua biossíntese (PIG-A), isso ocorre nas células-tronco HSCs, na medula óssea, resultando em células sanguíneas, sobretudo eritrócitos, deficientes em GPI (Parker, 1996, 2008).

A Hemoglobinúria paroxística noturna é, portanto, um raro distúrbio hematológico adquirido, no qual as células-tronco da medula óssea são acometidas por uma mutação que resulta na deficiência de GPI, o que acarreta hematopoiese anômala e em células sanguíneas anormais, frágeis e disfuncionais. Em razão do comprometimento das células pluripotentes (HSCs), todas as linhagens hematológicas podem ser afetadas com a deficiência de GPI: eritrócitos, leucócitos e plaquetas (Parker, 1996).

Portanto, devido à deficiência, essas hemácias, leucócitos e plaquetas são mais sensíveis à ação do sistema complemento e mais suscetíveis à lise, apresentando, consequentemente, uma expressão prejudicada das proteínas ancoradas por GPI (GPI-APs) e defeitos nas vias metabólicas nas quais elas estão envolvidas (Rosse; Ware, 1995).

Duas GPI-APs fundamentais que marcam os mecanismos da HPN são CD55 e CD59. Essas proteínas são responsáveis pela regulação do sistema complemento, na qual

CD55 exerce função de inibir a ativação das proteínas C3 e C5 pela regulação das convertases, enquanto CD59 impede a formação do complexo de ataque à membrana (MAC). Sendo assim, com a expressão prejudicada desses dois componentes, o complemento aumenta sua atividade e as células se tornam mais suscetíveis (Alegretti *et al.*, 2009).

Como exposto anteriormente, há estudos que comprovam o envolvimento de GPI-APs na regulação de integrantes do sistema complemento (como é o caso de CD55 e CD59). Essas proteínas são completamente afetadas, intensificando a atividade do complemento contra essas células anormais e promovendo uma destruição generalizada (Parker, 1996, 2008).

Estudos de pacientes com HPN demonstram que a mutação somática associada à deficiência de GPI ocorre no gene PIG-A ligado ao cromossomo X, responsável por produzir uma proteína importante para a biossíntese do fosfoglicerídeo (Takahashi *et al.*, 1993). No entanto, ensaios realizados com camundongos sugeriram que a mutação sozinha não ocasiona, necessariamente, a dominância clonal e o desenvolvimento do distúrbio, o que pode indicar a existência de outros fatores desconhecidos na etiologia da doença e seus mecanismos fisiopatológicos (Kawagoe *et al.*, 1996).

3.3 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E TRATAMENTOS

As alterações apresentadas provocam implicações importantes no organismo e, como citado, podem ser letais, especialmente quando não tratadas. Manifestações como hemólise intravascular, trombose, embolia, anemia, hemoglobinúria e aplasia medular, além de insuficiência renal, cardíaca e pulmonar, são as mais comuns.

A hemólise intravascular, como exposto, ocorre devido à atividade descontrolada do sistema complemento frente à ausência de GPI na membrana eritrocitária da população sensível de células do paciente com HPN. Ora, sabe-se também que a hemólise é intensificada pela acidificação do plasma (motivo pelo qual a hemoglobinúria costuma ser noturna), por infecções, uso de medicamentos e aumento de anticorpos na circulação, fatores considerados gatilhos para a ativação do complemento (Clark *et al.*, 1981).

Sendo assim, devido à mutação somática no gene PIG-A, o GPI não é produzido e incorporado na membrana. As proteínas reguladoras da C3 convertase e do complexo de ataque à membrana (MAC), que naturalmente estão ancoradas na membrana através do GPI em células saudáveis, não se ligam às células aberrantes, acentuando a atividade lítica do complemento (Nakakuma, 1996).

Além de representar o principal sintoma da doença, o processo hemolítico intravascular generalizado é a origem de outros sintomas. É devido à hemólise que ocorrem a anemia – agravada, sobretudo, pela aplasia medular – e a hemoglobinúria, por exemplo. Quando as células são lisadas, toda a hemoglobina (Hb) é liberada no plasma e o seu excesso é filtrado nos rins, chegando até a urina. Com o tempo, esse fenômeno, atrelado à trombose habitual, tende a provocar danos tubulares e afetar gravemente a função renal (Clark *et al.*, 1981).

Responsável pela letalidade do distúrbio e complicações graves, a trombose é a consequência mais perigosa nesses quadros. Cerca de metade dos óbitos por HPN são atribuídos ao tromboembolismo e suas complicações. Entre as causas mais comuns da formação de trombos estão a intensa inflamação mediada pelo complemento, a hemólise generalizada e o aumento de citocinas inflamatórias, bem como de restos celulares no interior dos vasos (Colina; Kelly; Hillmen, 2013).

A eritropoiese anômala associada à falência medular em pacientes com HPN, paralelamente à hemólise, pode levar a graves quadros de anemia. Esse sinal pode surgir independentemente ou anteriormente à manifestação da HPN e é explicado pela presença de mecanismos de autoimunidade contra as células tronco hematopoiéticas normais, como também pela ativação de células *natural killer* (NK) e de linfócitos T (Young; Calado; Scheinberg, 2006).

Atualmente, a HPN é classificada em três subtipos, de acordo com o *International PNH Interest Group*. O tipo I (HPN clássica) possui mais de metade das células GPI-, sem alterações leucocitárias e plaquetárias significativas e sem traços de insuficiência medular. O tipo II (HPN aplástica) cursa com aplasia medular, entre 10 e 50% de células GPI-, hemólise mais leve, leucopenia, trombocitopenia e anemia importantes. O tipo III (subclínica) possui de 1 a 10% de células GPI-, sem evidências de hemólise e é comum em pacientes com aplasia medular ou síndrome mielodisplásica (Szlendak *et al.*, 2022).

Existem, hoje, dois principais tratamentos adequados para a hemoglobinúria paroxística noturna: o uso de inibidores de C5 do complemento e o transplante alogênico de medula óssea, a depender do mosaicismismo fenotípico, responsável pela heterogeneidade de perfis da doença. Há também as terapêuticas relacionadas à contenção dos sintomas e demais complicações, como o uso de anticoagulantes para a prevenção da hemólise.

Os inibidores de C5 – anticorpos monoclonais que neutralizam a proteína – costumam ser a medicação padrão nos casos de HPN clássica. Os anticorpos Eculizumabe (aprovado para o tratamento em 2007) e Ravulizumabe (aprovado em 2018) são os inibidores

disponíveis para o combate ao distúrbio. Eles previnem a ocorrência de hemólise e todos os sintomas associados, evitando, portanto, os danos pulmonares, renais, neurológicos e o tromboembolismo, por exemplo (Brodsky, 2021; Szlendak *et al.*, 2022).

Entretanto, na HPN de tipo II o foco do tratamento é a anemia aplástica e sua sintomatologia. Geralmente, o manejo desses casos envolve a administração de imunossupressores (devido à incidência de atividade autoimune contra as células-tronco hematopoiéticas) e o transplante de medula óssea, o único tratamento com chances reais de cura da doença. Uma desvantagem do transplante é a dificuldade em encontrar compatibilidade entre os pacientes e os doadores disponíveis (Szlendak *et al.*, 2022).

4 METODOLOGIA

4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

O presente estudo trata-se de uma análise bibliográfica, seguindo o método de revisão integrativa da literatura, de estudos acerca da hemoglobinúria paroxística noturna e sua forte relação com os distúrbios trombóticos, muito frequentes nesses quadros e causa de inúmeras complicações nos pacientes acometidos. Sendo assim, consiste em um estudo de caráter qualitativo com a pretensão de explorar o tema por meio da literatura existente, analisando-a de forma crítica e profícua.

Além disso, a análise dos dados tomará como base o processo estabelecido por Ursi (2005), de forma adaptada, através da aplicação das seguintes etapas: o estabelecimento do problema norteador e dos objetivos do estudo, a seleção da amostra (critérios de inclusão e exclusão), a análise dos dados, a apresentação e discussão dos resultados e, por fim, a apresentação da revisão. Dessa forma, pretende-se trabalhar o material colhido de maneira concisa e eficiente a fim de contribuir positivamente para o conhecimento acerca do distúrbio e seus mecanismos.

4.2 PERÍODO DO ESTUDO

A coleta de dados, análise dos materiais obtidos e desenvolvimento da revisão foram realizados durante o período de junho a setembro do ano de 2024, em meio virtual, através das bases de dados: United States National Institutes of Health/National Library of Medicine (NIH/NLM - PubMed Central) e Biblioteca Virtual de Saúde (BVS).

4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Para o levantamento de dados foram utilizados os seguintes critérios de inclusão: A) Trabalhos indexados às bases de dados NIH/NLM - PubMed Central e BVS; B) Presença dos descritores “paroxysmal nocturnal hemoglobinuria”, “platelet” e “thrombosis” (selecionados pelo DeCS/MeSH) combinados pelo operador booleano AND; C) Artigos publicados de 2003 a 2023; D) Trabalhos científicos completos e gratuitos; E) Publicações nos idiomas inglês, espanhol e português; F) Artigos do tipo estudo observacional, estudo diagnóstico, estudo

prognóstico, artigo original e revisão; e G) Estudos que possuem como desfecho principal a trombose.

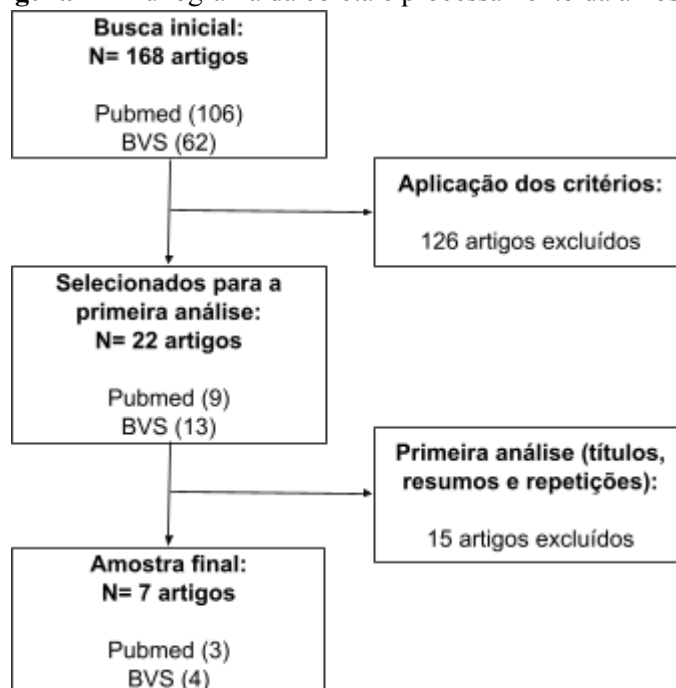
Foram excluídos todos os trabalhos que não apresentavam o tema em questão como objeto principal do estudo, abordando-o de forma secundária ou incompleta junto a outras temáticas não relevantes à pesquisa.

4.4 COLETA E PROCESSAMENTO DOS DADOS

Com o propósito de melhor conduzir a coleta e análise dos dados, bem como de propiciar o entendimento acerca do tema proposto, elaborou-se para o presente estudo a seguinte questão norteadora: qual a relação entre a hemoglobínúria paroxística noturna e a trombose e como isso pode afetar os pacientes acometidos pelo distúrbio?

Inicialmente, foram encontrados 168 artigos relacionados ao tema (possuindo os três descritores), dos quais, após a delimitação pelos critérios escolhidos, restaram apenas 22 artigos com o texto completo e gratuito. Em seguida, os estudos foram submetidos a uma leitura cuidadosa dos títulos e resumos. Após a análise inicial dos trabalhos, considerando o tema e os parâmetros propostos, foram excluídos mais 15 estudos, dentre os quais haviam repetições e artigos sem ligação direta com a temática. Sendo assim, a amostra final da revisão foi selecionada, contendo 7 artigos no total (Figura 1).

Figura 1 - Fluxograma da coleta e processamento da amostra



Fonte: O autor, 2024.

4.5 ANÁLISE DOS DADOS

Para favorecer a análise de todo o material coletado e as respectivas reflexões, utilizou-se uma adaptação do quadro sinóptico desenvolvido por Ursi (2006), permitindo uma organização mais adequada das informações essenciais de cada trabalho, através da formulação de sínteses.

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

A fim de possibilitar uma melhor organização e identificação, os estudos foram codificados, seguindo a sequência alfanumérica de A1 a A7, e categorizados a partir das seguintes características: título, autoria, ano de publicação, tipo de metodologia, idioma, nacionalidade e base de dados (Quadro 1).

Quadro 1 - Estudos selecionados para a revisão

Código	Título	Autores	Ano	Metodologia	Idioma	País	Base
A1	"Thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria"	Hill; Kelly; Hillmen.	2013	Revisão	Inglês	Reino Unido	Pubmed
A2	"The prothrombotic state in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a multifaceted source"	Peacock-Young <i>et al.</i>	2018	Revisão	Inglês	Itália	Pubmed
A3	"Prospective and comparative study of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria patients treated or not by eculizumab: Focus on platelet extracellular vesicles"	Devalet <i>et al.</i>	2019	Estudo Observacional	Inglês	Bélgica	Pubmed
A4	"Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone in 103 Brazilian patients: diagnosis and classification"	Azambuja <i>et al.</i>	2015	Estudo Diagnóstico	Inglês	Brasil	BVS
A5	"Estudio ultraestructural de las plaquetas de pacientes con hemoglobinuria paroxística nocturna"	Vega <i>et al.</i>	2006	Artigo Original	Espanhol	México	BVS
A6	"Analysis of platelets by flow cytometry in patients with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH)"	Araten <i>et al.</i>	2020	Estudo Prognóstico	Inglês	EUA	BVS
A7	"Cerebral Stroke in a Teenage Girl with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria"	Gervasi <i>et al.</i>	2017	Estudo Prognóstico	Inglês	Itália	BVS

Fonte: O autor, 2024.

No que diz respeito ao método de estudo utilizado, observou-se a seguinte distribuição: duas revisões (28,6%), dois estudos prognósticos (28,6%), um estudo clínico (14,3%), um estudo diagnóstico (14,3%) e um artigo original (14,3%). Quanto ao ano de publicação, tem-se: 2006 (1), 2013 (1), 2015 (1), 2017 (1), 2018 (1), 2019 (1) e 2020 (1). Já em relação ao idioma do texto, obteve-se seis escritos em inglês (85,7%) e apenas um em espanhol (14,3%). Não foram encontrados artigos em língua portuguesa que atendessem aos critérios do estudo. Por fim, quanto à base de dados, foram encontrados três artigos no PubMed (42,9%) e quatro na BVS (57,1%).

No quadro a seguir são trazidas algumas das informações mais relevantes de cada artigo selecionado para a revisão, através de uma adaptação do quadro sinóptico de Ursi

(2006), a fim de apresentar uma breve síntese do material a ser trabalhado e auxiliar a discussão subsequente:

Quadro 2 - Síntese dos estudos selecionados

Cód	Objetivos	Resultados	Conclusões
A1	Discutir as descobertas acerca da fisiopatologia e tratamento da trombose na HPN e explorar mecanismos de aumento da trombose.	Entre 40% e 67% das mortes de causa conhecida na HPN são atribuídas à trombose, apesar de subestimada. Locais comuns são veias cerebrais e intra-abdominais. Entre as manifestações habituais estão as complicações neurológicas, hepáticas, renais, dermatológicas e gastrointestinais. Os mecanismos sugeridos envolvem ativação plaquetária, hemólise intravascular, ausência de GPI-APs, disfunção endotelial e mecanismos pró-coagulantes mediados pelo complemento. O principal agente para o controle da doença é o eculizumabe, que pode estar associado a anticoagulantes orais.	A trombose é a principal causa de óbitos em pacientes com HPN, sendo essencial a prevenção o mais cedo possível. A presença de trombose deve ser investigada em pacientes com HPN. Pacientes com trombose devem ser incluídos em investigação para HPN se apresentam uma das quatro condições sugeridas: 1. ser jovem; 2. ter trombose em lugares incomuns; 3. ter evidência de hemólise; 4. ter alguma citopenia.
A2	Discutir os elementos envolvidos no aumento do risco de trombose na HPN.	A HPN tem incidência de 1 a 2 casos por milhão de pessoas. A apresentação clínica é variável, com hemólise, trombose e anemia proeminentes. A presença de trombose subclínica é subestimada. A maioria dos eventos é de origem venosa. Trombose venosa profunda, tromboembolismo pulmonar, infarto agudo do miocárdio e acidente vascular encefálico são algumas das complicações mais observadas. Ativação plaquetária e leucocitária, micropartículas derivadas de plaquetas, hemólise, Hb livre, disfunção endotelial, espécies reativas de oxigênio, consumo de óxido nítrico e fibrinólise anômala desempenham um papel importante na manutenção do estado trombótico.	A trombose é a maior responsável pela debilidade e mortalidade associadas à HPN. Os mecanismos envolvidos não estão totalmente esclarecidos devido a sua natureza complexa e a multiplicidade de fatores envolvidos. Necessita-se de mais estudos sobre a etiologia e os mecanismos por trás do estado trombótico na doença, incluindo investigações acerca da atuação dos leucócitos, estrutura dos coágulos, fibrinólise e terapias.
A3	Estudar a atividade pró-coagulante do plasma isolado de pacientes com HPN, tratados ou não, estudar a quantidade e origem celular das vesículas extracelulares (EVs) e comparar com indivíduos saudáveis.	Cerca de 90% dos pacientes com HPN apresentou hemólise ativa, dos quais 41% possuíam D-dímero aumentado. Não houve diferenças importantes na atividade pró-coagulante e quantidade e origem de EVs entre pacientes e controle. Houve aumento no tempo de coagulação e queda nos níveis de LDH, D-dímero e EVs de plaquetas em pacientes tratados ou em tratamento com eculizumabe. Após tratamento, também houve redução de neutrófilos, plaquetas, reticulócitos e Hb livre e os níveis de Hb e hematócrito aumentaram. O tamanho do clone não foi afetado pelo tratamento com relação aos neutrófilos e monócitos, mas nas hemácias houve forte redução. Pacientes não tratados apresentaram níveis de plaquetas e linfócitos duas vezes menores que os controles, além de LDH, reticulócitos e Hb livre mais altos. Havia redução da haptoglobina na maioria dos pacientes com HPN. Não houve grande diferença no tempo de coagulação, características de EVs e	A queda na quantidade de EVs plaquetárias e atividade pró-coagulante em pacientes que iniciaram a terapia demonstram redução do risco trombótico advindo do eculizumabe. Não foram observadas grandes diferenças clínicas entre pacientes com e sem histórico de trombose. A pesquisa possui baixo poder estatístico devido à pequena amostra, à heterogeneidade dos pacientes e à rara ocorrência de eventos trombóticos durante o acompanhamento. É necessário mais estudos sobre os mecanismos da doença, os impactos da terapia com eculizumabe e sua relação com a atividade pró-coagulante. Faz-se importante o desenvolvimento de biomarcadores para risco trombótico,

		parâmetros de geração de trombina entre pacientes e controles.	no qual as EVs plaquetárias podem ser úteis.
A4	Descrever uma população brasileira de 103 pacientes com HPN ao longo de 11 anos.	Os principais achados foram hemoglobínúria, infecção e trombose, com alta prevalência de pancitopenia. A maioria dos casos foram classificados como HPN subclínica/tipo III (54), seguidos por HPN com anemia aplástica/tipo II (39) e HPN clássica (10). As categorias apresentaram características e evolução diversas. Observou-se um clone de HPN em eritrócitos e granulócitos maior nos pacientes com HPN clássica, pouco menor nos pacientes com o tipo II e mínimo nos pacientes com o tipo III. Identificou-se diferenças nos níveis de plaquetas, LDH e tamanho do clone entre pacientes com e sem histórico de eventos trombóticos. Verificou-se uma sobrevida global de 81,7%. Pacientes tipo III apresentaram menor sobrevida (76,5%).	A HPN não possui diagnóstico simples e necessita de análises da expressão de GPI por citometria de fluxo e da medula óssea para uma classificação mais abrangente da doença. Um maior tamanho do clone de HPN foi associado a sintomas clássicos com maior risco de trombose. Um menor clone foi atribuído à aplasia medular.
A5	Comparar a morfologia e o padrão de distribuição das proteínas de plaquetas em repouso e ativadas de pacientes mexicanos com HPN.	Observou-se mudanças morfológicas na estrutura de plaquetas em repouso e ativadas de pacientes com HPN, sugerindo presença de plaquetas ativadas circulantes. Estruturas desenvolvidas durante a adesão e o padrão de distribuição das proteínas não apresentaram diferenças nas plaquetas dos pacientes em relação ao controle.	Alterações estruturais nas plaquetas em repouso foram associadas à expressão da proteína P-selectina, sugerindo o seu uso como um marcador mais confiável para hiper-reatividade plaquetária e possível risco trombótico. Os estudos realizados não podem explicar a ausência de trombose na população mexicana com HPN, sendo necessários mais estudos sobre a relação desse processo ao endotélio vascular e ao óxido nítrico.
A6	Analisar plaquetas de pacientes com HPN por meio da citometria de fluxo.	O grupo sem histórico de trombose apresentou um clone médio de HPN de 21% em hemácias, 84% em granulócitos e 70% em plaquetas, com uma contagem absoluta de plaquetas anormais de 89 mil/ μ L. Já o grupo com histórico de trombose apresentou 16% dos hemácias, 84% dos granulócitos e 77% das plaquetas mutados, além de 85 mil plaquetas anômalas a cada μ L. Observou-se uma equivalência da proporção de granulócitos HPN em relação à fração de plaquetas HPN, mas não quanto à porção de hemácias HPN. Granulócitos mostraram-se mais afetados que hemácias. Alguns pacientes apresentaram extrema discrepância entre os clones em hemácias e em granulócitos (com escassas hemácias anômalas), sugerindo correlação com níveis de hemólise ou tratamentos crônicos, exceto um caso sem terapia. O método para análise de plaquetas apresentou bons resultados devido a três fatores principais: adição de aspirina, filtração em gel e controle da temperatura e da movimentação das amostras.	A proporção do clone de HPN em células sanguíneas e plaquetas não apresentaram boa correlação com o risco trombótico em pacientes tratados devido à eficácia do tratamento crônico, dificultando o uso como marcadores a longo prazo. A prevalência de granulócitos anômalos em relação a hemácias pode ser associada à hemólise e tratamentos longos. A eficácia dos anticoagulantes e eculizumabe para redução do risco de trombose na HPN foi confirmada. O método criado para identificação de clones de HPN em plaquetas é confiável e reprodutível, podendo auxiliar na escolha terapêutica.

A7	Descrever o caso de uma jovem com HPN e complicação trombótica neurológica grave.	Paciente com quadro crônico de pancitopenia sem melhora, com internações recorrentes e transfusões ao longo dos anos. Sintomas de fadiga, palidez e perda de peso, com LDH sempre alto e hemoglobinúria. Durante o episódio mais grave apresentou fadiga, desconforto, visão embaçada, vômitos, desorientação e dificuldades na fala, seguidos por perda da consciência. O quadro evoluiu com hemiplegia direita, afasia e, por fim, o coma. Aos exames de imagem foram identificados lesão isquêmica acentuada, redução do fluxo de porção da artéria carótida interna esquerda e ausência completa do fluxo da artéria cerebral esquerda. Após investigação, foi identificada HPN com clone de 1,5% das hemácias, 93,7% dos granulócitos e 95,2% dos monócitos. Tratamento inicial com heparina, esteróides, vitamina B12 e ácido fólico. Logo após, iniciou terapia com varfarina e ecilizumabe. Em pouco mais de um ano se recuperou de quase todas as sequelas neurológicas, com exames de sangue semelhantes aos realizados antes do tratamento, mas sem necessidade de novas transfusões.	Na presença de citopenias associadas a sinais de hemólise, excluindo-se demais causas, sugere-se rápida investigação para HPN, possibilitando um tratamento correto e evitando consequências graves como trombose venosa e arterial.
----	---	---	---

Fonte: O autor, 2024.

6 DISCUSSÃO

6.1 IMPORTÂNCIA DOS EVENTOS TROMBÓTICOS NA HPN

A Hemoglobinúria Paroxística Noturna (HPN) é um distúrbio raro que afeta de um a dois indivíduos a cada milhão por ano (Peacock-Young *et al.*, 2018). No entanto, possui extensa gravidade quando não identificado e tratado em tempo. Infelizmente, alcançar o diagnóstico de forma assertiva, por vezes, pode ser um grande desafio. Os mecanismos multifatoriais, atrelados à manifestação variável, tornam o caminho ainda mais árduo.

De acordo com Hill; Kelly; Hillmen (2013) e Peacock-Young *et al.* (2018), a trombose é a maior causa de debilidade, complicações e mortes em pacientes com HPN, somando entre 40 e 67% dos óbitos na doença. Além disso, cerca de 29 a 44% dos indivíduos com o distúrbio apresentaram ao menos um episódio de trombose, demonstrando prevalência entre as manifestações clínicas mais comuns do distúrbio (Hill; Kelly; Hillmen, 2013).

Entre os 103 pacientes analisados por Azambuja *et al.* (2015), 17 desenvolveram quadros de trombose ao longo do estudo, representando 16,5% do total. Outros estudos registraram incidência semelhante entre os pacientes, cerca de 16% (Peacock-Young *et al.*, 2018). O estudo de Araten *et al.* (2020), por sua vez, registrou a ocorrência de episódios trombóticos em 15 (30%) dos 50 pacientes analisados.

Entretanto, acredita-se que os eventos trombóticos podem ser subestimados, devido a possibilidade de haver importantes casos subclínicos entre os pacientes. Seis em cada dez pacientes com HPN, sem histórico de trombose, demonstraram em exame de imagem a presença de anormalidades indicativas de trombozes pulmonares prévias assintomáticas, corroborando essa hipótese (Hill; Kelly; Hillmen, 2013).

Outro importante aspecto do tromboembolismo na hemoglobinúria é a baixa taxa de sobrevivência associada. Os pacientes que manifestam esses episódios podem apresentar uma mortalidade de cerca de 60% nos 4 anos subsequentes (Hill; Kelly; Hillmen, 2013). Esses dados refletem ainda mais a importância de um diagnóstico rápido e correto, o que possibilita aos pacientes um tratamento adequado e evita as consequências mais drásticas da doença.

6.2 FISIOPATOLOGIA DA TROMBOSE NA HPN

Como citado anteriormente, a Hemoglobinúria Paroxística Noturna é um distúrbio multifatorial e excessivamente complexo, pois envolve desdobramentos diversos e

combinados que podem variar bastante entre os pacientes. Inicialmente, a doença é originada a partir de uma mutação no gene PIG-A em células tronco na medula óssea, mas a causa e a forma pelas quais acontece ainda permanecem desconhecidas. Esse gene codifica uma enzima responsável pela produção de uma proteína essencial para a primeira etapa da síntese do GPI, impossibilitando sua produção e expressão na membrana celular (Peacock-Young *et al.*, 2018).

Nesse sentido, a ausência de GPI e de suas proteínas ancoradas (GPI-APs) na membrana das células sanguíneas e plaquetas é o ponto de partida para todos os mecanismos envolvidos na doença. Por isso, a gravidade dos sintomas e a evolução clínica, bem como o prognóstico, irão depender, especialmente, da proporção de hemácias, leucócitos e plaquetas GPI- e GPI+ em um mesmo indivíduo, o que é chamado de tamanho do clone ou, simplesmente, clone HPN (Hill; Kelly; Hillmen, 2013). Sendo assim, cada paciente apresenta um caso particular e pode expressar células com diferentes graus de acometimento, isso explica a grande variedade clínica e ilustra o conceito do mosaicismo fenotípico.

As proteínas CD55 e CD59 são dois exemplos de proteínas ancoradas em GPI (GPI-APs) e estão envolvidas diretamente nos mecanismos da doença. A CD55 interage com as proteínas C4b e C3b do sistema complemento, a fim de impedir a formação da C3 convertase. Já a CD59 atua no complexo de ataque à membrana (MAC), impedindo a formação do poro e a destruição da célula. A ausência dessas duas proteínas torna as hemácias mais frágeis e suscetíveis à hemólise, as plaquetas mais propícias à ativação e os granulócitos ineficientes no controle trombótico (Peacock-Young *et al.*, 2018).

Um dos principais fatores envolvidos no aumento do risco trombótico é a ativação plaquetária, que pode ser alimentada por vários mecanismos. Além da ausência de proteínas mediadoras do complemento (CD55 e CD59), as plaquetas também podem ser ativadas pela redução dos níveis de óxido nítrico (NO) plasmático, pelo aumento de hemoglobina livre e espécies reativas de oxigênio, pela disfunção endotelial dos vasos e pela ativação da trombina. Exceto a ausência das GPI-APs, todos os outros fatores citados são consequências, diretas ou indiretas, do processo de hemólise intravascular. Uma vez ativadas, as plaquetas sofrem alterações metabólicas e morfológicas e podem, assim, desempenhar suas funções na formação de trombos (Hill; Kelly; Hillmen, 2013).

Observou-se no estudo de Vega *et al.* (2006), que plaquetas de indivíduos com HPN são mais sensíveis à ativação, que a redução de proteínas ancoradas na membrana não prejudicam sua capacidade de adesão e que suas alterações estruturais estão relacionadas ao aumento da expressão de P-selectina, sugerindo seu uso como um parâmetro seguro para o

reconhecer a hiperatividade plaquetária e o aumento de riscos trombóticos. No entanto, as plaquetas na HPN também podem ser encontradas em um estado hiporreativo, sugerindo uma resposta de compensação à hiperatividade crônica, comumente encontrada na doença (Hill; Kelly; Hillmen, 2013).

De acordo com Hill; Kelly; Hillmen (2013), as plaquetas podem agir na ativação de mais trombina (responsável pela geração de fibrina), interagir com neutrófilos para aumentar a liberação de nucleossomos e serino-proteases (que juntas ativam o fator X, intensificando a coagulação) e realizar os processos de adesão e agregação, intensificando a atividade trombótica. Além disso, as plaquetas formam micropartículas e aumentam a expressão de P-selectina, estimulando ainda mais o sistema complemento (Peacock -Young *et al.*, 2018).

A hemólise intravascular, responsável por grande porção dos sintomas e complicações na doença, é, ainda, fonte de muitos processos envolvidos no aumento da atividade pró-coagulante, cada um com mecanismos próprios. Esse processo ocorre, sobretudo, pela ausência das proteínas CD55 e CD59 na membrana eritrocitária, culminando na ativação do complemento, formação do MAC e lise. Conforme Hill; Kelly; Hillmen (2013), a hemólise promove a ativação plaquetária, tromboflebite, consumo do óxido nítrico (NO), inibição da enzima ADAMTS13, ativação das células endoteliais, aumento de fator tecidual e acúmulo de espécies reativas de oxigênio. Com isso, cada fator enumerado contribui de alguma forma para intensificar a geração de trombos.

Após a hemólise, muita hemoglobina é liberada e reage com o NO irreversivelmente, reduzindo seus níveis plasmáticos drasticamente. Dado que essa molécula é uma importante reguladora da atividade plaquetária, do endotélio vascular e da cascata de coagulação, sua depleção desequilibra todos esses elementos e favorece, pois, a trombose (Peacock-Young *et al.*, 2018). O consumo de NO também desencadeia vasoconstrição, expressão aumentada de moléculas de adesão, e proteínas pró-coagulantes, aumento dos níveis de cálcio, proliferação endotelial e elevação de moléculas pró-inflamatórias (Hill; Kelly; Hillmen, 2013).

Além disso, a liberação de hemoglobina (Hb) livre no plasma é responsável pela inibição da enzima ADAMTS13, uma metaloprotease responsável por clivar o fator de von Willebrand, evitando, assim, a formação de coágulos. O grupo heme, presente na Hb, também apresenta toxicidade e, quando livre, está envolvido em mecanismos de agressão ao endotélio, formação de radicais livres e espécies reativas de oxigênio, o que culmina na inflamação vascular e propicia a formação de trombos (Hill; Kelly; Hillmen, 2013).

A disfunção endotelial é mais um dos importantes processos na HPN que intensificam os riscos de complicações, como a trombose. Ela ocorre a partir da agressão à

parede vascular por meio de diversos elementos. Os produtos diretos da hemólise (Hb livre e heme) e suas consequências (depleção de NO, geração de radicais livres e espécies reativas de oxigênio), o aumento de citocinas e a ativação do complemento, agem no próprio endotélio vascular, induzindo a liberação de fator tecidual (TF), fator de von Willebrand (VWF), P-selectina e moléculas de adesão (Hill; Kelly; Hillmen, 2013; Peacock-Young *et al.*, 2018). Todos os fatores citados propiciam a adesão e formação de tampões plaquetários, bem como a formação dos trombos.

Além dos mecanismos expostos, os leucócitos também são atores relevantes na fisiopatologia da doença. De acordo com o estudo de Peacock-Young *et al.* (2018), os neutrófilos produzem as armadilhas extracelulares (NETs), estruturas formadas por cromatina, histonas e diversas enzimas, em resposta às espécies reativas de oxigênio. Ademais, esses elementos podem estar presentes na composição dos trombos e estão associados aos processos que levam à sua formação, bem como à ativação dos trombócitos. O mesmo artigo demonstra, ainda, que a ativação leucocitária pelo sistema complemento estimula a liberação do fator tecidual e do inibidor do ativador do plasminogênio, o que prejudica a fibrinólise e intensifica o estado trombótico no paciente.

O sistema fibrinolítico é um componente essencial para a manutenção da saúde vascular, pois é responsável pelo controle da coagulação através da degradação dos coágulos de fibrina pela plasmina. A plasmina se torna ativa somente após a clivagem do plasminogênio (seu precursor), pela ação do ativador de plasminogênio tipo uroquinase (uPA), ou simplesmente plasminogênio uroquinase, enzima presente na membrana de células como os leucócitos. Conforme demonstrado por Hill; Kelly; Hillmen (2013), para que a uPA exerça sua função, ela deve estar ligada ao seu receptor, o uPAR (também chamado de CD87), que é uma GPI-AP. No entanto, os pacientes com HPN possuem deficiência de GPI e suas proteínas. Sendo assim, esses indivíduos apresentam um sistema fibrinolítico insuficiente e a coagulação não é controlada adequadamente, consolidando ainda mais o estado pró-trombótico.

Consoante Hill; Kelly; Hillmen (2013) e Peacock-Young *et al.* (2018), a ausência de outras GPI-APs, ou proteínas associadas, também pode culminar na intensificação da trombose, como é o caso do heparan sulfato, inibidor da via do fator tecidual (TFPI) e proteinase-3 (PR3). O heparan sulfato é um importante regulador da coagulação, presente em diversos tipos de células, que age através da inativação da trombina e do fator Xa. O TFPI é um poderoso anticoagulante liberado pelas células endoteliais, monócitos e até plaquetas, e atua por meio da inibição de fatores da coagulação e fator tecidual. Sua expressão é afetada

não só pela ausência de GPI, mas pelo aumento de citocinas na circulação. A PR3 é uma proteína presente nos granulócitos que se conecta indiretamente ao GPI através da ligação ao cofator NB1 (CD177), que é uma GPI-AP, e impede a formação de trombos pela clivagem do receptor de trombina.

De acordo com Hill; Kelly; Hillmen (2013), há um conjunto de mecanismos pró-coagulantes independentes de hemólise mediados pelo sistema complemento que pode ser o responsável majoritário pela intensificação do estado inflamatório no interior dos vasos. A proteína C5a atua aumentando a expressão de citocinas (IL-6, IL-8 e fator de necrose tumoral alfa), culminando na inibição da ADAMTS13 e na produção de trombina. A ativação do complemento também atinge a formação do MAC na membrana das hemácias, leucócitos e plaquetas, ocasionando lise, formação de micropartículas (ou vesículas extracelulares) derivadas dessas células e aumento do fator tecidual e do inibidor do ativador do plasminogênio.

Ao longo dos anos, as vesículas extracelulares (EVs) – derivadas de leucócitos, hemácias, plaquetas e endotélio – têm demonstrado um papel significativo na origem dos eventos trombóticos na HPN e sua geração é resultado, sobretudo, da formação do MAC e da inflamação vascular. No estudo desenvolvido por Devalet *et al.* (2019), observou-se uma redução no número de EVs plaquetárias em pacientes com HPN após tratamento com eculizumabe em comparação com indivíduos não tratados. Segundo Hill; Kelly; Hillmen (2013), essas micropartículas exibem intensa atividade pró-coagulante *in vitro* e encontram-se elevadas em pacientes com HPN. De acordo com Peacock-Young *et al.* (2018), as vesículas eritrocitárias não demonstram forte relação com a trombose, mas as plaquetárias são capazes de estimular o processo de coagulação, podendo apresentar atividade pró-coagulante de 50 a 100 vezes maior que as plaquetas ativadas e também expressam P-selectina, ativando ainda mais o sistema complemento. O estudo também revelou a importância das vesículas endoteliais, ricas em fator tecidual, e o papel das micropartículas derivadas de monócitos na produção de coágulos de fibrina mais densos e estáveis.

Os processos infecciosos são comumente conhecidos por alterar o equilíbrio de um organismo e exacerbar a manifestação de doenças pré-existentes, o que pode ser observado também na HPN. Conforme Hill; Kelly; Hillmen (2013), a presença de infecções pode amplificar a trombose através do aumento da hemólise e da ativação do complemento, bem como pela expressão elevada de citocinas e quimiocinas que, entre outras ações, promove a liberação de fator tecidual.

Por fim, um significativo mecanismo de retroalimentação positiva merece destaque e sua evolução pode ser associada ao grave prognóstico da doença. De acordo com Hill; Kelly; Hillmen (2013), a própria trombose também é capaz de aumentar o estado pró-trombótico no indivíduo. Isso pode ser explicado pela descoberta de uma nova via de ativação do sistema complemento, na qual a trombina cliva e estimula as proteínas C3 e C5. Sendo assim, a própria trombose ativa o complemento, tornando o processo cíclico e, muitas vezes, incontrolável.

6.3 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DO TROMBOEMBOLISMO NA HPN

As manifestações da trombose e seu prognóstico podem variar bastante em função do local onde ocorre, podendo estar presente nas mais diversas partes do organismo. Cerca de 85% desses episódios possuem formação venosa, enquanto a minoria, por volta de 15%, são de origem arterial. Entre as áreas mais comuns estão as veias intra-abdominais e cerebrais, no entanto, os rins, a pele, o coração, os pulmões e os membros inferiores também podem ser acometidos (Hill; Kelly; Hillmen, 2013; Peacock-Young *et al.*, 2018).

Para Hill; Kelly; Hillmen (2013), mais de 20% dos casos de trombose na HPN acometem mais de um local simultaneamente. A trombose no fígado também é frequente, podendo atingir até um quarto dos pacientes e ocasionar a síndrome de Budd-Chiari (SBC), que consiste na obstrução da veia hepática, impedindo o efluxo hepático e ocasionando problemas no órgão. Pacientes com HPN e SBC possuem uma apresentação clínica variável, podem ser assintomáticos ou relatar fortes dores abdominais e até mesmo insuficiência hepática, levando ao óbito. Esses indivíduos (com HPN e SBC) têm um risco aumentado de desenvolver trombose da veia esplênica (47%) quando comparados aos pacientes diagnosticados apenas com SBC de etiologia diversa (10%). Isso destaca a importância de incluir os indivíduos com a síndrome em investigação para HPN (Hill; Kelly; Hillmen, 2013).

Dos 17 casos de trombose analisados no estudo de Azambuja *et al.* (2015), nove possuíam o tipo II da doença, seis apresentavam a HPN clássica e apenas dois com o tipo III (subclínico). Dentre eles, houveram cinco casos de trombose venosa profunda (TVP), cinco tromboes abdominais, cinco tromboes arteriais com acidente vascular encefálico (AVE) associado, uma trombose venosa cerebral (TVC) e uma trombose da veia renal. Dos pacientes estudados, 11 (64,7%) sobreviveram e seis (32,3%) chegaram a óbito devido à ocorrência, dois por trombose mesentérica e 4 por tromboembolismo pulmonar.

De acordo com o trabalho desenvolvido por Devalet *et al.* (2019), dentre os 17 pacientes estudados, apenas seis apresentaram histórico de trombose. Os relatos foram compostos por dois casos de trombose da veia porta (com um deles manifestando tromboembolismo pulmonar associado), dois de trombose venosa profunda e dois de trombose venosa superficial.

No que se refere ao acometimento neurológico, a causa mais comum é a trombose do seio sagital, um tipo de TVC com alta mortalidade (superior a 33%) que pode evoluir para AVE hemorrágico e apresenta sintomas diversos, como fortes dores, perda de consciência, convulsões e vômitos (Hill; Kelly; Hillmen, 2013). O estudo de Gervasi *et al.* (2017) analisou um caso de AVE ocasionado por trombose na artéria cerebral média esquerda em jovem com HPN, um outro tipo de implicação neurológica mais rara, porém, com severas consequências. A paciente apresentou visão embaçada, desconforto, vômitos, fadiga, dificuldades na fala, desorientação e perda de consciência, evoluindo para hemiplegia direita, afasia e coma.

6.4 ACHADOS CLÍNICO-LABORATORIAIS E PERFIL DOS PACIENTES

A hemoglobinúria paroxística noturna é um distúrbio de etiologia pouco esclarecida. Por isso, os estudos procuram evidenciar cada vez mais relações causais entre diversos fatores, antecedentes ou presentes, nos indivíduos – trombofilias, tamanho dos clones, histórico – e a tendência ao estado trombótico na doença.

Nesse sentido, para Hill; Kelly; Hillmen (2013), não há correlação entre a trombose na HPN e as trombofilias hereditárias preexistentes, porém pode haver uma relação desses eventos com os anticorpos antifosfolipídeos, cuja quantidade está aumentada em pacientes com o distúrbio, quando comparados com indivíduos saudáveis. O estudo sugere, ainda, uma forte ligação entre o alto número de clones HPN (células mutadas, GPI-) e as complicações trombóticas, apesar desses eventos estarem bastante presentes também nos indivíduos com baixas taxas de clones.

O trabalho de Peacock-Young *et al.* (2018), também apresenta uma relação entre o tamanho dos clones e os eventos trombóticos, podendo sugerir muito sobre o prognóstico da doença. Dessa forma, pacientes com clone HPN de granulócitos maior que 50% exibiram um risco de desenvolver trombos em até 10 anos de cerca de 44%, enquanto os pacientes com clone menor que 50% demonstraram um risco de apenas 5,8%.

De acordo com o estudo de Azambuja *et al.* (2015), os maiores clones de HPN foram encontrados em células dos pacientes com ocorrência de eventos trombóticos e que

apresentavam o subtipo clássico da doença, ao passo que clones menores foram associados aos indivíduos com HPN acrescida de aplasia medular.

Além disso, observou-se que dentre os 103 pacientes acompanhados, 17 exibiram trombose durante o estudo. Desses, seis possuíam o subtipo clássico, nove pertenciam ao grupo da HPN com aplasia e apenas dois tinham a forma subclínica da doença. Assim, o ensaio demonstrou uma maior tendência à hemólise, hemoglobinúria e trombose nas formas hemolíticas da doença (HPN clássica e HPN com aplasia) em comparação com a HPN subclínica (Azambuja *et al.*, 2015).

O ensaio de Araten *et al.* (2020), encontrou uma média da proporção de clones de HPN de 21% em hemácias, 84% em granulócitos e 70% em plaquetas no grupo sem histórico de trombose, enquanto nos pacientes com histórico a média foi de 16% em hemácias, 84% em granulócitos e 77% em plaquetas. Esses dados foram de encontro a alguns estudos na literatura que relatam forte ligação entre o clone de HPN, especialmente em granulócitos, e o risco trombótico aumentado. No entanto, acredita-se que os resultados não refletem os valores reais dos pacientes devido ao uso de terapia crônica para controle da doença.

No caso relatado por Gervasi *et al.* (2017), a paciente (14 anos de idade), sem nenhum histórico de intercorrências médicas durante a infância, começou a apresentar quadros recorrentes de palidez, cansaço e perda de peso, sintomatologia típica da anemia. Inicialmente, a jovem recebeu o diagnóstico de anemia carencial causada pela menarca. No entanto, mesmo após repetidas internações, tratamentos e até transfusões, o quadro se mostrou persistente.

De acordo com Gervasi *et al.* (2017) os achados laboratoriais da paciente foram pancitopenia (anemia, leucopenia e trombocitopenia), com uma hemoglobina que permanecia entre 6 e 10g/dL, bilirrubina normal e direta normais, ferritina baixa (14 µg/L no primeiro exame), reticulócitos altos, níveis muito elevados de LDH (chegando a 3550 U/L), haptoglobina baixa (8mg/dL), presença de Hb na urina (hemoglobinúria) e a medula óssea apresentou celularidade normal sem células anômalas. Após a grave ocorrência neurológica (derrame cerebral) a investigação para HPN foi realizada, na qual foi encontrado um extenso clone em leucócitos e reduzido nas hemácias. Ela apresentou uma proporção de 93,7% dos leucócitos, 95,2% dos monócitos e apenas 1,5% dos eritrócitos afetados pela doença.

O grupo estudado por Devalet *et al.* (2019) foi composto por 17 indivíduos com HPN, sendo 12 mulheres e 5 homens, com idades entre 22 e 79 anos (média de 44 anos). Eles revelaram um clone médio de 93% em neutrófilos (variando de 22,5 a 99,7%), 92,5% em monócitos (de 0,1 a 99,8%) e 41,4% em hemácias (de 4,1 a 68,1%). Os pacientes

apresentaram valores reduzidos de plaquetas, linfócitos, hemoglobina, haptoglobina e tempo de coagulação, ao passo que os reticulócitos, LDH, hemoglobina livre e D-dímero estavam aumentados, em comparação aos respectivos controles.

A análise de Azambuja *et al.* (2015) estudou 103 pacientes, dos quais 52 eram mulheres e 51 homens, com idades variando de 5 a 62 anos (média de 24 anos). Os sintomas apresentados foram fadiga (98 indivíduos), episódios de infecção (48), hemoglobinúria (19), hemorragia, equimoses ou petéquias (33), dores abdominais (33), icterícia (26), insuficiência renal (14), hemólise (24) e trombose (17). Apenas quatro pacientes exibiram anemia isolada, enquanto 12 desenvolveram anemia com plaquetopenia, quatro relataram anemia com neutropenia e 83 manifestaram pancitopenia.

O mesmo trabalho, com relação à medula óssea, demonstrou 52 casos de aplasia, 38 de hipocelularidade e 13 de hiper celularidade. Entre os parâmetros laboratoriais, encontrou-se as seguintes médias (mínimos e máximos entre parênteses): Hb 8,8g/dL (3,8–14,5), leucócitos $2970 \times 10^3/\mu\text{L}$ (1140–8800), plaquetas $25000/\text{mm}^3$ (2000–294000) e LDH 328,5U/L (30–7690). Sobre os clones, relatou-se taxas de 0 a 100% em neutrófilos e 0 a 92,2% em hemácias, porém os maiores registros foram encontrados em pacientes com o subtipo clássico ou com histórico de eventos trombóticos.

O estudo sobre as plaquetas, de Vega *et al.* (2006), analisou 22 indivíduos, nove mulheres e 13 homens, com idades entre 24 e 74 anos, divididos em dois grupos: grupo 1 (14 pacientes) com plaquetas semelhantes ao grupo controle (indivíduos saudáveis) e grupo 2 (8 pacientes) com plaquetas morfologicamente alteradas. Sobre as manifestações iniciais, seis demonstraram anemia isolada, enquanto os demais exibiram anemia associada a urina escura (6 pacientes), cefaléia (3), hemorragia (3), pancitopenia (2) ou cefaléia e dor abdominal (2).

Ao exame laboratorial, o ensaio de Vega *et al.* (2006) obteve 13 pacientes com Hb baixa, 18 com reticulócitos altos, 12 com leucopenia, 6 com trombocitopenia e 18 com altos níveis de LDH. O grupo 1 apresentou medianas de 8,7% de reticulócitos e 179500 plaquetas/ mm^3 , a média de LDH foi 3441,6U/L. Já o grupo 2 exibiu as medianas de 3,5% de reticulócitos e 173500 plaquetas/ mm^3 , com uma média de LDH de 1224,5U/L. O grupo 2 demonstrou valores maiores de P-selectina nas plaquetas (quase o dobro) em relação ao primeiro grupo. O tamanho dos clones de HPN das células dos pacientes analisados não foi relatado no artigo.

Sendo assim, apesar da manifestação multifatorial e complexa, é possível inferir uma tendência nos achados da doença. O perfil dos pacientes é altamente variável, bem como o

tamanho do clone de HPN, no entanto os sintomas e complicações da doença costumam ser semelhantes, independente da faixa etária, sexo e até mesmo do histórico de cada um.

6.5 TERAPIA E MANEJO DA DOENÇA

Conforme discutido anteriormente, a hemoglobinúria paroxística noturna pode evoluir com complicações de alta gravidade e a falta de um diagnóstico ágil e um tratamento assertivo podem, muitas vezes, custar a vida dos pacientes. Nesse sentido, a terapia disponível e amplamente adotada no momento são os inibidores da proteína C5 do complemento – dos quais o eculizumabe é o mais utilizado – em associação aos anticoagulantes (para controle de eventos tromboembólicos) e aos imunossupressores, especialmente pela forte relação com distúrbios medulares. Em muitos casos também pode ser necessário realizar transfusões ou até mesmo transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH), dependendo da gravidade do paciente e das complicações envolvidas.

Para Hill; Kelly; Hillmen (2013), o controle de eventos trombóticos agudos pode ser realizado a partir da anticoagulação por heparina ou antagonistas da vitamina K (quando não há nenhuma contraindicação), associada ao inibidor da C5, o eculizumabe. O estudo também reforça a importância de haver um equilíbrio entre o risco de sangramento e o tratamento da trombose com o uso dos anticoagulantes.

Nesse sentido, Devalet *et al.* (2019) constataram a eficiência do eculizumabe no controle do distúrbio. Dentre os 17 indivíduos analisados, sete eram tratados com o medicamento e mais quatro iniciaram a terapia ao longo do estudo. Além disso, três pacientes fizeram uso de corticosteróides, dois de ácido acetilsalicílico e três de antagonistas da vitamina K. Os pacientes tratados com eculizumabe demonstraram redução significativa na quantidade de EVs plaquetárias e nos níveis de D-dímero, de LDH e de reticulócitos, em comparação com não tratados, demonstrando claro controle da hemólise. Além disso, houve um aumento importante no hematócrito, na Hb e no tempo de coagulação. O tamanho dos clones não foi consideravelmente afetado em neutrófilos e monócitos, no entanto mostrou um aumento em eritrócitos.

No estudo de Azambuja *et al.* (2015), houve variação nos tratamentos em função do subtipo da doença. Cerca de 81,9% dos pacientes (todos com HPN associada a algum grau de aplasia medular) receberam terapia imunossupressora ciclosporina A (com ou sem corticosteróides) e 12,7% utilizaram imunossupressão por globulina antitimócito. Houve

também TCTH em 27 pacientes (28,7%). O eculizumabe foi pouco utilizado (somente em cinco pacientes) porque foi incorporado próximo ao final do estudo, durante o ano de 2010.

Araten *et al.* (2019), em um total de 50 pacientes analisados, relataram o uso de eculizumabe por 27 deles, enquanto 19 utilizaram algum tipo de anticoagulação e três foram conduzidos ao TCTH. De 31 indivíduos com clone de HPN em granulócitos maior que 50%, 20 faziam uso de eculizumabe ou anticoagulante e não tiveram nenhum evento trombótico, um desenvolveu um quadro de trombose arterial e venosa mesmo com uso de varfarina, oito passaram a utilizar anticoagulação ou eculizumabe apenas após a primeira ocorrência de trombose e dois não apresentaram casos de trombose apesar da ausência de terapia.

Ainda no mesmo estudo, dois pacientes apresentaram trombose venosa profunda apesar do uso de terapias. Um caso ocorreu imediatamente após um parto (mesmo com uso de eculizumabe e aspirina), enquanto o outro sucedeu uma cirurgia para fratura de quadril (paciente usava apenas eculizumabe). Conforme exposto na seção 5.5, a proporção média de clones de HPN presentes nos indivíduos do estudo não apresentou forte relação com o risco trombótico, pois os valores foram semelhantes entre os grupos com e sem histórico de trombose. Acredita-se que esse resultado se deve ao uso de terapias, em especial o eculizumabe, que podem ter influenciado os exames e afetado o valor preditivo para riscos trombóticos, o que sugere um bom controle das complicações da doença por parte dos tratamentos conhecidos (Araten *et al.* 2019).

No caso descrito por Gervasi *et al.* (2017), durante a primeira intercorrência (anemia, leucopenia e trombocitopenia), a paciente recebeu suplementação de ferro, vitamina B12 e ácido fólico durante três meses, devido ao diagnóstico equivocado de anemia carencial causada pela menarca, mas não obteve melhora. Contrariamente, houve piora da anemia, o que levou à primeira transfusão. No entanto, a melhora foi momentânea, pois no mês seguinte houve um agravamento do quadro com uma anemia ainda mais severa, o que levou a paciente a novas transfusões e exames.

Infelizmente, após mais um mês, a paciente deu entrada na emergência apresentando um acidente vascular encefálico e uma série de complicações neurológicas. Dessa vez, recebeu heparina de baixo peso molecular por via intravenosa na emergência e foi encaminhada para uma nova investigação, chegando ao diagnóstico de HPN. Então, iniciou-se o tratamento com heparina, esteróides, vitamina B12 e ácido fólico. No mês seguinte, começou o uso de varfarina (anticoagulante oral) e eculizumabe regularmente, demonstrando resultados satisfatórios. Com isso, não houve mais registros de eventos trombóticos e a paciente não necessitou de novas transfusões, o que evidencia a eficiência da associação

(anticoagulação e eculizumabe) na contenção da hemólise e do risco trombótico (Gervasi *et al.*, 2017).

Assim, devido à natureza heterogênea e multifatorial, a HPN pode ser difícil de gerenciar e apresenta alguns relatos de agravamento, e até mesmo óbito, ainda que sob acompanhamento e tratamento adequados. No entanto, o uso do inibidor de C5 (eculizumabe) associado aos anticoagulantes, apresenta bons resultados e é amplamente validado pela literatura como uma terapia segura e eficaz no controle das principais complicações do distúrbio. Além disso, o uso de fármacos imunossupressores também é bastante relatado e apresenta-se como um possível auxílio nos casos relacionados a disfunções medulares.

7 CONCLUSÕES

Diante do exposto, pode-se inferir que a hemoglobínúria paroxística noturna (HPN) é um distúrbio que possui alta complexidade e processos, por vezes, ainda um pouco enigmáticos. Assim, muito resta a ser investigado e descoberto, especialmente no que tange ao desenvolvimento dos eventos trombóticos, suas repercussões na saúde dos pacientes e o grau de envolvimento de cada fator preexistente nos mecanismos da doença.

Nesse sentido, é notável a urgente necessidade de novas pesquisas sobre o tema, evidenciada, sobretudo, ao constatar a pequena quantidade de artigos disponíveis para compor a amostra do presente estudo bibliográfico. Esse achado sugere que há um longo caminho a ser percorrido, intencionando uma maior disponibilidade de informações ao público e aos profissionais, além de um suporte mais adequado a cada paciente com HPN.

Entretanto, os expressivos avanços no conhecimento acerca da origem e fisiopatologia do distúrbio também devem ser considerados, pois têm permitido uma compreensão cada vez mais ampla do estado pró-trombótico comumente encontrado na HPN. Tudo isso serve de fundamento na busca por novos métodos de diagnóstico e terapias alternativas, além de auxiliar na escolha do tratamento por parte dos profissionais.

Conforme discutido, a trombose pode afetar significativamente a clínica dos indivíduos acometidos pela HPN, podendo evoluir para o óbito, em quadros mais graves. Os resultados são variados e dependem da região e intensidade da ocorrência, levando ao acometimento de membros, órgãos e até mesmo do encéfalo.

A partir da análise dos artigos encontrados, ratificou-se também o papel dos elementos centrais – a hemólise, os leucócitos, o sistema complemento e a ativação plaquetária – na intensificação dos mecanismos responsáveis pela trombose, bem como a relação de cada fator com o tamanho do clone de HPN nos diversos tipos de células dos indivíduos. Com isso, sabe-se que esses fatores podem iniciar um processo de retroalimentação positiva, no qual seus subprodutos reforçam ainda mais a ocorrência de toda a cascata novamente, fortalecendo cada vez mais o estado trombótico.

Conforme os dados apresentados, não houve consenso sobre a ligação entre o tamanho do clone de HPN e o desfecho da doença ou o risco trombótico. A maioria dos estudos associou a presença de maiores clones, de modo especial em leucócitos, ao aumento do risco trombótico, enquanto apenas um demonstrou não haver forte relação. No entanto, acredita-se que o resultado destoante ocorreu, possivelmente, devido ao uso de terapia (como eculizumabe) que afetou os resultados.

Além disso, com base na literatura analisada, o eculizumabe, geralmente associado à anticoagulação, tem demonstrado ser um importante aliado no manejo do distúrbio. O uso apresenta resultados consistentes, com redução drástica na formação de trombos, aumento relevante na taxa de sobrevivência e controle das complicações mais graves, melhorando a qualidade de vida dos indivíduos diagnosticados.

Portanto, espera-se que a revisão presente possa fomentar o interesse na busca por novas respostas sobre a hemoglobinúria paroxística noturna, uma doença rara mas bastante relevante, tendo em vista os riscos decorrentes. Destaca-se, então, a importância da realização de pesquisas mais aprofundadas, contemplando algumas das limitações apresentadas pelos estudos existentes e esclarecendo o grau de contribuição de cada elemento no desenvolvimento de complicações trombóticas na doença.

Conforme observado, a celeridade no processo de diagnóstico é essencial e pode preservar os pacientes de graves complicações, aumentando a taxa de sobrevivência na doença. Dessa forma, estudos futuros também podem ajudar a tornar o diagnóstico mais ágil e eficiente, evitando longa exposição aos riscos que a HPN envolve, como a formação de trombos, e prolongando a vida dos indivíduos acometidos.

REFERÊNCIAS

ARATEN, D. J. *et al.* Analysis of platelets by flow cytometry in patients with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH). **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, v. 80, p. 102372, fev. 2020. Disponível em: <<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/mdl-31710879>>. Acesso em: 20 set. 2024.

ASTER, R. H.; ENRIGHT, S. E. A platelet and granulocyte membrane defect in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: usefulness for the detection of platelet antibodies. **Journal of Clinical Investigation**, v. 48, n. 7, p. 1199–1210, 1 Jul. 1969. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC322341/>>. Acesso em: 17 abr. 2024.

AZAMBUJA, A. P. *et al.* Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone in 103 Brazilian patients: diagnosis and classification. *Revista Brasileira De Hematologia E Hemoterapia*, v. 37, n. 2, p. 90–97, 2015. Disponível em: <<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-746093>>. Acesso em: 20 set. 2024.

BRODSKY, R. A. How I treat paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. **Blood**, v. 137, n. 10, p. 1304–1309, 11 mar. 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33512400/>>. Acesso em: 17 abr. 2024.

CLARK, D. A. *et al.* The kidneys in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. **Blood**, v. 57, n. 1, p. 83–89, 1 jan. 1981. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7448417/>>. Acesso em: 17 abr. 2024.

CROSBY, W. H. Historical Review: Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. **Blood**, v. 6, n. 3, p. 270–284, 1 mar. 1951. Disponível em: <<https://ashpublications.org/blood/article/6/3/270/7080/Historical-Review-Paroxysmal-Nocturnal>>. Acesso em: 17 abr. 2024.

DAVITZ, M. A.; LOW, M. G.; NUSSENZWEIG, V. Release of decay-accelerating factor (DAF) from the cell membrane by phosphatidylinositol-specific phospholipase C (PIPLC). Selective modification of a complement regulatory protein. **Journal of Experimental Medicine**, v. 163, n. 5, p. 1150–1161, 1 maio 1986. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2422313/>>. Acesso em: 17 abr. 2024.

DEVALET, B. *et al.* Prospective and comparative study of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria patients treated or not by eculizumab. **Medicine**, v. 98, n. 27, p. e16164, jul. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31277120/>>. Acesso em: 20 set. 2024.

GERVASI, F. *et al.* Cerebral stroke in a teenage girl with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. **Hematology Reports**, v. 9, n. 2, p. 7012–7012, 1 jun. 2017. Disponível em: <<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/mdl-28626543>>. Acesso em: 20 set. 2024.

HILL, A.; KELLY, R. J.; HILLMEN, P. Thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. **Blood**, v. 121, n. 25, p. 4985–4996, 20 jun. 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23610373/>>. Acesso em: 20 set. 2024.

HOLGUIN, M. H. *et al.* Isolation and characterization of a membrane protein from normal human erythrocytes that inhibits reactive lysis of the erythrocytes of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. **Journal of Clinical Investigation**, v. 84, n. 1, p. 7–17, 1 jul. 1989. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2738160/>>. Acesso em: 17 abr. 2024.

KAWAGOE, K. *et al.* Glycosylphosphatidylinositol-anchor-deficient mice: implications for clonal dominance of mutant cells in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. **Blood**, v. 87, n. 9, p. 3600–3606, 1 maio 1996. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8611683/>>. Acesso em: 17 abr. 2024.

KUNSTLING, T. R.; ROSSE, W. F. Erythrocyte acetylcholinesterase deficiency in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH). A comparison of the complement-sensitive and insensitive populations. **Blood**, v. 33, n. 4, p. 607–616, 1 abr. 1969. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5776206/>>. Acesso em: 17 abr. 2024.

LOW, M. G.; ZILVERSMIT, D. B. Role of phosphatidylinositol in attachment of alkaline phosphatase to membranes. **Biochemistry**, v. 19, n. 17, p. 3913–3918, 19 ago. 1980. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7407077/>>. Acesso em: 17 abr. 2024.

MIYATA, T. *et al.* The Cloning of PIG-A, a Component in the Early Step of GPI-Anchor Biosynthesis. **Science**, v. 259, n. 5099, p. 1318–1320, 26 fev. 1993. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7680492/>>. Acesso em: 17 abr. 2024.

NAKAKUMA, H. Mechanism of intravascular hemolysis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH). **American Journal of Hematology**, 53: 22-29. Disponível em: <[https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1096-8652\(199609\)53:1%3C22::AID-AJH5%3E3.0.CO;2-7](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1096-8652(199609)53:1%3C22::AID-AJH5%3E3.0.CO;2-7)>. Acesso em: 17 abr. 2024.

NICHOLSON-WELLER, A. *et al.* Affected erythrocytes of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria are deficient in the complement regulatory protein, decay accelerating factor. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 80, n. 16, p. 5066–5070, 1 ago. 1983. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6576376/>>. Acesso em: 17 abr. 2024.

NICHOLSON-WELLER, A. *et al.* Isolation of a human erythrocyte membrane glycoprotein with decay-accelerating activity for C3 convertases of the complement system. **The Journal of Immunology**, v. 129, n. 1, p. 184–189, 1 Jul. 1982. Disponível em: <<https://journals.aai.org/jimmunol/article-abstract/129/1/184/13829/Isolation-of-a-human-erythrocyte-membrane?redirectedFrom=fulltext>>. Acesso em: 17 abr. 2024.

NISHIMURA, J.; MURAKAMI, Y.; KINOSHITA, T. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: An acquired genetic disease. **American Journal of Hematology**, v. 62, n. 3, p. 175–182, 1 nov. 1999. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10539884/>>. Acesso em: 17 abr. 2024.

PACKMAN, C. H. *et al.* Complement Lysis of Human Erythrocytes. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 64, n. 2, p. 428–433, 1 ago. 1979. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/457861/>>. Acesso em: 17 abr. 2024.

PAULICK, M. G.; BERTOZZI, C. R. The Glycosylphosphatidylinositol Anchor: A Complex Membrane-Anchoring Structure for Proteins. **Biochemistry**, v. 47, n. 27, p. 6991–7000, jul. 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2663890/>>. Acesso em: 17 abr. 2024.

PARKER, C. Historical aspects of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: “defining the disease”. **British Journal of Haematology**, v. 117, n. 1, p. 3–22, 25 mar. 2002. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11918528/>>. Acesso em: 17 abr. 2024.

PARKER, C. J. Molecular basis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. **Stem Cells (Dayton, Ohio)**, v. 14, n. 4, p. 396–411, 1 jul. 1996. Disponível em: <<https://stemcells.journals.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/stem.140396>>. Acesso em: 17 abr. 2024.

PARKER, C. J. Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: An Historical Overview. **Hematology**, v. 2008, n. 1, p. 93–103, 1 jan. 2008. Disponível em: <<https://ashpublications.org/hematology/article/2008/1/93/95843/Paroxysmal-Nocturnal-Hemoglobinuria-An-Historical>>. Acesso em: 17 abr. 2024.

PEACOCK-YOUNG, B. *et al.* The prothrombotic state in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a multifaceted source. **Haematologica**, v. 103, n. 1, p. 9–17, 15 dez. 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29246924/>>. Acesso em: 20 set. 2024.

PREIS, M.; LOWREY, C. H. Laboratory tests for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. **American Journal of Hematology**, v. 89, n. 3, p. 339–341, 27 fev. 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24127129/>>. Acesso em: 17 abr. 2024.

ROSSE, W. F. A Brief History of PNH. In: YOUNG, N. S.; MOSS, J. (org.). **PNH and the GPI-Linked Proteins**, p. 1–20, 1 jan. 2000. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/279416753_A_Brief_History_of_PNH>. Acesso em: 17 abr. 2024.

ROSSE, W. F.; DACIE, J. V. Immune lysis of normal human and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) red blood cells. I. The sensitivity of PNH red cells to lysis by complement and specific antibody. **Journal of Clinical Investigation**, v. 45, n. 5, p. 736–748, 1 maio 1966. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC292750/>>. Acesso em: 17 abr. 2024.

ROSSE, W.; WARE, R. The molecular basis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. **Blood**, v. 86, n. 9, p. 3277–3286, 1 nov. 1995. Disponível em: <<https://ashpublications.org/blood/article/86/9/3277/124256/The-molecular-basis-of-paroxysmal-nocturnal>>. Acesso em: 17 abr. 2024.

ROUAULT, T. A. *et al.* Differences in the terminal steps of complement lysis of normal and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria red cells. **Blood**, v. 51, n. 2, p. 325–330, 1 fev. 1978. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/620087/>>. Acesso em: 17 abr. 2024.

SAHIN, F. *et al.* Multidisciplinary clinical management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. **American Journal of Blood Research**, v. 5, n. 1, p. 1–9, 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26171279/>>. Acesso em: 17 abr. 2024.

SZLENDAK, U. *et al.* Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: advances in the understanding of pathophysiology, diagnosis, and treatment. **Pol Arch Intern Med**, v. 132, n. 16271, 06 jun 2022. Disponível em: <<https://www.mp.pl/paim/issue/article/16271/>>. Acesso em: 17 abr. 2024.

TAKAHASHI, M. *et al.* Deficient biosynthesis of N-acetylglucosaminyl-phosphatidylinositol, the first intermediate of glycosyl phosphatidylinositol anchor biosynthesis, in cell lines established from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. **Journal of Experimental Medicine**, v. 177, n. 2, p. 517–521, 1 fev. 1993. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8426120/>>. Acesso em: 17 abr. 2024.

URSI, E. **PREVENÇÃO DE LESÕES DE PELE NO PERIOPERATÓRIO: REVISÃO INTEGRATIVA DA LITERATURA**, Universidade de São Paulo - Escola de enfermagem de Ribeirão Preto. Ribeirão Preto. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/22/22132/tde-18072005-095456/publico/URSI_E_S.pdf>. Acesso em: 17 abr. 2024.

VEGA, S. *et al.* Estudio ultraestructural de las plaquetas de pacientes con hemoglobinuria paroxística nocturna. **Rev. invest. clín.**, v. 58, n. 5, p. 475-486, oct. 2006. Disponível em: <<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-632416>>. Acesso em: 20 set. 2024.

YOUNG, N. S.; CALADO, R. T.; SCHEINBERG, P. Current concepts in the pathophysiology and treatment of aplastic anemia. **Blood**, v. 108, n. 8, p. 2509–2519, 15 out. 2006. Disponível em: <<https://ashpublications.org/blood/article/108/8/2509/22551/Current-concepts-in-the-pathophysiology-and>>. Acesso em: 17 abr. 2024.