

Anticorpos antifosfolípides em adultos com púrpura trombocitopênica imune

Assessment of antiphospholipid antibodies in adult patients with immune thrombocytopenic purpura

Marcos de Bastos¹, Bruna Martins Paiva², Maíra Guimarães Corade Reis², Samila Prado Martins Costa², Jéssica de Paula Paschoalino²

DOI: 10.5935/2238-3182.20140082

RESUMO

¹ Médico. Pós-Doc em Epidemiologia Clínica. Professor da Faculdade da Saúde e Ecologia Humana. Vespasiano, MG – Brasil.

² Acadêmica do Curso de Medicina da Faculdade de Saúde e Ecologia Humana. Vespasiano, MG – Brasil.

Introdução: a púrpura trombocitopênica imune (PTI) é doença autoimune adquirida, caracterizada por trombocitopenia. A PTI em adultos usualmente apresenta evolução crônica e o diagnóstico é sugerido pela exclusão de outras causas de trombocitopenia. Anticorpos antifosfolípides (AAF) com perda fetal ou trombose vascular definem a síndrome antifosfolípide (SAF). AAFs também podem ser identificados em portadores adultos de PTI. O objetivo deste estudo foi avaliar as associações entre AAF e PTI e entre PTI AAF positivo e TV. **Método:** trata-se de estudo de coorte incluindo pacientes com PTI atendidos em um ambulatório de um hospital público em Belo Horizonte, entre 1981 e 2006. Os dados relativos ao diagnóstico e ao acompanhamento foram extraídos de prontuários médicos, de laudos laboratoriais e por pesquisa telefônica. **Resultados:** foram diagnosticados 65 adultos com PTI, dos quais 28 (43,1%) foram avaliados para AAF. Cinco pacientes foram AAF positivo (18% dos pacientes avaliados, intervalo de confiança de 95% - 7,3% a 33,9%). Não houve diferença entre os grupos AAF positivo e AAF negativo em relação à idade e evolução clínica. Houve tendência ao predomínio de pacientes masculinos no grupo AAF positivo (valor p 0,08, teste qui-quadrado). Nenhum evento trombótico foi observado em 956 meses acumulados de observação. **Conclusão:** observou-se AAF em 18% dos pacientes com PTI de adultos, mas não se constatou evento trombótico em pacientes com PTI.

Palavras-chave: Púrpura Trombocitopênica Idiopática; Trombose Venosa; Anticorpos Antifosfolípides.

ABSTRACT

Introduction: Immune Thrombocytopenic Purpura (ITP) is an acquired autoimmune disease characterized by low-platelet counts. ITP in adults usually runs a chronic course and the diagnosis is suggested by ruling out other diseases that may cause thrombocytopenia. Antiphospholipid antibodies (aPL) may be associated with vascular thrombosis or fetal loss as defined by the Antiphospholipid Syndrome (APS). aPL may also be found in adult ITP. The aim of this study was to evaluate the association between aPL and ITP between aPL and venous thrombosis. **Material and methods:** The study is a cohort comprising adult IPT patients who attended a large public hematological unit in Belo Horizonte, Minas Gerais, from 1981 to 2006. Data on diagnosis and follow-up were abstracted from medical record, laboratory databases and by telephone interviews. **Results and discussion:** A total of 65 adults were identified with adult ITP of whom 28 (43,1%) had aPL tested. Five ITP patients were aPL positive (18%, 95% CI 7.3 to 33.9). There was no difference between aPL positive and negative ITP patients regarding age and clinical evolution but there was a trend towards male overrepresentation in aPL positive ITP patients (p value 0.08, chi-squared test). No venous thromboembosis was observed in 956 cumula-

Instituição:
Faculdade da Saúde e Ecologia Humana – FASEH
Vespasiano, MG – Brasil

Autor correspondente:
Marcos de Bastos
E-mail: marcosdebastos.hemato@gmail.com

tive months of observation. Conclusion: We observed aPL in 18% of adult ITP patients but no thrombosis in adult ITP patients.

Key words: Purpura, Thrombocytopenic, Idiopathic; Venous Thrombosis; Antibodies, Antiphospholipid.

INTRODUÇÃO

A púrpura trombocitopênica imune ou idiopática (PTI) é doença autoimune adquirida, caracterizada por trombocitopenia inferior a 100×10^9 plaquetas/L.¹ O diagnóstico requer a exclusão de outras causas de trombocitopenia, tais como lúpus eritematoso sistêmico (LES), síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS), hepatite virótica, entre outras. A evolução da PTI em adultos é usualmente crônica, podendo durar muitos meses sem remissão espontânea.^{1,2}

Os anticorpos antifosfolípidos (AAF) são uma família heterogênea de proteínas com afinidade para fosfolípidos, incluindo anticorpos dirigidos para β_2 -glicoproteína I, cardiolipina e protrombina. Na prática clínica, os AAFs podem se associar a trombose vascular ou perdas fetais, definindo a síndrome antifosfolípide (SAF). A SAF é detectada laboratorialmente com testes para anticoagulante lúpico (AL) e anticorpos anticardiolipina (ACL).³ Há evidência, em estudos laboratoriais e em modelos animais, da associação entre AAF e hipercoagulabilidade.⁴ A trombocitopenia é observada entre 20 e 40% dos portadores de SAF.⁵⁻⁹ Inversamente, AAFs são descritos entre 20 e 75% dos pacientes adultos com PTI.¹⁰⁻¹⁵ A importância clínica dos AAFs na PTI de adultos é controversa, não havendo consenso em relação ao prognóstico dos pacientes com PTI e AAF.¹⁶ Devido à associação dos AAF e trombose venosa (TV) na SAF, sugeriu-se que esses anticorpos possam se associar à TV em pacientes adultos com PTI.¹⁶

Este estudo avalia as associações entre PTI de adulto e AAF e entre AAF e TV na PTI de adultos, em uma coorte acompanhada em uma unidade hematológica de um grande hospital público em Belo Horizonte, Minas Gerais.

MÉTODOS

Trata-se de coorte de pacientes adultos com PTI acompanhados no Hospital Governador Israel Pinheiro (HGIP), em Belo Horizonte, entre 1981 e 2006. O HGIP possui 450 leitos e atende a funcionários públicos estaduais e seus dependentes, que contribuem

para o plano de saúde estadual (IPSEMG). O serviço de hematologia do HGIP apresenta capacidade para atendimento de doenças neoplásicas e hemostáticas de alta e média complexidade.

Os pacientes deste estudo foram adultos com idade superior a 18 anos e que preenchiem critérios diagnósticos para PTI.¹ Foram excluídos gestantes, pacientes soropositivos para hepatite virótica B ou C, AIDS, LES ou outra doença autoimune, pacientes com trombocitopenia induzida por heparina ou história medicamentosa que pudesse estar associada à trombocitopenia.

Prontuários médicos e registros de exames laboratoriais foram revistos. Os pacientes foram também entrevistados por telefone em relação ao diagnóstico e acompanhamento. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FASEH (número de protocolo 394/2011).

As variáveis para identificação incluíram “número único de identificação”, “gênero”, “idade ao diagnóstico”, “data do diagnóstico de PTI”, “data do último acompanhamento ou óbito” e “avaliação de remissão”. Hepatite virótica do tipo C foi rastreada por teste rápido (Bioeasy, Belo Horizonte, Brazil) e o antígeno para hepatite B (Hb_sAg) e os anticorpos contra AIDS foram rastreados pelo sistema VIDAS (bioMérieux, bioMérieux sa F-69280 Marcy l’Etoile, France). LES foi rastreado por anticorpos antinucleares (FAN) (Bion Enterprise, 455 State Street, Suite 100, Des Plaines, IL 60016, USA). AL foi rastreado por teste derivado do tempo de tromboplastina parcial ativado e pelo teste do veneno diluído de víbora Russell (dR-VVT) (TriniCLOT *Lupus Screening and confirmatory tests*, Trinity Biotech USA, 4 Connell Drive, Suite 7100, Berkeley Heights, New Jersey, NJ 07922, USA). ACLs foram detectados por técnica de enzimmunoensaio aplicando ponto de corte em 20 UI GPL. A avaliação do tamanho do baço e do fígado foi feita pela revisão de prontuários médicos e laudos ultrassonográficos.

A variável de desfecho foi a história de TV (trombose venosa profunda, embolia pulmonar ou trombose mesentérica). Adicionalmente, foram também pesquisadas as data de eventuais esplenectomias ou hemorragias.²

A avaliação estatística foi feita no Epi Info 6.0 (*Centers for Disease Control and Prevention*, Atlanta, GA, USA). As comparações entre variáveis categóricas foram feitas com o teste qui-quadrado. O teste não paramétrico de Mann-Whitney foi usado na comparação de variáveis “idade” e “tempo de acompanhamento”. O intervalo de confiança de 95% foi

calculado para comparar a prevalência de AAF nos diversos estudos.¹⁷ O nível de significância foi de 0,05.

RESULTADOS

O total de 65 pacientes preencheu os critérios diagnósticos para PTI. A maioria dos pacientes foi do sexo feminino (50/65 pacientes, 77% do total). A idade média foi de 50 anos, com desvio-padrão (DP) de 17 anos e limites de 19 e 91 anos. A contagem média de plaquetas ao diagnóstico foi $93 \times 10^9/L$. Um paciente apresentou esplenomegalia (2%) e quatro, hepatomegalia (6%). A duração média do acompanhamento e o desvio-padrão foram 34 meses e 45 meses, respectivamente (limites de um mês e 231 meses). Houve dois óbitos (3%), sendo um identificado durante o acompanhamento e o outro por entrevista telefônica. Ambos os óbitos se deveram a causas não relacionadas à PTI (Tabela 1).

Tabela 1 - Características clínicas dos 65 pacientes adultos com PTI

Característica	Resultado
Idade média e desvio padrão (em anos)	50 ± 17
Acompanhamento médio e desvio padrão (em meses)	34 ± 45
Trombocitopenia ao diagnóstico (%) [§]	55 (85)
Gênero	
Feminino (%)	50 (77)
Masculino (%)	15 (23)
Esplenomegalia (%)*	1 (2)
Hepatomegalia (%)*	4 (6)
Óbitos (%)	2 (3)
Eventos trombóticos (%)	0 (0)
Avaliação de anticorpos antifosfolípides (%)**	28 (43)

PTI: Púrpura trombocitopênica imune [§]Trombocitopenia (plaquetas inferiores a $100 \times 10^9/L$) em exame admissional na clínica hematológica * Visceromegalia identificada em exame físico ou laudo de exame de imagem. ** Anticorpos anticardiolipina detectados por ensaio imunoenzimático e ponto de corte em 20 UI GPL - 23 pacientes avaliados com 1 resultado positivo (4% dos pacientes avaliados). Para anticoagulante lúpico, foram avaliados 19 pacientes com testes derivados do TTPa e do veneno diluído da víbora Russell (dRVVT). O ponto de corte foi de 1.2 para a relação entre o tempo para coagulação da amostra do paciente e a do controle - 4 testes foram positivos (14% dos pacientes avaliados).

Não houve diferença entre os cinco pacientes com PTI AAF positivo (5/28 pacientes, 18% dos pacientes testados para AAF, intervalo de confiança de 95% - 7,3% e 33,9%) e os 23 pacientes com PTI AAF negativo em relação à idade média ao diagnóstico, tempo médio de acompanhamento, contagem de plaquetas, esplenomegalia ou hepatomegalia ao

diagnóstico e óbito (Tabela 2). A diferença por gênero entre os grupos AAF positivo e negativo foi limítrofe, com tendência ao predomínio do sexo masculino no grupo AAF positivo (valor p 0,08). Não se observou evento trombótico em 956 meses acumulados de acompanhamento dos pacientes.

Tabela 2 - Características clínicas de 28 adultos com PTI avaliados para anticorpos antifosfolípides

Características	AAF positivo (n = 5)**	AAF negativo (n = 23)**	Valor p [†]
Idade média e desvio padrão (em anos) [†]	55 ± 11	49 ± 17	0,51
Acompanhamento média e desvio padrão (em meses) [†]	44 ± 45	32 ± 32	0,82
Trombocitopenia ao diagnóstico (%)*	4 (80)	15 (65)	0,99
Gênero			
Feminino (%)	2 (40)	19 (83)	
Masculino (%)*	3 (60)	4 (17)	0,08
Esplenomegalia (%)*	0	0	-
Hepatomegalia (%)*	1 (20)	2 (9)	0,46
Óbitos (%)*	0	1 (4)	0,99
Eventos trombóticos (%)*	0	0	-

PTI: Púrpura trombocitopênica imune; [§]Trombocitopenia (plaquetas inferiores a $100 \times 10^9/L$) em exame admissional na clínica hematológica. AAF: Anticorpos antifosfolípides. * Visceromegalias identificadas em exame físico ou laudo de exames de imagem ** Anticorpos anticardiolipina detectados por ensaio imunoenzimático e ponto de corte em 20 UI GPL - 23 pacientes avaliados com 1 resultado positivo (4% dos pacientes avaliados). Para anticoagulante lúpico, foram avaliados 19 pacientes com testes derivados do TTPa e do veneno diluído da víbora Russell (dRVVT). O ponto de corte foi de 1.2 para a relação entre o tempo para coagulação da amostra do paciente e a do controle - 4 testes foram positivos (14% dos pacientes avaliados). [†]valor p calculado por teste não paramétrico de Mann-Whitney para idade e tempo de acompanhamento. * valor p calculado pelo teste do qui quadrado para comparação dos gêneros, do número de trombocitopenias ao diagnóstico, visceromegalias, óbitos, e eventos trombóticos.

DISCUSSÃO

No corrente estudo, cinco entre 28 pacientes adultos com PTI (18%, IC de 95% 7,3-33,9) foram AAF positivo. Nenhum paciente apresentou TV no período de acompanhamento. Assim, não foi possível demonstrar associação entre AAF em pacientes adultos com PTI e TV durante 956 meses acumulados de acompanhamento.

A prevalência de AAF em PTI varia entre 25 e 40% e a prevalência de TV em pacientes com PTI AAF positivo de 0 a 23%.^{2,14-16,18-19} A proporção de pacientes AAF positivo no estudo atual é consistente com o estudo de Despujol (2008), que observou prevalência de 26% (55/215, IC 95% 20,7%-30,9%).¹⁶ Moules (2011) também estimou a positividade de AAF em PTI em 25%.¹⁹ Dessa maneira, considerou-se que a prevalên-

cia de AAF em portadores de PTI de adultos no estudo atual foi comparável à desses estudos.

Ainda, no estudo de Despujol¹⁶, 10 eventos trombóticos foram descritos, incluindo quatro pacientes AAF positivo. Por outro lado, Diz-Kuçükkaya¹⁴ relatou positividade para AAF em 31 entre 82 pacientes com PTI (38%). Após cinco anos de acompanhamento, a sobrevida acumulada livre de trombose nos pacientes com PTI AAF positivo e AAF negativo foram 39 e 97,7%, respectivamente (valor $p < 0,01$, teste de *Log-rank*). No estudo de Yang¹⁸, a prevalência de AAF em pacientes com PTI foi de 20 entre 70 (28,5%) e houve dois eventos trombóticos entre os pacientes AAF positivo (10%). Nenhum evento trombótico foi detectado em pacientes AAF negativo.

É interessante observar que AAF pode ser frequente em PTI, mas que pode variar em diferentes estágios da doença. Nos períodos de remissão da PTI, AAF pode se tornar não detectável. Tanto a frequência quanto os títulos de AAF foram maiores durante as recaídas do que durante as remissões da PTI. Esses achados sugerem que o AAF possa ter papel na recaída da PTI ou que possa ser consequência da destruição plaquetária.¹⁵

Em resumo, há controvérsias em relação à associação dos AAFs em PTI e TV. Para esclarecer essa dúvida, uma abordagem pode envolver uma revisão sistemática com metanálise para aumentar o tamanho amostral, reduzir a imprecisão das medidas e explorar a qualidade e a heterogeneidade dos estudos.²⁰

O estudo atual teve média de acompanhamento de 34 meses, similar à de outros estudos com 20 a 32 meses de acompanhamento.^{14,16,18} Como não foram detectados eventos trombóticos no estudo atual, análises de sobrevivência como Kaplan-Meier e Cox não puderam ser aplicadas.^{17,21} A idade, tempo de acompanhamento e grau de trombocitopenia ao diagnóstico, possíveis fatores de confundimento entre AAF e PTI de adultos e entre AAF e TV em PTI não influenciaram os resultados do estudo atual. A distribuição por gênero sugere excessiva representação do sexo masculino no grupo de pacientes com PTI AAF positivo (significância limítrofe). Esperava-se que o gênero feminino fosse mais prevalente nos pacientes com PTI, uma vez que a maioria dos pacientes atendidos no HGIP e com PTI eram do sexo feminino (cerca de 70 a 80% dos pacientes).²² O predomínio masculino no subgrupo de pacientes com PTI AAF positivo pode ser artefato devido ao pequeno tamanho amostral, observação enviesada ou uma diferença verdadeira.

Há possibilidade de viés de seleção; pacientes masculinos com PTI podem ter sido considerados “atípicos” e, assim, encaminhados para consulta hematológica e avaliação laboratorial em maior proporção do que as mulheres com PTI. Ainda, os pacientes com PTI com maior probabilidade de TV podem ter sido excluídos do estudo atual por limitações de acesso ao serviço de hematologia. Assim, aqueles pacientes com PTI e eventos trombóticos poderiam ter sido encaminhados para outros centros conveniados, resultando na seleção dos casos sem trombose na série atual.

Por outro lado, para o nosso conhecimento, esta é a primeira avaliação de pacientes brasileiros adultos com PTI em relação à AAF. Concluiu-se que houve associação entre AAF e PTI de adultos, mas não se observou associação entre AAF e TV.

REFERÊNCIAS

1. Provan D, Stasi R, Newland AC, Blanchette VS, Bolton-Maggs P, Bussell JB, *et al.* International consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia. *Blood*. 2010; 115:168-86.
2. Stasi R, Evangelista ML, Stipa E, Buccisano F, Vendetti A, Amadori S. Idiopathic thrombocytopenic purpura: Current concepts in pathophysiology and management. *Thromb Haemost*. 2008; 99: 4-13.
3. Rand JH. The antiphospholipid syndrome. *Hematology*. 2007; 1:136-42.
4. Farmer-Boatwright MK, Roubey RAS. Venous thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Arteriosclerosis, Thromb Vasc Biol*. 2009; 29:321-5.
5. Cuadrado MJ, Mujic F, Munoz E, Khamashta MA, Hughes GRV. Thrombocytopenia in the antiphospholipid syndrome. *Ann Rheumat Dis*. 1997; 56:194-6.
6. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC, *et al.* International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. *Arthritis Rheumat*. 1999; 42:1309-11.
7. Cervera R, Piette JC, Font J, Khamashta MA, Shoenfeld Y, Camps MT, *et al.* Antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. *Arthritis Rheumat*. 2002; 46:1019-27.
8. Krause I, Blank M, Fraser A, Lorber M, Stojanovich L, Rovinsky J, *et al.* The association of thrombocytopenia with systemic manifestations in the antiphospholipid syndrome. *Immunobiology*. 2005; 210(10):749-54.
9. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, *et al.* International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost*. 2006; 4(2):295-306.
10. Stasi R, Stipa E, Masi M, Oliva F, Sciarra A, Perrotti A, *et al.* Prevalence and clinical significance of elevated antiphospholipid anti-

- tibodies in idiopathic thrombocytopenic purpura with patients. *Blood*. 1994; 84:4203-8.
11. Arfors L, Winiarski J, Lefvert AK. Prevalence of antibodies to cardiolipin in chronic ITP and reactivity with platelet membranes. *Europ J Hematol*. 1996; 56:230-4.
 12. Funauchi M, Hamada K, Enomoto H, Ikoma S, Ohno M, Kinoshita K, *et al*. Characteristics of the clinical findings in idiopathic thrombocytopenic purpura with patients who are positive for anti-phospholipid antibodies. *Intern Med*. 1997; 36(12):882-5.
 13. Lipp E, Felten AV, Sax H, Muller D, Berchtold P. Antibodies against platelet glycoproteins and antiphospholipid antibodies in autoimmune thrombocytopenia. *Europ J Haematol*. 1998; 60: 283-8.
 14. Diz-Küçükkaya R, Hacıhanefioglu A, Yenerel M, Turgut M, Keskin H, Nalçacı M, *et al*. Antiphospholipid antibodies and antiphospholipid syndrome in patients with immune thrombocytopenic purpura presenting: a prospective cohort study. *Blood*. 2001; 98: 1760-64.
 15. Bidot CJ, Jy W, Horstman LL, Ahn ER, Jimenez JJ, Yaniz M, *et al*. Antiphospholipid antibodies in immune thrombocytopenic purpura trend to emerge in exacerbation and decline in remission. *Br J Haematol*. 2005; 128:366-72.
 16. Pierrot-Deseilligny Despujol C, Michel M, Khellaf M, Gouault M, Intrator L, Bierling P, *et al*. Antiphospholipid antibodies in immune thrombocytopenic purpura with adults. *Br J Haematol*. 2008; 142:638-43.
 17. Petrie A, Sabin C. *Medical statistics at a glance*. 3rd ed. Wiley-Blackwell; 2009. 180 p.
 18. Yang Y, Yun GW, Song IC, Baek SW, Lee KS, Ryu HW, *et al*. Clinical Implications of elevated antiphospholipid antibodies in adult patients with primary immune thrombocytopenia. *Korean J Intern Med*. 2011; 26:449-54.
 19. Moulis G, Beyne-Rauzy O, Delavigne K, Fortenfant F, Huguet F, Adoue D. Antiphospholipid antibodies and the risk of thrombosis: a comparative survey between chronic immune thrombocytopenia and primary antiphospholipid syndrome. *Rev Méd Intern*. 2011; 32 (12):724-9.
 20. Higgins JPT, Green S. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*. Edition 5.1; The Cochrane Collaboration, 2011. [Citado em 2014 Set 20]. Disponível em: <http://www.cochrane.org/training/cochrane-handbook>
 21. Gordis L. *Epidemiology*. 2. ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 2000. 308 p.
 22. Bastos M, Bastos MR, Pessoa PC, Bogutchi T, Carneiro-Proietti AB, Rezende SM. Managing suspected venous thrombosis in a mixed primary and secondary care setting using standard clinical assessment and D-dimer in a noninvasive diagnostic strategy. *Blood Coagul Fibrinol*. 2008; 19(1): 48-54.