

Meta-hemoglobinemia de etiologia mista, congénita e adquirida

Mixed methemoglobinemia, congenital and acquired

António Murinello*, Manuel Bicho**, Rosa Estrela Inácio***, M^a Conceição Loureiro[§]

Resumo

Os autores apresentam um caso de meta-hemoglobinemia aguda de tipo misto, de etiologia congénita e adquirida, sendo a absorção cutânea excessiva de corante de tipo anilínico o factor desencadeante, enxertado num défice moderado de redutase do citocromio-b₅ e num défice ligeiro de desidrogenase da glucose-6-fosfato. A terapêutica com azul de metileno foi eficaz, mas desencadeou icterícia hemolítica, atribuída ao défice da desidrogenase da glucose-6-fosfato, e/ou à acção do próprio tóxico ou à possível reacção hemolítica pelo azul de metileno.

São feitas considerações sobre os mecanismos enzimáticos eritrocitários responsáveis pela reconversão da meta-hemoglobina a hemoglobina, clínica da meta-hemoglobinemia aguda, causas mais comuns da metahemoglobinemia aguda, com especial destaque da anilina entre as causas tóxicas, e do défice da redutase do citocromio-b₅ entre as formas congénitas.

É referida a utilidade do azul de metileno na terapêutica da metahemoglobinemia, mas chamando a atenção para as potencialidades tóxicas do fármaco, nomeadamente se houver concomitância de défice da desidrogenase da glucose-6-fosfato.

O estudo enzimático familiar é fundamental na prevenção de episódios similares em familiares.

Palavras chave: Meta-hemoglobinemia, azul de metileno, anilina, redutase do citocromio-b₅

* Chefe de Serviço de Medicina Interna. Hospital de Curry Cabral. Serviço de Medicina 1

** Prof. Associado de Genética. Faculdade de Medicina de Lisboa

*** Chefe de Serviço de Patologia Clínica. Laboratório de Hematologia. Hospital de Santa Maria

§ Assistente Hospitalar de Medicina Interna. Hospital de Curry Cabral. Serviço de Medicina 1

Trabalho realizado no Serviço de Medicina 1 do Hospital de Curry Cabral e nos Laboratórios de Genética e de Hematologia do Hospital de Santa Maria

Recebido para publicação a 11/09/2001

Abstract

The authors present a case of acute methaemoglobinaemia of mixed aetiology - congenital and acquired. Excessive cutaneous absorption of aniline dye was the causal factor, but an associated moderate defect in cytochrome-b₅ reductase as well as a glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency aggravated the clinical course of the disease. Therapy with methylene blue was effective, but it caused haemolytic jaundice, probably because of the concomitant glucose-6-phosphate deficiency or because of the haemolytic action of the toxin and/or possible hemolytic action of methylene blue.

A review of the erythrocyte enzymatic mechanisms that convert methaemoglobin to haemoglobin, clinical symptoms, aetiology of acute methaemoglobinaemia, referring particularly to aniline as a toxic acquired cause, and to the deficiency of cytochrome-b₅ reductase as the most frequent cause of congenital aetiology, is presented.

The benefit of methylene blue therapy is considered as well as associated side-effects, particularly in the presence of concomitant G6PD deficiency.

The enzymatic study of relatives is very important for the prevention of similar episodes.

Key words: Methaemoglobinaemia, methylene blue, aniline, cytochrome-b₅ reductase

Introdução

Os eritrócitos possuem mecanismos redutores enzimáticos, que mantêm a hemoglobina (Hb) no seu estado activo. Quando existe défice enzimático congénito ou agressão oxidante excessiva, resulta metahemoglobinemia, isto é, concentração aumentada de metahemoglobina (Mhb) no sangue (> 1% da Hb), de expressão clínica variada conforme a percentagem de Hb oxidada a Mhb¹.

O principal sistema enzimático responsável pela reconversão da Hb oxidada (Mhb) a Hb reduzida normal e do ferro férrico à forma ferrosa original, é o da redutase do citocromio-b₅, que, normalmente, reduz cerca de 99% da Mhb produzida fisiologicamente².

A etiologia da meta-hemoglobinemia inclui causas genéticas, dietéticas, acidose sistémica e tóxicas. O diagnóstico é primariamente clínico, pela observação da cianose cor de chocolate castanho, não sendo fiáveis a gasometria arterial e a oximetria de pulso, havendo necessidade, para confirmação laboratorial, de recorrer à co-oximetria por espectrofotometria¹.

O tratamento com azul de metileno (AM) é geralmente eficaz, mas pode não o ser e estar sujeito a complicações

na presença doutros défices enzimáticos associados, como o défice da desidrogenase da glucose-6-fosfato (DG6P).

Os A.A. apresentam o caso de uma doente com meta-hemoglobinemia aguda por provável absorção cutânea excessiva de anilina, com défices associados de redutase do citocromio-b₅ (da ordem dos 22,6% do valor normal) e défice ligeiro da DG6P, respondendo favoravelmente ao AM, mas complicado de icterícia hemolítica. Tratava-se de um caso de meta-hemoglobinemia mista, congénita e adquirida. O défice de redutase do citocromio-b₅, desconhecido até então, foi diagnosticado pela intercorrência dum factor adquirido. O estudo familiar enzimático revelou défices em dois familiares, tornando-se útil na prevenção de episódios de meta-hemoglobinemia nos familiares.

Caso clínico

Uma doente de 19 anos, eurocaucasiana, mãe solteira, empregada de escritório, foi admitida, à noite, na Urgência do Hospital de S.José, em 14.4.89, por um quadro de cianose aguda. Durante todo o dia usara umas botas que havia pintado na véspera com tinta de cor castanha/carmim, da qual não foi possível saber a composição, mas que se presume, pela cor do produto, pelo quadro clínico compatível com metahemoglobinemia aguda e pela resposta terapêutica ao AM, pudesse conter anilina. Ao fim do dia começou a notar parestesias nos pés, cianose ao nível dos lábios, nariz e lobos das orelhas, dispneia, cansaço intenso, sensação de desmaio eminente, náuseas, vômitos, astenia e anorexia, pelo que ocorreu à urgência hospitalar. Quando observámos a doente, já haviam iniciado administração de oxigénio por sonda nasal. A cianose observada era cor de chocolate castanho, caracteristicamente observável em doentes com metahemoglobinemia. A doente estava apirética, a TA era normal, a FC de 90/mn e a FR de 20/mn. A auscultação cardíaca e pulmonar e o exame abdominal eram normais. Nos pés, observaram-se nas unhas, parte dorsal dos dedos e bordo externo dos pés, uma coloração acastanhada da pele, resultado da exposição à tinta de polimento. Não sendo possível no Laboratório caracterizar a presença de concentração elevada de Mhb no sangue, a metahemoglobinemia foi presumida clinicamente, prescrevendo-se tratamento com AM (1,5 mg/kg de peso), obtendo-se resposta terapêutica rápida, com correcção da cianose ao fim de pouco mais de uma hora, tendo a doente alta na manhã seguinte.

No entanto, três dias depois, a doente notou icterícia das conjuntivas escleróticas, sendo internada no Hospital de Curry Cabral. Não havia cianose, os estados geral/nutrição eram regulares, não havia desidratação, o exame cardíaco-respiratório era normal, havendo icterícia ligeira das conjuntivas escleróticas. Sem qualquer terapêutica, a icterícia desapareceu espontaneamente em três dias.

Tinha hábitos tabágicos e alcoólicos ligeiros, tendo-se vindo a saber, mais tarde, que era toxicómana. Antecedentes familiares sem dados clínicos relevantes.

Laboratorialmente, ao longo de toda a evolução, havia a salientar (*Quadro I*): A) Gasometria arterial na Urgência (com O₂ nasal): pH: 7,551; pCO₂: 20,8 mm Hg; pO₂: 106,3 mmHg; HCO₃: 23,8 mmol/L; BE -0,9 mmol/L; sat. O₂: 98,5%. B) Hemogramas: a concentração de hemoglobina desceu de 13,4 g/dl, antes da terapêutica com AM, até 11,4 g/dl à data do internamento (4 dias depois), continuando a descer até 10,6 g/dl, ao 13º dia, iniciando depois a recuperação; a percentagem de reticulócitos era de 5,4%, descendo a 0,5% ao 13º dia. Não foram detectados corpos de Heinz. C) Taxa de protrombina: 55%, no primeiro dia (75% ao 13º dia); APTT: 32 seg. no primeiro dia (29 seg. ao 13º dia); fibrinogénio: 184 mg/dl, no primeiro dia (294 mg/dl no 13º dia). D) Bioquímica – GOT: 45 U/L no primeiro dia (15 U/L à data do segundo internamento). Bilirrubina total à data do segundo internamento: 3,5 mg/dl (2,2 mg/dl de bilirrubina indirecta), descendo a 1,4 mg/dl de bilirrubina total ao 13º dia (0,8 mg/dl de bilirrubina indirecta). Restante bioquímica (completa) normal. E) HbsAg negativo. F) Electroforese da hemoglobina normal.

A evolução clínica e laboratorial após a terapêutica com AM definiram um episódio de icterícia de tipo hemolítico, pelo que se decidiu avançar no estudo causal da situação.

Um estudo enzimático eritrocitário revelou (*Quadro I*): a) valores normais da piruvato-quinase; b) três determinações normais da DG6P* (a primeira na altura do episódio hemolítico, a segunda três meses depois e a terceira seis meses depois, num laboratório), mas, ao sétimo mês, no laboratório de Hematologia do Hospital de Santa Maria, foi detectada deficiência da enzima (DG6P 89 mU/10⁹ eritrócitos, correspondente a 68% do valor normal de 131 ± 13 mU/10⁹ eritrócitos) (método de Kornberg A. *et al*)⁴, que se aceitou como válida, porquanto o estudo laboratorial da filha e da mãe da propósito também revelou défice da mesma enzima; c) défice da redutase do citocromio-b₅. Os valores determinados em duas ocasiões foram: 0,79 UI/g Hb (normal 3,40 ± 0,50 UI/g Hb) (método de Beutler⁵), cerca de um mês após o episódio hemolítico, e 3,34 µmoles/g Hb/min (normal 14,8 ± 3,57) (método de Board⁶), ao quinto mês após o episódio hemolítico.

No estudo familiar enzimático não foi possível estudar o pai da propósito, nem obter uma segunda colheita da filha, correspondente ao doseamento da redutase do citocromio-b₅, por impossibilidade de canalizar veia em criança muito pequena. Não foi igualmente possível nova colheita mais tarde, porque a morada fornecida na admissão da doente não correspondia à direcção da doente. Os valores enzimáticos obtidos foram: 1) Mãe da propósito: a) redutase do citocromio-b₅: 2,704 µmoles/g Hb/min = 18,3% do normal; b) DG6P: 100 mU/10⁹ eritrócitos = 75% do normal; 2)

* As três primeiras determinações, feitas no Hospital dos Capuchos, e as determinações efectuadas no Hospital de Santa Maria utilizaram o mesmo reagente (Boehringer – Mannheim), e em todas se procedeu primeiro à lavagem dos eritrócitos e subsequente determinação enzimática no sobrenadante do hemolizado.

Quadro I – Dados Laboratoriais

Gasometria Arterial (1º dia)	pH 7.551; pCO ₂ 20.8 mmHg; pO ₂ 106,3 mmHg HCO ₃ 23,8 d/l; BE - 0,9 mmol/L; sat. O ₂ 98,5 %						
Hemograma	14.10.1989	18.4.1989	26.4.1989	8.5.1989	11.7.1989	9.8.1989	14.9.1989
Hb (g/dl)	11,8	11,4	10,6	11,2		11,1	
Reticulócitos (%)	Azul de Metileno	5,4	0,5	0,6		2,6	4
Nº/mm ³		202.520	16.850	21.120		96.200	?
DG6P mU/10 ⁹ eritrócitos (N130 ± 13)		102			128	142	89
PT (%)	55	60	75				
APTT (")	32	35	29				
GOT (U/L)	45	15					
DHL (U/L)	200	98					
Bil. tot. (mg/dl)		3,5	1,4	0,7			
dir.		1,3	0,6	0,0			
		2,2	0,8	0,7			

Filha da propósito: a) DG6P: 98 mU/10⁹ eritrócitos = 75% do normal.

Discussão

A clínica da meta-hemoglobinemia deve-se à incapacidade da Mhb em captar O₂ e ao aumento da afinidade da Hb normal pelo O₂, resultando em hipóxia tissular. A cianose típica, cor de chocolate, ocorre com níveis de Mhb de 1,5 g/dl, agravando-se a sintomatologia com crescente percentagem de Mhb no sangue, indo da ansiedade, tonturas, cefaleias e taquicardia até quadros de insuficiência respiratória e cárdio-vascular, com níveis 7,5-10 g/dl de Mhb, e morte, com níveis superiores a 10 g/dl¹.

A maioria dos casos de meta-hemoglobinemia resulta da exposição a inúmeros agentes oxidantes (nitratos, nitritos, óxido nítrico, anestésicos locais, dapsona, primaquina, cloroquina, anilina, fenazopiridina, sulfonamidas, corantes e polidores de sapatos)⁶. Estes agentes, além de induzirem meta-hemoglobinemia, podem determinar hemólise e outras toxicidades. A dapsona e a anilina podem causar metahemoglobinemia recorrente, com aumento da Mhb, 4 a 12 horas após terapêutica “eficaz” com AM⁷.

A anilina, conhecida quimicamente como fenilamina, é um líquido oleoso incolor, que se torna castanho por exposição ao ar e à luz. É utilizada na manufactura de corantes, explosivos, perfumes, produtos farmacêuticos e química fotográfica, plásticos e resinas, coloração de tecidos, na pintura, envernizamento e processamento de borracha.

A anilina era obtida originariamente da destilação do índigo, mas, hoje em dia, é obtida, sobretudo, a partir do nitrobenzeno. O primeiro corante anilínico foi descoberto em 1856, o que permitiu à Inglaterra e à Alemanha desenvolverem a destilação do coaltar (alcatrão de hulha) em grande escala, para obterem hidrocarbonetos aromáticos e fenóis, os quais são a base de uma grande variedade de substâncias químicas sintéticas, constituindo uma vasto ramo da indústria química actual⁸.

A magenta é um corante derivado da anilina e é também chamada de anilina vermelha ou fucsina. A cor formada pelo pigmento é uma intensa púrpura-rosa ou púrpura vermelha. O nome de magenta deriva de ter sido descoberta pouco depois de uma vitória dos Franceses sobre os Austríacos, em 1859, numa batalha ocorrida numa cidade da Lombardia, no Norte da Itália, chamada precisamente Magenta⁹.

Os vapores de anilina libertados na indústria química são absorvidos principalmente pelos pulmões, sendo possível uma absorção lenta dos mesmos pela pele. A anilina líquida é facilmente absorvida pela pele intacta, muitas vezes por intermédio do vestuário, luvas e calçado impregnados.

O metabolito intermediário, fenilhidroxilamina, é, aparentemente, o responsável pelos efeitos tóxicos da anilina¹⁰. A meta-hemoglobinemia causada pela anilina desenvolve-se muitas vezes de modo insidioso. Em seguida à absorção cutânea, é possível que os sintomas se manifestem com um atraso podendo atingir quatro horas. A urina pode ter

cor castanha ou negra, devido à presença de Mhb, sendo frequente detectar proteinúria e cilindrúria¹¹.

As meta-hemoglobinemias hereditárias podem dever-se à presença de hemoglobinas M ou a deficiência da redutase do citocromo-b₅¹². Neste último caso, os indivíduos homocigóticos têm pouca ou nenhuma actividade enzimática, enquanto os heterocigotos têm concentrações de Mhb quase normais. Os heterocigotos têm maior susceptibilidade que os indivíduos normais a desenvolverem meta-hemoglobinemia por exposição a agentes oxidantes¹³. A transmissão hereditária é de tipo autossómico recessivo.

O AM tem sido o fármaco mais utilizado no tratamento da meta-hemoglobinemia aguda, para o que necessita da presença da enzima redutase dependente da NADPH (recentemente referenciada como redutase da flavina-NADPH), que tem afinidade para corantes como o AM. A enzima reduz o AM a azul de leucometileno, por doação de um electrão do co-factor NADPH, electrão esse transferido para a Mhb, que se converte em Hb normal¹⁴. Quando há deficiência congénita de redutase dependente da NADPH, o AM é ineficaz no tratamento da meta-hemoglobinemia, ineficácia extensiva aos doentes com défices associados de DG6P, enzima essencial na produção eritrocitária de NADPH¹⁵.

A similaridade entre tóxico e antídoto era conhecida dos Gregos antigos, que usavam a mesma palavra “pharmakon”, para ambas⁷. Há evidência de que a anilina (tóxico) e o AM (terapêutica) são de facto marcadamente similares e aditivos em alguns dos seus efeitos nos eritrócitos. O AM pode potenciar a desnaturação oxidativa da Hb pela anilina, bem como agravar e prolongar a queda no conteúdo do glutationa reduzido eritrocitário, que ocorre no tempo de máxima produção de corpos de Heinz⁷. Há cuidados a ter na utilização do AM. Em doses elevadas, o AM comporta-se como agente oxidante, agravando uma meta-hemoglobinemia. Em indivíduos com deficiência da DG6P, pode causar hemólise que, por vezes, pode ser grave. Nestes doentes recomendam-se doses iniciais mais baixas de AM, com vigilância apertada dos efeitos colaterais.

Em casos graves ou refractários ao AM, podemos recorrer a exsanguíneo-transfusões e oxigénio hiperbárico¹⁶. A N-aceticisteína, actuando como precursora da síntese de glutationa (não dependente da NADPH) e como dadora de electrões, reduzindo directamente o metabolito reactivo, parece poder ser um antídoto eficaz e seguro na terapêutica da metahemoglobinemia em doentes com deficiência de DG6P¹.

Em conclusão, pensamos estar perante um quadro de meta-hemoglobinemia aguda, adquirida, por exposição cutânea prolongada a tinta contendo, muito provavelmente, anilina, enxertada em deficiência homocigótica da enzima redutase do citocromo-b₅ e deficiência parcial ligeira da DG6P, consubstanciando a ideia de meta-hemoglobinemia de tipo mista, adquirida e congénita. A icterícia hemolítica ocorrida após a administração de AM poderá ser atribuída a

acção própria do agente oxidante ou à acção do AM em doente com deficiência concomitante de DG6P.

Embora este déficit possa ser questionável, face à variabilidade dos resultados, sem aparente relação com o fenómeno hemolítico, há que considerar que um valor mais elevado dos reticulócitos, na fase hemolítica, pode determinar um valor mais elevado da enzima. O déficit do propósito será ligeiro, bem como o da mãe e filha. Sabe-se, no entanto, que o déficit da DG6P está relacionado com uma alteração ao nível do braço longo do cromossoma X, sendo mais frequentes os casos de portadores no sexo feminino, existindo variantes das mutações determinando fenótipos diferentes, mais susceptíveis ou não de expressão clínica e laboratorial, se sujeitos a um agente oxidante.

A resposta terapêutica favorável do quadro de meta-hemoglobinemia ao AM, sugere presença de quantidade normal da enzima redutase dependente da NADPH.

Bibliografia

1. Wright RO, Lewander WJ, Woolf AD. Methemoglobinemia: Etiology, Pharmacology, and Clinical Management. *Ann Emerg Med* 1999; 34: 645-656.
2. Jaffé ER, Hultquist DE. Cytochrome-b₅ reductase deficiency and enzymopenic hereditary methemoglobinemia. *In* Scriver CR, Beaudet AL, Valle D et al, Ed. *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease* 8th ed. Vol III McGraw Hill New York 2001; 4555-4570.
3. Curry S. Methemoglobinemia. *Ann Emerg Med* 1982; 11: 214-221.
4. Kornberg A et al. *In* *Methods in Enzymology* I. Academic Press New York 1955; 323.
5. Beutler E. *In* *Red Cell Metabolism – A Manual of Biochemical Methods*. Grune e Stratton 1971; 70-72.
6. Board PG. NADH – ferricyanide reductase, a convenient approach to the evaluation of NADPH – methaemoglobin reductase in human erythrocytes. *Clin Chim Acta* 1981; 109: 233.
7. Harvey J, Keitt A. Studies of the efficacy and potential hazards of methylene blue therapy in aniline-induced methemoglobinemia. *Br J Hematol* 1983; 54: 29-41.
8. Hunter D. Health of the worker in the Twenty Century. *In* *The Diseases of Occupations* 6th ed. Hodder and Stoughton. London 1978: 152.
9. Funk and Wagnalls. *In* *Standard Dictionary of the English Language*. Ed. Mackwardt A et al. 1969: 765.
10. Maladies causés par les dérivés nitres et aminés toxiques du benzène et de ses homologues – Aniline. *In* *Le dépistage précoce des maladies professionnelles*. OMS. Genève 1989: 142-146.
11. Thienes C, Haley T. *Clinical Toxicology*. Lea and Febiger. Philadelphia 1979: 237-239.
12. Posthumus MD, Van Berkel W. Cytochrome-b₅ reductase deficiency, an uncommon cause of cyanosis. *Neth J Med* 1994; 44: 136-140.
13. Cohen R, Sachs J, Wicked D et al. Methemoglobinemia provoked by malarial chemoprophylaxis in Vietnam. *New Engl J Med* 1968; 279: 1127-1131.
14. Metz E, Balcerzak S, Sagon L. Mechanism of methylene blue stimulation of the hexose monophosphate shunt in the erythrocyte. *J Clin Invest* 1976; 58: 797-802.
15. Beutler E, Baluda M. Methemoglobin reductase. Studies in the interaction between cell populations and of the role of methylene blue. *Blood* 1963; 22: 323-333.
16. Nadler J, Green H, Rosenbaun A. Intravenous injection of methylene blue in man with reference to its toxic symptoms and effect on the electrocardiogram. *Am J Med Sci* 1934; 188: 15-21.