

El fenómeno hemolítico en la hemoglobinuria paroxística nocturna.

Conceptos actuales de su fisiopatogenia

Renán A. Góngora-Biachi*

Centro Médico de las Américas, Mérida, Yucatán, México.

RESUMEN

La Hemoglobinuria Paroxística Nocturna (HPN) es un padecimiento clonal adquirido del tejido hematopoyético, que se caracteriza por la producción de células sanguíneas y precursores medulares que presentan mayor sensibilidad al efecto citolítico del complemento (C). Este defecto es secundario a la pérdida parcial o total de proteínas ligadas al glucosilfosfatidilinositol (GPI), la CD55 y la CD59, que regulan la actividad biológica del C, y su expresión se traduce en hemólisis intravascular. Otra característica de la HPN es hematopoyesis ineficaz y, en algunos casos, distonía de músculos liso y fenómenos trombóticos.

La frecuencia estimada de la HPN en la población mexicana es de dos casos por 100 000 habitantes y es similar a los informes de Tailandia, China y Japón. Aunque la mayoría de los pacientes son adultos, la HPN se ha encontrado también en enfermos pediátricos y adolescentes, representando en una serie mexicana 20% de los casos.

Palabras clave:

Hemoglobinuria paroxística nocturna, hemólisis

SUMMARY

Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is an acquired clonal disorder of hematopoietic tissue characterized by the production of blood cells and marrow precursors with the greatest sensitivity to the cytolytic effect of complement (C). This defect is secondary to the partial or total loss of glycosylphosphatidylinositol-anchored CD55 and CD59 proteins, which regulate the biological activity of C. Its expression results in intravascular hemolysis. Another feature of PNH is ineffective hematopoiesis and, in some cases, smooth muscle dystonia and thrombotic events. The estimated frequency of PNH in the Mexican population is 2/100,000 inhabitants and is similar to reports from Thailand, China and Japan. Although most patients are adults, PNH has also been reported in pediatric patients and adolescents, representing 20% of the cases in Mexico.

Key words:

Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, hemolysis

Introducción

La hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) es un padecimiento clonal adquirido del tejido hematopoyético, que se caracteriza por la producción de células sanguíneas y precursores medulares que presentan mayor sensibilidad al efecto citolítico del complemento (C). Este defecto es secundario a la pérdida parcial o total de proteínas ligadas al glucosilfosfatidilinositol (GPI), la CD55 y la CD59, que regulan la actividad biológica del C, y su expresión se traduce en hemólisis intravascular. Otra característica de la HPN es hematopoyesis ineficaz y, en algunos casos, distonía de músculos liso y fenómenos trombóticos.

La frecuencia estimada de la HPN en la población mexicana es de dos casos por 100 000 habitantes y es similar a los informes de Tailandia, China y Japón. Aunque la mayoría de los pacientes son adultos, la HPN se ha encontrado también en enfermos pediátricos y adolescentes, representando en una serie mexicana 20% de los casos.

Eventos fisiopatogénicos

La HPN es un padecimiento clonal adquirido, de causa desconocida y secundario a mutaciones del gen PIG-A, gen localizado en el brazo corto del cromosoma X y responsable de la síntesis de las moléculas de GPI. Como consecuencia de estas mutaciones, se produce una síntesis anómala del GPI y, en su turno, deficiencia de proteínas que se fijan a esta estructura biológica.

Se postula que la clona HPN emerge o es resultado de la expansión de una clona ya existente, posterior a un daño medular y como un mecanismo defensivo de algún factor externo (o interno) que inhibe la hematopoyesis normal, pero incapaz de inhibir a las células con el fenotipo HPN (Figura 1). Las evidencias actuales apoyan el concepto de que en la mayoría de los casos de HPN el daño de la médula ósea es inmunológico, porque condicionantes de falla medular como la radioterapia o quimioterapia, no producen la emergencia de clonas HPN.

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Renán A. Góngora-Biachi. Centro Médico de las Américas, Subdirección, Calle 54 No. 365 por 33-A, Centro, 97000 Mérida, Yucatán, México. Tel: (01-99) 9926 3310, Fax: (01-99) 9926 2978. Correo electrónico: gbiachi@uady.mx

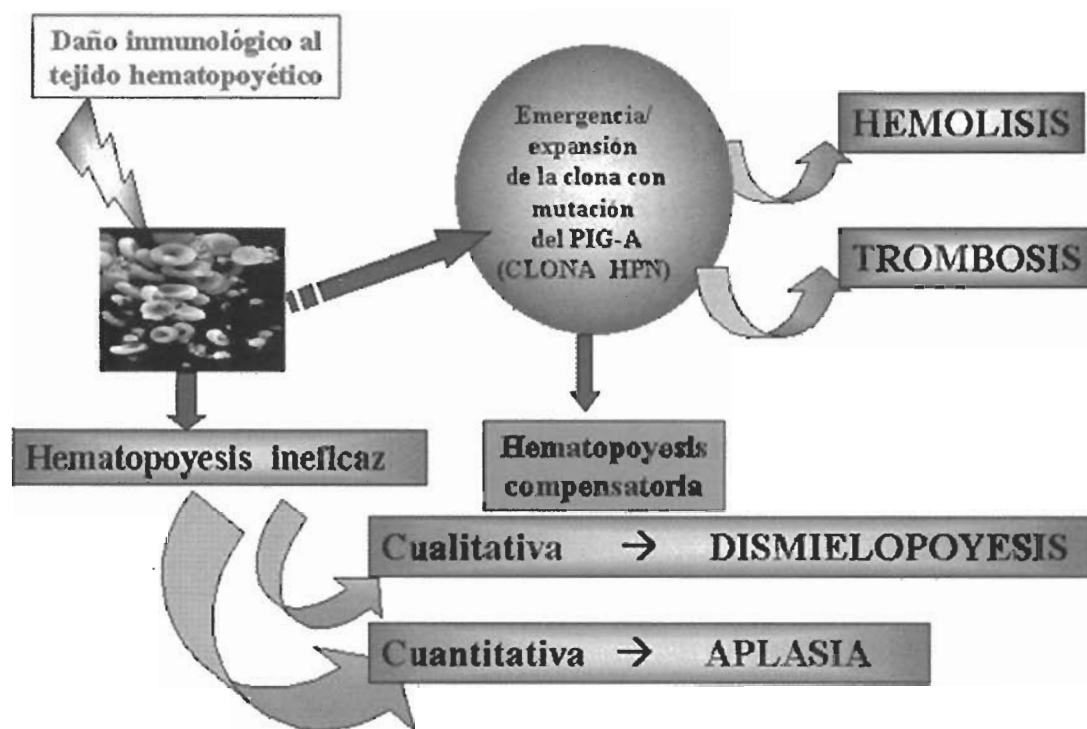


Figura 1. Modelo hipotético de la patogénesis, la etiología y la expresión clínica de la Hemoglobinuria Paroxística Nocturna.

Establecida la clona, gran parte de la expresión clínica dependerá de su capacidad proliferante. El crecimiento lento e ineficaz puede no ser compensatorio y permitir que sea evidente una hipoplasia o aplasia medular. La producción acelerada de células HPN, por su parte, evidenciaría el fenómeno hemolítico (Figura 1).

Este fenómeno hemolítico se explica por la deficiencia de las proteínas que regulan la actividad del C y que no pueden fijarse al GPI. Éstas son el factor que acelera la degradación de las convertasas del C (CD55 o DAF [*decay accelerating factor*]), el factor de restricción de la actividad del complemento (CD59 MIRL [*membrane inhibitor of reactive lysis*]), y HRF65/HRF-C8bp (*homologous restriction factor*). Esto trae como resultado mayor fijación de C al GR y una actividad biológica magnificada en estas células. Se ha sugerido que la "hemoglobinuria nocturna" observada en la forma clásica de la HPN, se debe a la acción del C por endotoxinas que son absorbidas del tubo digestivo y cuyo efecto puede ser magnificado por la ausencia en los GR de la proteína CD14 (proteína fijadora de endotoxina).¹⁻³

En la HPN se han identificado tres poblaciones de GR con diferente sensibilidad al C. Los GR-HPN I tienen sensibilidad normal al C. Los GR-HPN II son tres a cinco veces más sensibles y los GR-HPN III, de 15 a 25 veces más. La proporción de estas células varía de caso a caso y aun en el mismo sujeto durante el transcurso de la enfermedad. En los GR-HPN II y III existe una deficiencia de CD55/DAF que ocasiona la formación de cuatro a cinco veces más C3b. La sensibilidad mayor al C de los GR-HPN III se explica por un

segundo defecto que es la deficiencia de los HRF, lo que permite una mayor actividad en la fracción citolítica del C (complejo C5b-9). De la presencia de GR-HPN III depende en gran parte la hemólisis en la HPN.⁴⁻⁶

Aunque la hemólisis clínica o la hemoglobinuria -o ambas- como parte de las manifestaciones iniciales de la HPN, sólo están presentes en la tercera parte de estos pacientes, las evidencias de hemólisis (hemoglobina libre en plasma y/o disminución de haptoglobinas) se detectan en 85% de los casos, independientemente de la clase clínica a la que pertenezcan los pacientes (ver luego clasificación clínica). En un grupo de pacientes mexicanos con HPN, los niveles incrementados de hemoglobina libre en suero se detectaron en 75/97 (77%) pacientes y no necesariamente asociados a eventos hemolíticos clínicos. Las crisis de hemólisis se asociaron con situaciones de alarma, aunque en la mayoría de los enfermos este evento era crónico, persistente, de intensidad variable y dependiente de la proporción de GR-HPN.

Recientemente se ha postulado la participación de óxido nítrico (ON) en la patogénesis de la HPN. El ON es un regulador biológico de gran importancia de homeostasis vascular, incluyendo la vasodilatación y la hemostasia. La interacción del ON con la hemoglobina es un campo de reciente interés por sus posibles consecuencias, en especial en condiciones asociadas a hemólisis crónica.

El ON tiene una alta capacidad de reacción con la hemoglobina, que además de ser muy rápida ($10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) es irreversible. Hipotéticamente, si la hemoglobina intravascular, contenida en su inmensa mayoría por los GR (16 g/dL), estuviera como

hemoglobina libre, inactivaría a todo el ON producido por el endotelio e impediría su difusión paracrina hacia el músculo liso y hacia el torrente intravascular. Sin embargo, la habilidad del ON para reaccionar con la hemoglobina es limitada porque los GR actúan como "compartimientos" de hemoglobina e impiden la interacción de ésta con el ON.^{7,8}

En consecuencia, la hemoglobina libre que se genera con la hemólisis fisiológica es inactivada a través de varios mecanismos. La hemoglobina libre adopta forma de dímeros y rápidamente se fija a la proteína plasmática haptoglobina. El complejo haptoglobina-hemoglobina expone un epítipo que es reconocido por el receptor de "remoción" de la hemoglobina, el CD163 de los monocitos/macrófagos, que fija el complejo con gran afinidad y posterior a endocitosis se logra la degradación de la hemoglobina. Debido a que la haptoglobina no es reciclable, la formación de grandes cantidades de complejos haptoglobina-hemoglobina produce una rápida depleción de haptoglobina, lo que explica que sea indetectable en la mayoría de las anemias hemolíticas con gran componente intravascular, como es el caso de la HPN.

El heme ferroso (Fe^{II}), el componente de la hemoglobina que fija el oxígeno, puede ser oxidado a heme férrico (Fe^{III}), que es luego liberado de la hemoglobina y se fija con gran afinidad a la glicoproteína plasmática hemopexina. El heme fijado a la hemopexina es degradado por el hígado, a través de varios pasos enzimáticos. La oxigenasa de heme tipo 1 (HO-1) transforma, en pasos subsecuentes, al pro-oxidante y pro-inflamatorio heme en monóxido de carbono, biliverdina y hierro. El monóxido de carbono tiene propiedades vaso-

dilatadoras, antiproliferativas, antiinflamatorias y antioxidantes. La biliverdina es un antioxidante, que es convertido a bilirrubina por la enzima reductasa de biliverdina, que en sí misma tiene propiedad catalítica antioxidantes. El hierro es inactivado por la ferritina. Complementariamente a estos procesos, la haptoglobina-hemoglobina fijada al CD163, induce a la formación de la IL-10 (con propiedades anti inflamatorias) y HO-1.

En este contexto, los efectos antioxidantes, anticoagulantes, antiproliferativos y vasodilatadores del sistema CD163/HO-1/reductasa de biliverdina, parecen representar un sistema biológico compensador a los efectos de la hemoglobina, el heme y el hierro extracelulares (inactivación del ON, vasoconstricción, efecto proliferativo y pro-oxidante).

Cuando la capacidad de estos mecanismos depuradores de la hemoglobina libre y sus compuestos es saturada durante la hemólisis intravascular, los niveles de hemoglobina se incrementan en el plasma y en la orina. La hemoglobina libre tiene la habilidad de inactivar al ON, mientras que el heme posee múltiples propiedades pro-inflamatorias y pro-oxidantes. Así, la hemólisis intravascular crónica, como acontece en la HPN, condiciona a un estado de deficiencia de ON (Figuras 2 y 3).

Una de las consecuencias de la depleción del ON se refleja en la disfunción del músculo liso de varios órganos. Entre éstos están: el dolor abdominal, los espasmos esofágicos, la disfunción eréctil y la trombosis.

En nuestro grupo de pacientes ($n=168$), 35% de ellos manifestaban dolor abdominal durante las crisis de hemólisis clínica, la mayoría de ellos de la clase clínica III (grupo

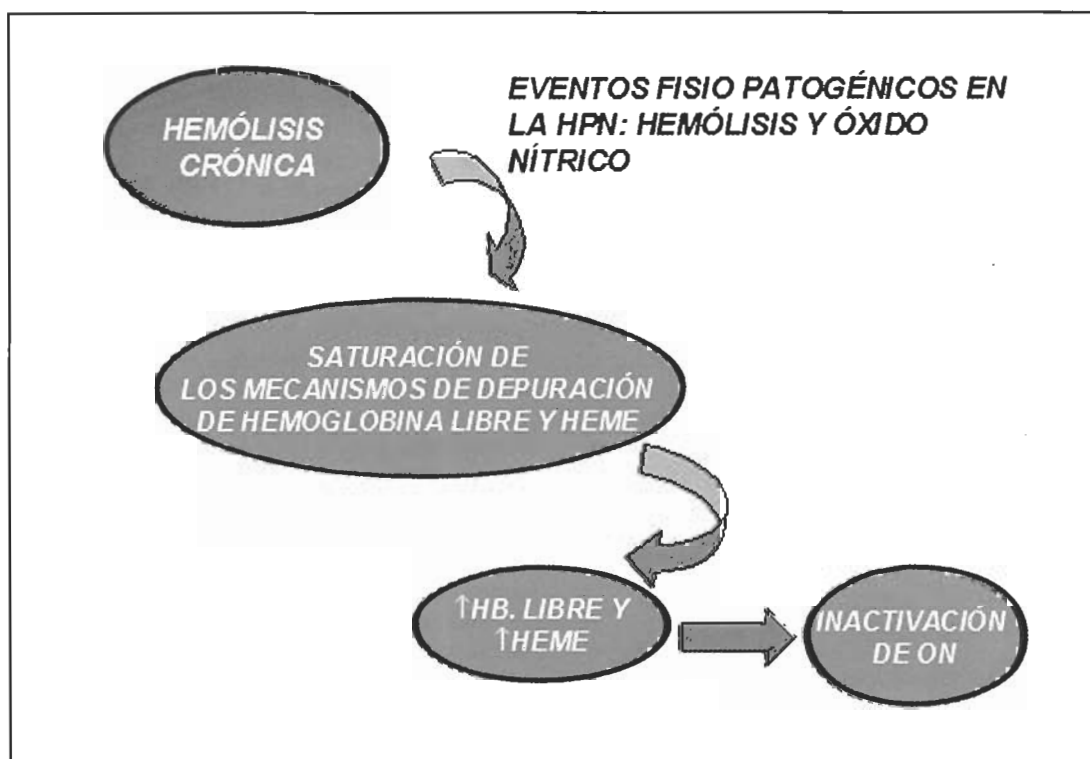


Figura 2. Modelo esquemático del efecto de la hemólisis crónica en la inactivación del óxido nítrico.

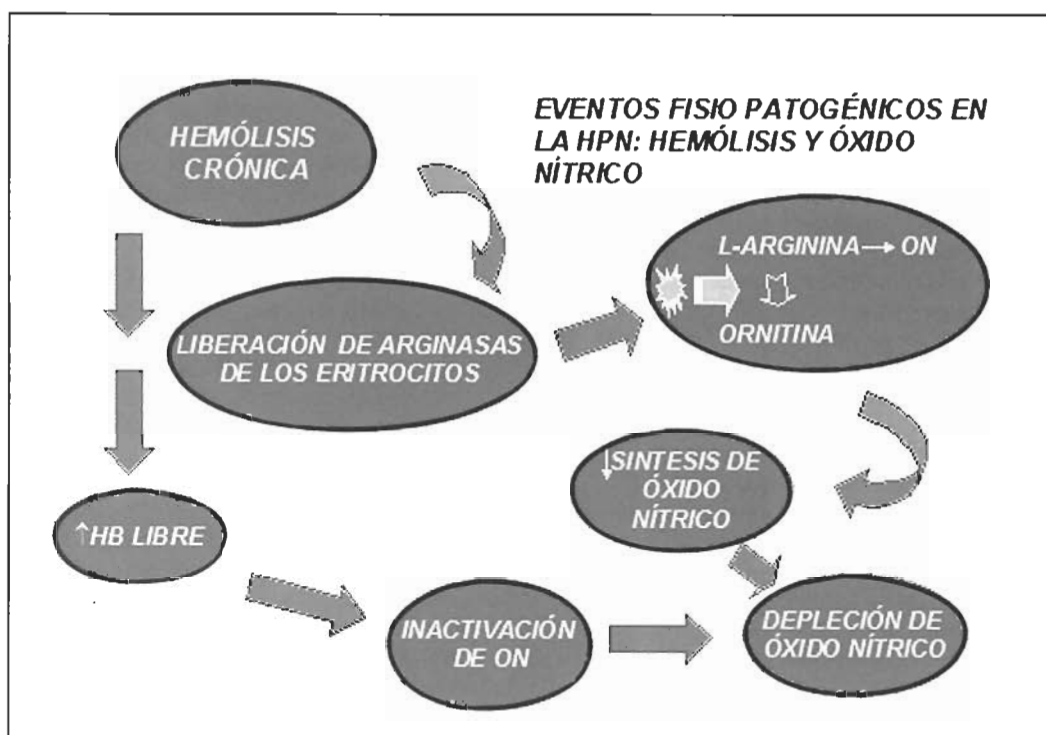


Figura 3. Mecanismo de depleción del óxido nítrico como consecuencia de hemólisis crónica (ver texto para mayor descripción).

hemolítico). Sin embargo, 54% de ellos, independientemente de la clase clínica, refirió dolor abdominal, aun en ausencia de crisis hemolíticas clínicamente evidentes. En estos casos se excluyó la posibilidad de trombosis de venas mesentéricas como causa de dolor. Es decir, la hipótesis es que la deficiencia de ON causa distonía intestinal y espasmo.

También es común en la HPN el espasmo esofágico y la disfagia, debidas a ondas peristálticas intensas. La incidencia en el grupo de pacientes mexicanos es de alrededor del 25%. El grupo de pacientes que reporta mayor incidencia y gravedad de estos eventos clínicos, son los pacientes con hemólisis clínica.

La disfunción eréctil es un tópico de reciente exploración en la HPN y se ha estimado que ocurre en 35% de los varones con esta enfermedad. Aunque la respuesta a inhibidor de PDE-5 es efectiva en estos pacientes, su efectividad es menor cuando existen crisis agudas o crónicas de intensidad importante, su uso es inefectivo, lo que apoya el concepto de deficiencia de ON.

Por otro lado, la deficiencia de ON puede contribuir a fenómenos trombóticos al favorecer a la adhesión y agregación plaquetaria, además de favorecer a la activación del sistema de coagulación.⁹⁻¹¹

Manifestaciones clínicas

En una serie de 158 pacientes mexicanos con HPN, 70 pacientes (44%) iniciaron su padecimiento con evidencias de aplasia medular o hipoplasia medular, con o sin hemólisis o hemoglobinuria (clase I de la HPN, "grupo aplástico"). De los casos, 23%

tenía médula ósea normo o hiperclulares, sin datos clínicos de hemólisis o hemoglobinuria y con una o más citopenias (clase II de la HPN, "grupo citopénico"). El cuadro clásico de HPN lo presentó 30%: hemólisis clínica y hemoglobinuria, con o sin citopenias y médulas óseas normo o hiperclulares (clase III de la HPN, "grupo hemolítico") y 2.5% de todos los pacientes inició su padecimiento con fenómeno trombótico sin hemólisis clínica ni hemoglobinuria, con médulas óseas normo o hiperclulares (clase IV de la HPN, "grupo trombótico").¹²⁻¹⁴

Aunque la hemólisis clínica o la hemoglobinuria -o ambas- sólo estuvieron presentes en la tercera parte de los sujetos, las evidencias de hemólisis (hemoglobina libre en plasma y disminución de haptoglobinas) se detectaron en 85% de los casos, independientemente de la clase a la que pertenecían los pacientes. Las crisis de hemólisis se asociaron con situaciones de alarma, aunque en la mayoría de los enfermos este evento era crónico, persistente, de intensidad variable y dependiente de la proporción de GR-HPN. Los casos pertenecientes a las clases I y II presentan con frecuencia síndrome hemorrágico por plaquetopenia, que representa la principal causa de defunción en estos pacientes.

El curso clínico de la HPN es muy variable. Las muertes tempranas se relacionan con aplasia medular/hipoplasia medular y síndrome hemorrágico por trombocitopenia. Los fenómenos tromboembólicos se acompañan de alta letalidad en el transcurso de esta enfermedad. En algunos sujetos, la expresión sola de citopenias o hemólisis compensada, ocasiona una evolución más favorable y crónica.

Algunas complicaciones asociadas con HPN son: infecciones bacterianas recurrentes, coagulación intravascular diseminada, insuficiencia renal aguda o crónica, hemocromatosis,

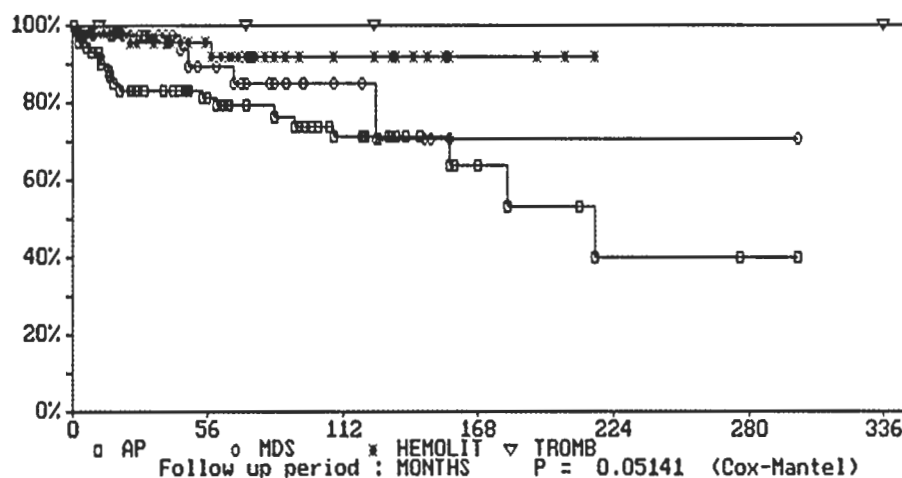


Figura 4. Curvas de supervivencia (modelo de Kaplan-Meier) en 158 pacientes mexicanos con Hemoglobinuria Paroxística Nocturna, de acuerdo a la clase clínica correspondiente. Ap: Clase aplasia; MDS: Clase citopénica (tipo mielodisplasia); Hemolit: Clase hemolítica; Tromb: Clase trombosis.

crisis aplásica, desarrollo de anemia aplásica, trombosis y, en alrededor de 2% de los casos, anemia refractaria con exceso de blastos y leucemia aguda.

En general, la HPN puede considerarse como un padecimiento crónico y se ha estimado una supervivencia actuarial a 10 años de 71%, a 20 años de 57% y a 30 años de 54%. La supervivencia más prolongada se observa en los pacientes con clase III (grupo hemolítico): 95% y 90% a 10 y 20 años respectivamente (Figura 4).

Tratamiento de la hemólisis en la HPN

El uso de prednisona (0,5 mg/kg/día), en una dosis vespertina es útil para disminuir las crisis hemolíticas en cerca de la mitad de los pacientes, aunque no las elimina totalmente. La suplementación con ácido fólico es prioritaria en estos pacientes.

En la mayoría de estos casos, las crisis hemolíticas responden adecuadamente a la transfusión de GR empaquetados, debido a que, por una parte, se inhibe transitoriamente la eritropoyesis y, por la otra, se administran GR capaces de controlar la actividad del C.

En 2007, la *Federal Drug Administration* aprobó el uso del anticuerpo monoclonal contra C5, denominado eculizumab. En un estudio con asignación al azar de opciones terapéuticas, 44 pacientes recibieron placebo y 43 eculizumab i.v. 600 mg cada semana por 4 semanas, 900 mg la siguiente semana y luego 900 mg cada segunda semana hasta completar 6 meses. Durante el lapso de los 6 meses del estudio el grupo con eculizumab no requirió transfusiones, mientras que el grupo a quienes se administró placebo recibió en promedio 10 transfusiones.^{15,16} También fue significativa la reducción de la DHL, la resolución de la hemólisis intravascular y los síntomas asociados a las distonías de los músculos lisos, la disfunción eréctil y la calidad de vida. También se ha reportado que el eculizumab reduce el riesgo de tromboembolismo.^{17,18} El uso de eculizumab reportado en 97

pacientes con HPN tratados por 52 semanas y en dos pacientes por dos años, muestra resultados similares y seguridad en su uso. Los efectos secundarios de este anticuerpo fueron cefalea, nasofaringitis, dolor de espalda e infecciones de vías aéreas superiores. El uso de este anticuerpo monoclonal contra C5 es útil en pacientes con HPN clase III (grupo hemolítico) y en los de clase II (tipo mielodisplásico) con hemólisis. No está indicado en pacientes con aplasia y del grupo con trombosis inicial sin hemólisis (clase IV). Además, los pacientes candidatos a eculizumab deberán ser vacunados, dos semanas antes de su uso, contra infecciones por *Neisseria*.¹⁹⁻²⁴

El trasplante exitoso de células tronco hematopoyéticas es el único recurso capaz de curar esta enfermedad en la época actual.

Referencias

1. Bessler M, Hiken J. The pathophysiology of disease in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Hematology* 2008;104:109.
2. Brodsky RA. Narrative review: Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: the physiology of complement-related hemolytic anemia. *Ann Intern Med* 2008; 148:587-595.
3. Brodsky RA, Young NS, Antonoli E, Risitano AM, Schrezenmeier H, Schubert J, et al. Multicenter phase 3 study of the complement inhibitor eculizumab for the treatment of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2008;111:1840-1847.
4. Delaunay J. The molecular basis of hereditary red cell membranes disorders. *Blood Rev* 2007;21:1-20.
5. Gallagher PG. Red cell membranes disorders. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2005:13-18.
6. Góngora-Biachi RA, Sosa-Muñoz J, Duarte-Zapata L, Pinto-Escalante D, González-Martínez P, Achach-Asaf J. Hemoglobinuria paroxística nocturna: análisis de 36 casos. *Sangre* 1987;32:27-37.
7. Góngora-Biachi RA, González-Martínez P, Aguilar-Ortega M, Achach-Asaf J, Lara-Perera D. Hemoglobinuria paroxística nocturna en edad pediátrica: observaciones en siete casos. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1987;44:222-229.
8. Góngora-Biachi RA, González-Martínez P, Pinto-Escalante D, Ceballos-Quintal JM. Chromosomal findings in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Int J Hematol* 1993;58:163-167.
9. Góngora-Biachi RA, González-Martínez P, Sosa-Muñoz J, Castro-Sansores C, Delgado-Lamas JL, Vázquez-Villegas V, et al. Historia natural de hemoglobinuria paroxística nocturna en adolescentes, adultos y en la edad pediátrica; la experiencia mexicana. *Sangre* 1997;42:171-177.

10. **Góngora-Biachi RA.** Diagnóstico y clasificación de la hemoglobinuria paroxística nocturna. *Gac Med Mex* 2002;138 (suppl 1):S19-S21.
11. **Góngora-Biachi RA.** Epidemiología de las enfermedades hematológicas en el ámbito nacional. II. El perfil epidemiológico en la península de Yucatán. *Gac Med Mex* 2002;138(suppl 1):S13-S14.
12. **Góngora-Biachi RA.** Hemoglobinuria paroxística nocturna: un síndrome de falla medular. *Rev Hematol* 2004;5:67-79
13. **Góngora-Biachi RA.** Hemoglobinuria Paroxística Nocturna: Nuevos Conceptos de una vieja enfermedad. En Góngora-Biachi RA, editor. *Hematología Actualización* 2005. Mérida: Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología, A.C; 2005; p 31-41.
14. **Góngora-Biachi RA, González-Martínez P, Alonzo-Salomón LG, Lara-Perera D, Pavia-Ruz N.** Eritrocitosis estomatocítica (ovalocitosis del Sudeste de Asia). Identificación de los primeros casos en México. *Rev Hematol* 2005;6(supl 1):S8.
15. **Hill A, Hillmen P, Richards SJ, Elebute D; Marsh JC, Chan J, et al.** Sustained response and long-term safety of eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2005;106:2559-2565.
16. **Hill A, Richards SJ, Hillmen P.** Recent developments in the understanding and management of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol* 2007;137:181-192.
17. **Hillmen P, Young NS, Schubert J, Brodsky RA, Socié G, Muus P, et al.** The complement inhibitor eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 2006;355:1233-1243.
18. **Hillmen P, Muus P, Dührsen U, Risitano AM, Schubert J, Luzzatto L, et al.** Effect of the complement inhibitor eculizumab on thromboembolism in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2007;110:4123-4128.
19. **Hillmen P.** The role of complement inhibition in PNH. *Hematology* 2008:116-123.
20. **Parker Ch, Omine M, Richards S, Nishimura J, Bessler M, Ware R, et al.** Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *BLOOD* 2005;106:3699-3709.
21. **Piedras J, Lopez-Karpovitch X.** Flow cytometric analysis of glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins to assess paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone size. *Cytometry* 2000;42:234-238.
22. **Rosse WF, Young NS, Góngora-Biachi R.** Trastornos hipoproliferativos de la célula tronco. *Rev Invest Clin* 1997;49(supl 1):83-88.
23. **Rother RP, Bell L, Hillman P, Gladwin MT.** The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extravascular plasma hemoglobin. A novel mechanism of human disease. *JAMA* 2005;293:1653-1662.
24. **Ruiz-Argüelles GJ, Ramírez-Cisneros FJ, Ruiz-Argüelles A, Pérez-Romano B, Morales-Aceves R.** Deficiencia de proteínas de superficie, ancladas por glucosilfosfatidilinositol en células de pacientes mestizos mexicanos con hipoplasia medular. *Rev Invest Clin* 1999;51:5-9.