



Púrpura trombocitopénica trombótica congénita: da clínica ao gene

Marta Mariz¹, Isabel Oliveira¹, Sara Morais², Cristina Gonçalves², Marisol Guerra², Manuel Campos², José Barbot¹

1 - Hospital de Crianças Maria Pia, Porto, Portugal - Serviço de Hematologia Clínica

2 - Hospital Geral de Sto. António, Porto, Portugal - Serviço de Hematologia Clínica

Resumo

A púrpura trombocitopénica trombótica (PTT) é caracterizada por aglutinação plaquetária sistémica, principalmente a nível da microcirculação, com conseqüente trombocitopenia, hemólise microangiopática e isquemia oclusiva. O órgão alvo principal deste processo vasoclusivo é o cérebro, embora envolvimento renal e gastrointestinal possam estar presentes. É descrito o caso de uma jovem do sexo feminino com manifestações de PTT congénita desde os três anos de idade, tratada com infusões profiláticas regulares de plasma fresco congelado desde 1991, agora com a identificação da mutação responsável pela doença (2074C→T, gene *ADAMTS13*) e estudo genético da respectiva família. É feita ainda uma breve referência à evolução histórica do conhecimento desta entidade, que ocorreu em paralelo com a história do presente caso clínico.

Palavras-chave: púrpura trombocitopénica trombótica, anemia hemolítica crónica, *ADAMTS13*.

Acta Pediatr Port 2008;39(5):211-3

Congenital thrombotic thrombocytopenic purpura: from the clinic to the gene

Abstract

Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) is characterized by widespread platelet agglutination, mainly at the microcirculation level, which results in thrombocytopenia, microangiopathic hemolysis and occlusive ischemia. Target organs of this vasoocclusive process are the brain and, less often, the kidney and the gastrointestinal tract. The authors report the case of a young woman with clinical evidence of TTP since she was three years old, managed with prophylactic fresh-frozen plasma infusion therapy since 1991. Recently, the causative mutation was identified (2074C→T, *ADAMTS13* gene) and all family members were genetically characterized. A brief comment about the historical evolution of congenital TTP knowledge, which occurred simultaneously with this case report, is also added.

Keywords: thrombotic thrombocytopenic purpura, chronic hemolytic anemia, *ADAMTS13*.

Acta Pediatr Port 2008;39(5):211-3

Introdução

A púrpura trombocitopénica trombótica (PTT) caracteriza-se por aglutinação plaquetária sistémica, principalmente a nível da microcirculação, com conseqüente trombocitopenia, hemólise microangiopática e isquemia oclusiva. O órgão alvo principal deste processo vasoclusivo é o cérebro ou, menos frequentemente, o rim ou o sistema gastrointestinal. Trata-se, tal como o síndrome hemolítico-urémico (SHU), de uma microangiopatia trombótica.

A PTT congénita/familiar, é uma entidade cuja caracterização clínica e fisiopatológica emergiu de forma gradual nas últimas duas décadas. As suas manifestações são geralmente precoces, no período neonatal ou na primeira infância. O seu impacto, em termos de morbilidade e mortalidade, pode ser elevado, se não for contrariado pela perfusão de pequenas quantidades de plasma fresco congelado (PFC). A presença no plasma destes doentes de multímeros da molécula de factor de Von Willebrand (FvW) de muito alto peso molecular conduziu à suspeita do seu envolvimento na fisiopatologia da doença. A incapacidade de proteólise destes multímeros estaria, assim, na base da sua etiologia.

O culminar do processo de investigação conduziu à identificação da enzima proteolítica geneticamente deficitária, a *ADAMTS 13*, responsável pela clivagem das subunidades monoméricas do FvW.

A insuficiência desta acção enzimática resulta na persistência no plasma dos multímeros de FvW de muito alto peso molecular, de alta afinidade plaquetária, resultando daí a formação de microtrombos constituídos por FvW e plaquetas.

Esta descoberta conduziu à expectativa de que estaria encontrada uma fisiopatologia comum a uma grande proporção das microangiopatias trombóticas.

Recebido: 10.10.2007

Aceite: 04.09.2008

Correspondência:

José Barbot
Serviço de Hematologia Clínica
Hospital de Crianças Maria Pia
Rua da Boavista, 827
4050-111 Porto, Portugal
hematologia@hmariapia.min-saude.pt

Relato de Caso

Doente do sexo feminino, de 21 anos de idade, filha de pais consanguíneos em primeiro grau. Referência a um episódio de icterícia neonatal nas primeiras doze horas de vida com recurso a fototerapia. Foi enviada ao nosso hospital com dois anos de idade por crise de anemia hemolítica grave acompanhada por trombocitopenia, desencadeada por uma infecção respiratória. A gravidade da anemia obrigou a transfusão de concentrado eritrocitário, tendo a paciente tido alta sem diagnóstico etiológico. Nas consultas subsequentes, revelou um bom estado clínico, embora persistisse sempre uma hemólise bem compensada e uma trombocitopenia ligeira.²

Aos três anos de idade, foi novamente admitida com uma crise grave de hemólise (hemoglobina de 48 g/L) no contexto de intercorrência febril. A contagem de plaquetas era de $23 \times 10^9/L$ e o doseamento da desidrogenase láctica (DHL) era de 2260 UI/L. Nesse internamento, ficou claramente demonstrado o carácter intravascular e microangiopático da hemólise (esquizócitos e microesferócitos no esfregaço de sangue periférico, hemoglobinemia e hemoglobinúria marcadas), sem evidência de disfunção renal ou neurológica.²

Trinta dias depois é reinternada por nova crise de características e gravidade idênticas. Transfundi-se apenas PFC (dez ml/kg). Três dias depois apresenta pela primeira vez uma contagem normal de plaquetas. O processo de hemólise foi interrompido, com normalização gradual do valor da hemoglobina.²

Decidiu-se, numa perspectiva profilática instituir um programa regular de perfusão de PFC, inicialmente cada quatro semanas, depois cada três semanas.²

A comprovação bioquímica só foi possível aos treze anos de idade, altura em que foi desenvolvido um teste para o doseamento da actividade enzimática deficitária (ensaio de ligação ao colagénio). Este estudo revelou, na doente, uma actividade da ADAMTS13 inferior a um por cento (normal: 50 a 178%). Os pais da doente e três irmãos apresentavam níveis intermédios (63-112%) e um irmão tinha uma actividade superior a 200%.

O diagnóstico molecular (sequenciação) foi feito em 2003 (aos 18 anos de idade), após identificação do gene da ADAMTS13. A doente revelou-se homocigótica para uma mutação *missense* do gene ADAMTS13 (2074C→T) e o irmão com níveis superiores a 200% não apresentava qualquer alelo do gene ADAMTS13 mutado, ao passo que os pais e os restantes irmãos eram heterocigotos para a mutação descoberta.

Até aos 21 anos, esta jovem esteve clinicamente bem, com um desenvolvimento normal, assim como com funções renal e neurológica preservadas. Manteve terapêutica regular com PFC (duas unidades cada três semanas).

Aos 21 anos de idade surgiu quadro de febre, dor abdominal e vômitos, com insuficiência renal aguda e que foi interpretado como infecção urinária/pielonefrite. Este episódio condicionou descompensação da sua patologia de base (anemia, esquizócitos raros, trombocitopenia grave - $28 \times 10^9/L$ - e aumento da DHL), com necessidade de internamento e recur-

so a antibioterapia, plasmaferese e hemodiálise. Progressivamente, a situação clínica da doente foi melhorando com a terapêutica instituída.

Desde então, tem sido acompanhada em Hospital de Dia, onde se optimizou a sua terapêutica (dez ml/kg de PFC cada três semanas), com estabilização da contagem de plaquetas e boa evolução clínica.

Discussão

A forma como foi progressivamente caracterizada a situação clínica desta criança está relacionada com o percurso do conhecimento da própria doença em si.

Em 1988, então com três anos de idade, a sua doença foi pela primeira vez enquadrada no âmbito da microangiopatia trombótica². Não existia evidência de envolvimento renal e/ou neurológico que permitisse um diagnóstico específico (PTT/SHU).

A edição dessa altura de um dos principais livros de texto de Hematologia Pediátrica¹ apresentava uma referência a uma entidade clínica hereditária rara, denominada de “anemia microangiopática crónica e recorrente com trombocitopenia”, caracterizando-se por uma excelente resposta à perfusão de pequenas quantidades de plasma.

Eram poucos os casos referidos na literatura. Schulman, em 1960, havia descrito um caso semelhante.⁷ Demorou 18 anos a descrição de um caso similar. O autor, Upshaw, considerava ser o doente portador de uma deficiência congénita de um factor plasmático, de alguma maneira importante para a sobrevivência dos eritrócitos e das plaquetas.⁷

A primeira referência ao eventual envolvimento do FvW na patogénese da doença data de 1982, quando Moake documenta a presença, no plasma de quatro doentes, de múltiplos de muito alto peso molecular do FvW, formulando a hipótese de que estes múltiplos teriam afinidade acrescida para as plaquetas, facto que conduziria à sua aglutinação^{7,4}.

Decidimos realizar, em altura de crise, a prova terapêutica com PFC nesta doente, tendo a resposta sido inequívoca. Optamos posteriormente pela sua utilização numa perspectiva profilática (em oposição à de terapêutica das crises) pelo receio de eventuais sequelas irreversíveis (a nível renal e/ou neurológico) de um processo agudo de microtrombose.

É em 1996 que Furlan demonstra laboratorialmente a incapacidade do plasma destes doentes de degradar um substrato de FvW, desenvolvendo um método de doseamento funcional da enzima.^{4,10} Provava-se, laboratorialmente, que na etiologia da doença estava um défice congénito de uma enzima responsável pela clivagem multimérica do FvW.

Em 2001, Levy estudou a árvore genealógica de quatro famílias com PTT Congénita. Através de uma metodologia de análise de *linkage* conseguiu identificar os polimorfismos que eram herdados juntamente com o gene da doença⁶. Esta metodologia conduziu à localização do gene no cromossoma 9 (9q34). Seguiu-se a respectiva sequenciação. A partir daí foi possível deduzir a estrutura da correspondente proteína - uma metaloprotease.

Estão identificadas até hoje cerca de 50 mutações sendo que a maioria, de tipo *missense*, não condiciona abolição completa da actividade enzimática. Verifica-se uma frequência reduzida de mutações obviamente nulas que, quando presentes, ocorrem em heterozigotia composta com mutações *missense*.⁴ Nos doentes é sempre detectável algum grau de actividade enzimática. Tudo isto leva a supor que a ausência pura e simples da actividade da ADAMTS13 é incompatível com a vida.

Foi assim que a situação desta doente foi sendo progressivamente esclarecida ao longo dos anos e integrada numa entidade clínica hoje bem individualizada desde o fenótipo até ao genótipo.

Agradecimentos

Os autores agradecem, pela sua preciosa colaboração (doseamento actividade enzimática e estudo molecular), sem a qual todo o esclarecimento deste caso clínico não teria sido possível, a:

Dr. Bernhard Laemmle, Hemostasis Research Laboratory, University of Bern (a);

Dra. Johanna Kramer Hovinga, Hemostasis Research Laboratory, University of Bern (b).

Referências

1. Nathan DG, Oski FA. *Hematology of Infancy and Childhood*. 3rd ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company; 1987.
2. Barbot J, Costa E, Guerra M, Barreirinho MS, Isvarial P, Robles R *et al*. Ten years of prophylactic treatment with fresh-frozen plasma in a child with chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura as a result of a congenital deficiency of von Willebrand factor-cleaving protease. *Br J Haematol* 2001;113:649-51.
3. Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, Schigsohn U. *Williams Hematology*. 6th ed. New York: McGraw-Hill; 2001.
4. George JN, Sadler JE, Lämmle B. Platelets: thrombotic thrombocytopenic purpura. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2002. Acessível em: reprint/2002/1/315
5. Kokame K, Matsumoto M, Soejima K, Yagi H, Ishizashi H, Funato M *et al*. Mutations and common polymorphisms in ADAMTS13 gene responsible for von Willebrand factor-cleaving protease activity. *Proc Natl Acad Sci* 2002;99(18):11902-7.
6. Levy G, Nichols WC, Lian EC, Foroud T, McClintick JN, McGee BM *et al*. Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature* 2001;413: 488-94.
7. Levy GG, Motto DG, Ginsburg D. ADAMTS13 turns 3. *Blood* 2005; 106(1):11-17.
8. Motto D, Levy G, McGee B, Tsai H, Ginsburg D. ADAMTS13 mutations identified in familial TTP patients result in loss of VWF-cleaving protease activity. *J Thromb Haemost* 2003;1 Suppl 1:OC115.
9. Pimanda JE, Maskawa A, Wind T, Paxton J, Chusteman CN, Hogg PH. Congenital thrombotic thrombocytopenic purpura in association with a mutation in the second CUB domain of ADAMTS13. *Blood* 2004;103(2):627-29.
10. Sadler JE, Moake JL, Miyata T, George JN. Recent advances in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2004:407-23.