

Anticorpo anticardiolipina: associação com o vírus da hepatite C em hemodiálise

Carlos A de los Santos, Jean Carlos Zanardo, Cláudia S de Castilho, Patrícia D'Almeida e Carlos Eduardo P de Figueiredo

Resumo

Introdução

O anticorpo anticardiolipina (ACL) é um auto-anticorpo dirigido contra fosfolípidios. Está associado ao lupus (LES) e a uma síndrome caracterizada por trombose, trombocitopenia e abortos de repetição. Também ocorre em 22% de pacientes com hepatite C (HCV), não em diálise. O presente estudo visa avaliar a associação ACL-HCV em hemodiálise (HD).

Métodos

Foram estudados e submetidos a dosagem de ACL 127 pacientes em HD: 67 eram anti-HCV, 20 apresentavam antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBs Ag) positivo, e 40 eram não-reagentes (controles).

Resultados

Nove de 67 pacientes (13,4%) anti-HCV positivos tinham títulos elevados de ACL. Nenhum HBs Ag ou controle era ACL reagente.

Conclusões

ACL ocorreu somente nos pacientes hemodialisados anti-HCV reagentes. Frequência de trombose, LES e aborto não foi aumentada nos ACL reagentes.

Abstract

Introduction

Anticardiolipin antibody (ACL) is an autoantibody directed against phospholipids, associated to lupus (SLE) and to a syndrome characterized by thrombosis, thrombocytopenia and recurrent abortions. It is also seen in 22% of hepatitis C virus (HCV) patients, none of them on dialysis. The aim of this study was to investigate a possible association between ACL and HCV on hemodialysis (HD) patients.

Methods

A total of 127 patients on HD were studied and underwent ACL determinations: 67 were anti-HCV positive, 20 had the hepatitis B surface antigen (HBs Ag) and 40 of them were non-reactive (controls).

Faculdade de Medicina da PUC/RS, Curso de Pós-Graduação em Medicina, Nefrologia, Hospital São Lucas da PUC/RS, Santa Casa de Misericórdia, Porto Alegre, RS
Endereço para correspondência:
Carlos Abaeté de los Santos
Av. Ipiranga 6690, cj. 414
90610-000 Porto Alegre, RS
Tel./Fax: (0xx51) 336-7700
E-mail: abaete.ez@terra.com.br

Anticorpos anticardiolipina. Síndrome antifosfolípido. Hemodiálise. Anticorpos anti-HCV. Hepatite C.
Anticardiolipin antibodies. Antiphospholipid syndrome. Hemodialysis. Anti-HCV antibodies. Hepatitis C.

Results

Nine of 67 (13.4%) anti-HCV positive patients had elevated ACL titers. HBs Ag and controls were ACL non-reactive.

Conclusions

ACL only occurred in anti-HCV positive patients on HD. Thrombosis, SLE and abortions were not increased in ACL reactive patients.

Introdução

Anticorpos anticardiolipina (ACL) representam um dos auto-anticorpos previamente identificados contra fosfolípidios, particularmente os carregados negativamente, associados a uma síndrome caracterizada por episódios recorrentes de trombozes arteriovenosas, trombocitopenia e abortos de repetição.^{1,2} Esses anticorpos foram descritos pela vez primeira associados a 30% dos casos de lupus eritematoso sistêmico (LES).^{3,4} Na ausência de LES, neoplasia e uso de certas drogas, a condição é denominada síndrome antifosfolípido primária.⁵ Em jovens sobreviventes de infarto agudo do miocárdio, com eventos cardiovasculares subseqüentes e recorrentes, a prevalência de ACL foi de 21%.⁶ A presença de elevados títulos de ACL em pacientes, surgida 6 meses após episódio de tromboembolismo venoso, parece indicar risco aumentado de embolia recorrente ou de morte, beneficiando-se, os pacientes, com uso de anticoagulação prolongada.⁷ ACL também foram identificados recentemente em 22% dos indivíduos com hepatite C crônica e não em HD.^{8,9} A incidência de hepatite C em HD é mais elevada do que na população geral.¹⁰ Considerando que a associação entre HCV e ACL em diálise tem sido pouco estudada,¹¹ decidimos avaliá-la em pacientes com hepatites B e C e compará-la a controles com marcadores virais negativos. A importância do estudo é estimar a prevalência de ACL em HD e compará-la nos grupos afetados por marcadores virais positivos para hepatite B e C e controles. Também comparar ocorrência de trombozes, principalmente de fístula átrio ventricular (A-V), abortamentos e LES em pacientes ACL reagentes e não-reagentes.

Métodos

Neste estudo transversal, determinações de ACL

foram realizadas em 127 pacientes em HD, submetidos a tratamento 3 vezes por semana, durante 4 ou 5 horas, com dialisadores de polissulfona reutilizados com solução de acetato-ácido peracético. O fluxo sanguíneo era mantido entre 300-350 ml/minuto. Sessenta e sete indivíduos eram anti-HCV reagentes, 20 apresentaram HBs Ag positivos, e 40 tiveram resultados negativos para ambos os testes (grupo-controle). Pacientes reagentes para anti-HCV, HBs Ag e anti-HIV concomitantemente foram excluídos, bem como portadores de outras doenças infecciosas (não hepatite). Pacientes com neoplasia, tomando fenitoína, hidralazina, isoniazida, procainamida, penicilina, metildopa ou fenotiazinas, também foram excluídos.

Variáveis analisadas foram: idade, tempo em HD, número de unidades de transfusões sanguíneas recebidas, número de episódios tromboembólicos e ocorrência de LES e de abortamentos espontâneos. Considera-se paciente multitransfundido o que recebeu mais do que 4 unidades de concentrado de hemácias (1 unidade: 300 ml do concentrado).

Determinações de ALT (GPT) foram realizadas em todos os pacientes por meio de método enzimático (Laboratório Merck Diagnostica, Darmstadt, Germany).

ACL foram determinados por ensaio imunoenzimático e Elisa, para detecção de auto-anticorpos circulantes de tipo IgG (Laboratório Hemagen, S. Paulo, Brasil). Resultados acima de 10 GPL* (IgG phospholipid units) foram considerados reagentes.

Determinações de HBs Ag foram realizadas por meio de enzima-imunoensaio (Enzymmun-Test Hbs Ag III, do Laboratório Boehringer – Mannheim GmbH, Mannheim, Germany).

Anticorpos anti-HCV foram determinados por teste Elisa de terceira geração (Ortho HCV 3.0 Elisa Test System, Ortho Diagnostic System, GmbH, Neckargemünd, Germany).

*1 unidade GPL equivale à atividade de ligação de 1 mcg/ml de IgG ou IgM anticardiolipina.

Santos CA et al - Anticardiolipina e hepatite C em diálise

Análise estatística foi realizada usando o teste exato de Fisher e o teste *t* de Student. Testes não-paramétricos de Mann Whitney U e de Wilcoxon Rank Sum W foram também utilizados para analisar resultados das determinações de ACL. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

Resultados

Nove de 67 (13,4%) dos pacientes anti-HCV reagentes em HD apresentaram teste positivo para ACL. Os 58 anti-HCV reagentes restantes foram ACL negativos. Nenhum desses indivíduos tinha evidência de qualquer infecção, exceto hepatite C. Nos pacientes HBs Ag positivos e nos controles, nenhum foi ACL reagente. A prevalência de títulos elevados de ACL nos indivíduos anti-HCV reagentes, comparada à prevalência nos outros grupos, foi significativamente diferente, para um $p < 0,001$, usando o teste exato de Fisher. Baseados nesses resultados, a amostra foi dividida em 4 grupos: grupo I: anti-HCV positivo com ACL reagente, $n=9$, determinações de ACL de $15,6 \pm 7,4$ GPL; grupo II: anti-HCV positivo com ACL não-reagente, $n=58$, ACL de $4,7 \pm 2,1$ GPL; grupo III: HBs Ag positivo, $n=20$, ACL $3,9 \pm 0,6$ GPL; grupo IV: marcadores negativos para hepatites B e C com ACL não-reagentes, $n=40$, ACL $4,5 \pm 1,2$ GPL. As diferenças foram estatisticamente significativas (usando testes não-paramétricos) quando se comparou o grupo I aos demais, com $p < 0,0001$. Idade, tempo em HD, número de transfusões, de episódios tromboembólicos, prevalência de LES e aborto não foram significativamente diferentes nos diversos grupos. Valores elevados de ALT foram significativamente *menos frequentes* nos controles do que nos outros grupos ($p < 0,05$). Para análise dessas variáveis, foram utilizados o teste *t* de Student e o teste exato de Fisher.

As características clínicas e laboratoriais dos grupos estão descritas na Tabela.

Discussão

Anticorpos anticardiolipina foram inicialmente associados a doenças infecciosas, particularmente virais.¹² Associação do auto-anticorpo com hepatite C, no entanto, só recentemente foi relatada.^{8,9} Nenhum desses pacientes estava em HD. A prevalência de ACL foi previamente descrita como sendo de 18% em pacientes com doença renal terminal em tratamento conservador, aumentando para 31% após início de HD.¹³ Os autores associaram ACL em HD ao uso de membranas de cuprofane, não à hepatite C ou a outras infecções. Brunet et al¹¹ mostraram que prevalência de anticorpos antifosfolipídios em diálise foi de 31%: *anticorpo anticardiolipina* ocorreu em 16,5%, e ACL em 15,5%. Compararam *anticorpos antifosfolipídios* em pacientes com hepatite B e C em diálise e não acharam diferença. No entanto, dados concernentes à associação de hepatite C especificamente com ACL não foram claramente demonstrados.¹¹

Teste Elisa falsamente positivo para HIV, HTLV-1 e anti-HCV pode ocorrer em pessoas submetidas a vacinação para *influenza*.¹⁴ A possível interferência desse fator não foi levada em consideração no presente estudo.

Níveis aumentados de ALT ocorreram em 52,2% (35/67) no grupo anti-HCV positivo no estudo atual, em 60% (12/20) no HBs Ag reagente contra apenas 5% (2/40) dos controles. As diferenças foram significativas e devem representar presença de doença hepática ativa nos grupos contaminados por hepatite. Recentemente foi demonstrado que positividade para anti-HCV, mesmo usando testes de segunda geração, estava significa-

Tabela
Características clínicas e laboratoriais dos pacientes

Grupo	Idade (anos)	Tempo HD (meses)	(>4) Transf. Sangue	Tromboses	LES	Abortos	ALT (aumento)	ACL (GPL)
I HCV + ACL + (n=9)	51,4±17,4	59,2±37,1	8/9	1/9			4/9	15,6±7,4**
II HCV + ACL - (n=58)	48,6±14,4	68,7±51,3	25/58	5/58	1/58		31/58	4,7±2,1
III HBs Ag + (n=20)	42,9±12,7	44,6±34,1	9/20	2/20			12/20	3,9±0,6
IV Controle (n=40)	56,0±16,8	25,0±20,5	25/40	7/40	1/40	2/19 ^a	2/40*	4,5±1,2

^aAbortos sempre ocorreram antes de iniciar HD

* $p < 0,05$ vs. grupos I, II e III (teste exato de Fisher)

** $p < 0,0001$ vs. grupos II, III e IV (teste de Mann-Whitney U-Wilcoxon Rank Sum)

tivamente associada a níveis aumentados de ALT-AST em diálise.¹⁵ Constatou-se também que mais de 90% dos pacientes anti-HCV reagentes, usando testes de terceira geração em diálise ou pós-transplante renal, têm o vírus da hepatite C circulando.¹⁶⁻¹⁹

Hepatite C é condição claramente associada a uma variedade de patologias como crioglobulinemias de tipos II e III,^{20,21} linfomas malignos de baixo grau,²² glomerulonefrite crioglobulinêmica,²³ glomerulopatia membranosa e membranoproliferativa,²⁴ bem como a síndrome hemolítico-urêmica em crianças.²⁵

Mas, presença de teste positivo para ACL em HD representa aumentado risco de trombose, incluindo de acesso vascular. A prevalência de obstrução arterial ou venosa, LES ou aborto não foi diferente em nenhum dos grupos considerados no presente estudo. Recentemente foi relatado que síndrome antifosfolipídio e doença renal podem coexistir, ambas apresentando-se com freqüentes episódios de trombozes extra-renais. Nestes casos, a biópsia mostrou microangiopatia trombótica e nefrite, que histologicamente lembra LES. Alguns desses doentes responderam ao uso de imunossuppressores e anticoagulantes.²⁶ Petersen et al, examinando associação ACL e lipoproteína (a) com episódios ateroembólicos em HD, encontraram baixa prevalência de ACL, mas alta incidência de trombozes nesses pacientes.²⁷ Outros autores não encontraram absolutamente nenhuma correlação entre elevados títulos de anticorpos antifosfolipídios, níveis anormais de vários fatores de coagulação e ocorrência de trombozes de acesso vascular.²⁸ Comparação entre sobrevida de enxertos arteriovenosos e de fístulas para HD, em ACL reagentes e não-reagentes, mostrou que elevados níveis do auto-anticorpo parecem correlacionar-se com encurtada sobrevida de próteses, mas não de fístulas, num período de 6 meses de seguimento.^{29,30} Trombose de fístula AV foi associada à presença de fator anticoagulante lúpico, mas não a ACL.¹¹ Recentemente Manns et al também não encontraram associação entre aumento de homocisteína sérica e de ACL com trombose de acesso vascular em HD.³¹

Assim, editorial publicado em 1993 por Triplett parece ser ainda válido: "Anticorpos anticardiolipina e trombose: consequência, coincidência ou causa?"³² Em verdade, dados sobre a associação ACL e trombose são conflitantes. A fisiopatologia da síndrome antifosfolipídio é pouco conhecida. Contudo, anticorpos antifosfolipídio parecem reduzir os níveis de anexina V (um anticoagulante de superfície que tem alta afini-

dade por fosfolipídios aniônicos) e aceleram a coagulação do plasma. Assim, redução dos níveis de anexina V nas células vasculares parece ser importante mecanismo de trombose e perda fetal na síndrome antifosfolipídio.^{33,34}

Conclui-se, de acordo com os dados do presente estudo, que existem evidências convincentes de que presença de ACL pode ser um fator independente de risco associado a hepatite C em HD. Isso não ocorreu nos Hbs Ag reagentes nem nos controles. Achados característicos de síndrome antifosfolipídio não foram mais freqüentes nos pacientes ACL reagentes do que nos não reagentes.

Referências

1. Hughes GRV. The antiphospholipid syndrome: ten years on. *Lancet* 1993;342:341-4.
2. Roubey RAS, Hoffman M. From antiphospholipid syndrome to antibody – mediated thrombosis. *Lancet* 1997;350:1491-3.
3. Hughes GRV. Thrombosis, abortion, cerebral disease and the lupus anticoagulant. *BMJ* 1983;287:1088-9.
4. Harris EM, Boey ML, Mackworth-Young CG, Gamrivi AE, Patel BM, Loizou S, et al. Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1983;2:1211-4.
5. Harris EM, Baguley E, Asherson RA. Clinical and serological features of antiphospholipid syndrome (APS) [abstract]. *Br J Rheumatol* 1987;26:19.
6. Hamstein A, Björkholm M, Holm G, Norberg R, De Faire U. Antibodies to cardiolipin in young survivors of myocardial infarction: an association with recurrent cardiovascular events. *Lancet* 1986;1:113-5.
7. Schulman S, Svenungsson E, Granqvist S. Anticardiolipin antibodies predict early recurrence of thromboembolism and death among patients with venous thromboembolism following anticoagulant therapy. *Am J Med* 1998;104:332-8.
8. Prieto J, Yuste JR, Beloqui O, Civeira MP, Riezu JI, Aguirre B, et al. Anticardiolipin antibodies in hepatitis C: implications of hepatitis C virus as the cause of the antiphospholipid syndrome. *Hepatology* 1996;23:199-204.
9. Leroy V, Arvieux J, Jacob MC, Maynard Muet M, Baud M, Zaeski JP. Prevalence and significance of anticardiolipin, anti-beta 2 glycoprotein I and anti-prothrombin antibodies in chronic hepatitis C. *Br J Haematol* 1998;101:468-74.
10. Pereira BJJ, Levey AS. Hepatitis C virus infection in dialysis and renal transplantation. *Kidney Int* 1997;51:981-99.
11. Brunet P, Aillaud MF, San Marco M, Philip-Joet C, Dussol B, Bernard D, et al. Antiphospholipid in hemodialysis

Santos CA et al - Anticardiolipina e hepatite C em diálise

- patients: relationship between lupus anticoagulant and thrombosis. *Kidney Int* 1995;48:794-800.
12. Vaarala O, Palosuo T, Kleemola M, Aho K. Anticardiolipin response in acute infections. *Clin Immunol Immunopathol* 1986;41:8-15.
 13. Garcia-Martin F, De Arriba G, Carrascosa T, Moldenhauer F, Martin-Escobar E, Val J, et al. Anticardiolipin antibodies and lupus anticoagulant in end stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 1991;6:543-7.
 14. Mac Kenzie WR, Davis JP, Peterson DE, Hibard AJ, Becker G, Zarvan BS. Multiple false-positive serologic tests for HIV, HTLV – 1 and hepatitis C following influenza vaccination. *JAMA* 1992;268:1015-7.
 15. Fabrizzi F, Lunghi G, Andrulli S, Pagliari B, Mangano S, Faranna P, et al. Influence of hepatitis C virus (HCV) viraemia upon serum aminotransferase activity in chronic dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1997;12:1394-8.
 16. Chauveau PH. Epidemiology of hepatitis C virus infection in chronic haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11(suppl 4):39-41.
 17. Cisterne JM, Roistang L, Izopet J, Chabanter NH, Baron E, Duffaut M. Epidemiology of HCV infection: disease and renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11(suppl 4):46-7.
 18. David-Neto E, Abdallah KA, Bassit L, Pereira AS, Alquezar AS, Fonseca JA, et al. Anti-HCV antibody is sensitive but not sufficient to detect HCV active infection in renal transplanted patients: the role of PCR for HCV-RNA. *Transplant Proc* 1997;29:781-2.
 19. Roggendorf M, Lu M, Meisel H, Riffelmann M, Screier E, Viazov S. Rational use of diagnostic tools in hepatitis C. *J Hepatol* 1996;24(suppl 2):26-34.
 20. Misiani R, Bellavita P, Fenilli D, Borelli G, Marchesi D, Messaza M. Hepatitis C virus infection in patients with essential mixed cryoglobulinemia. *Annals Inter Med* 1992;117:573-7.
 21. Agnello V, Chung RT, Kaplan L. A role for hepatitis C virus infection in type II cryoglobulinemia. *N Engl J Med* 1992;327:1490-5.
 22. Pozzato G, Mazzaro C, Crovatto M. Low grade malignant lymphoma, HCV infection and mixed cryoglobulinemia. *Blood* 1994;84:3047-53.
 23. D'Amico G. Renal involvement in hepatitis C infection: cryoglobulinemic glomerulonephritis. *Kidney Int* 1998;54:650-71.
 24. Davis CL, Gretch DR, Carithers RL. Hepatitis C virus in renal disease. In: Brenner BM, editor. *Current review of nephrology and hypertension*. Philadelphia: Current Science; 1995.p. 164-73.
 25. Ardilles LG, Olarravia F, Elgueta M, Moya P, Mezzno S. Anticardiolipin antibodies in classic pediatric hemolytic – uremic syndrome: a possible pathogenic role. *Nephron* 1998;78:278-83.
 26. Venkata S, Seshan L, Barisoni L, Smith N, Needle V, Agatti D, et al. Renal disease in antiphospholipid antibody syndrome (AOALS) [abstract]. *J Am Soc Nephrol* 1996;7:1343.
 27. Petersen LJ, Ringsdal VS, Ladefoged SD, Baslund B, Hansen PR. Anticardiolipin antibodies and lipoprotein (a) levels in patients with chronic renal failure treated with dialysis: associations with atherothrombotic disease. *Int J Artif Organs* 1996;19:339-42.
 28. Ribeiro S, Carvalho F, Remédio F, Vila A, Ramos A, Guerra A, et al. Vascular access thrombosis and antiphospholipids in hemodialysis patients [abstract]. *J Am Soc Nephrol* 1996;7:1418.
 29. Prakash R, Miller CC, Suki WN. Anticardiolipin antibody in patients on maintenance hemodialysis and its association with recurrent arteriovenous graft thrombosis. *Am J Kidney Dis* 1995;26:347-52.
 30. Valeri S, Radhakrishnan J. Anticardiolipin antibody (ACLA) in hemodialysis patients: a prospective study [Abstract]. *J Am Soc Nephrol* 1996;7:1423.
 31. Manns BJ, Burgress ED, Parsons HG, Schaefer JP, Hyndman ME, Scott-Douglas NW. Hyperhomocysteinemia, anticardiolipin antibody status, and risk for vascular access thrombosis in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1999;55:315-20.
 32. Tripplett DA. Antiphospholipid antibodies and thrombosis: a consequence, coincidence ou cause? *Arch Pathol Lab Med* 1993;117:78-88.
 33. Rand JH, Wu XX, Andree HAM, Lockwood CJ, Guller S, Scher J, et al. Pregnancy loss in the antiphospholipid – antibody syndrome: a possible thrombogenic mechanism. *N Engl J Med* 1997;337:154-60.
 34. Cowchock S. Autoantibodies and pregnancy loss. *N Engl J Med* 1997;337:197-8..

Última versão recebida em 9/8/2000. Aceito em 23/8/2000.
 Fonte de financiamento e conflito de interesse inexistentes.
