

## Glomerulonefrite associada à infecção pelo vírus da hepatite C

### Glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection

Lucila M. Valente Lopes, Edmundo P.A. Lopes, A. Eduardo Silva,  
Patrícia Ferreira Abreu, Gianna Mastroianni Kirsztajn,  
Aparecido B. Pereira e Maria Lúcia Ferraz

**Resumo** Descrevem-se pacientes com glomerulonefrites (GNs) associadas à infecção pelo vírus da hepatite C (HCV). Entre agosto de 93 e julho de 96 foram observados 4 pacientes, com idade mediana de 41 anos, sendo 2 do sexo masculino. Pesquisaram-se o anti-HCV por ensaio imuno-enzimático e o HCV-RNA por PCR. Também foram pesquisadas crioglobulinas séricas, hemácias dismórficas no sedimento urinário e proteinúria de 24h. Viremia, crioglobulinas, hematúria e proteinúria foram observadas nos 4 pacientes. As biópsias hepáticas revelaram atividade inflamatória nos 3 pacientes em que foram realizadas e as do rim revelaram glomerulonefrite membranoproliferativa em 3 e glomerulonefrite proliferativa mesangial em 1 paciente. Dois pacientes vêm recebendo antivirais (IFN associado à ribavirina) e evoluindo com melhora. A presença de viremia e de hepatite concomitante com as alterações urinárias constituem indícios do envolvimento viral na glomerulopatia. Tais achados são reforçados pela melhora das alterações urinárias durante o tratamento específico. Conclui-se que a pesquisa de marcadores virais em pacientes com GNs assume relevância na medida em que pode modificar a conduta terapêutica.

**Palavras-chaves:** Glomerulonefrite. Vírus da hepatite C. Crioglobulinemia. Hepatite.

**Abstract** We report 4 patients with glomerulonephritis (GN) associated with hepatitis C virus (HCV) infection seen between August 1993 and July 1996. Two of them were male and median age was 41 years. Anti-HCV was detected by enzyme-immunoassay and HCV-RNA by PCR. Serum cryoglobulins, 24-hour proteinuria, and erythrocyte dysmorphism were also determined. Viremia, cryoglobulinemia, hematuria and proteinuria were observed in all patients. Liver biopsies revealed inflammatory activity in 3 cases, and renal biopsies revealed membranoproliferative glomerulonephritis in 3 patients and mesangial proliferative glomerulonephritis in 1 patient. Two patients are on specific therapy for HCV infection (IFN in combination with ribavirin) and have presented clinical and laboratory improvement. The occurrence of active liver disease and viremia concurrent with urinary alterations suggests viral involvement in renal disease, a conclusion supported by the by improvement of urinary alterations observed after treatment for HCV. We conclude that the search for viral markers in patients with GN is important since their detection could change the therapeutic approach.

**Key-word:** Glomerulonephritis. Hepatitis C virus. Cryoglobulinemia. Hepatitis.

O papel de viroses na etiopatogenia de doenças renais vem despertando, nos últimos anos, a atenção tanto de virologistas como de nefrologistas. Em 1971, foi descrita a associação entre infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) e doença glomerular, por Combes et al<sup>3</sup>.

O vírus da hepatite C (HCV) foi identificado em 1989, constatando-se ser ele o principal responsável pelas hepatites pós-transfusionais não-A, não-B<sup>1 2</sup>. A infecção pelo HCV evolui para hepatite crônica em pelo menos metade dos casos, podendo desencadear, em 20% destes, cirrose e carcinoma hepatocelular<sup>5</sup>. O HCV, entretanto, também vem sendo relacionado a entidades, até então, tidas como *idiopáticas*, especialmente à hepatite *auto-imune* (tipo 2) e à crioglobulinemia mista *essencial*<sup>18</sup>.

Em 1990, Pascual et al<sup>17</sup>, pesquisando o anticorpo contra o HCV (anti-HCV) em 10 casos de crioglobulinemia do tipo II, encontraram positividade em 3 pacientes, sendo que um também apresentava glomerulonefrite (GN). Estudos mais recentes de prevalência do anti-HCV em pacientes com GNs vêm sendo descritos, ora com taxas reduzidas, ora com cifras elevadas, criando controvérsias a respeito da relação do HCV com doenças glomerulares<sup>12 14 20 22 27</sup>.

O objetivo deste artigo é descrever as características clínicas, sorológicas, virológicas, urinárias e histopatológicas, além de aspectos evolutivos e terapêuticos, de pacientes com glomerulonefrites associadas ao HCV e fazer revisão da literatura pertinente.

## MATERIAL E MÉTODOS

*Material.* Entre ago/93 e jul/96 foram atendidos, nos ambulatórios das Disciplinas de Nefrologia e de Gastroenterologia da Escola Paulista de Medicina - UNIFESP, 4 pacientes com GNs, tidas (até então) como *primárias*, nos quais se diagnosticou infecção pelo HCV. O diagnóstico de GN primária era estabelecido através da exclusão de pacientes com evidências clínicas ou laboratoriais de diabetes mellitus, lupus eritematoso sistêmico, lues, neoplasias, esquistossomose ou infecção pelo HBV.

Algumas características clínicas e demográficas dos pacientes encontram-se na Tabela 1. Dois dos 4 pacientes eram do sexo masculino; a idade mediana foi de 41 anos, variando de 22 a 49 anos; todos eram da raça branca. Três pacientes referiam história de anasarca e 1 de edema de membros inferiores (MMII) e em todos os pacientes foi diagnosticada HAS. Todos possuíam antecedente de exposição parenteral, havia de 22 a 30 anos, sendo 2 por uso de drogas por via venosa e 2 por transfusão de sangue ou hemoderivados.

*Métodos.* Foram determinados os níveis séricos das aminotransferases (AST e ALT) por método cinético automatizado e os das proteínas por eletroforese em gel. O anti-HCV foi pesquisado por ensaio imuno-enzimático de segunda geração (Abbott Laboratories, North Chicago, II). A pesquisa do HCV-RNA foi realizada por reação de polimerase em cadeia (PCR), conforme técnica descrita por Shindo et al<sup>23</sup>. A pesquisa de crioglobulinas séricas incluiu a dosagem de proteínas séricas pelo método de Lowry. A caracterização imunoquímica das globulinas foi feita por imuno-eletroforese em gel de agarose, com anti-soros específicos anti-IgG, anti-IgA, anti-IgM, anti-kappa e anti-lambda. Também foi realizada a pesquisa de hemácias dismórficas no sedimento urinário por microscopia de fase e quantificação de proteínas em urina de 24h.

Biópsias do fígado e do rim foram indicadas em todos os pacientes, mas a hepática foi realizada apenas em 3 casos, visto que 1 paciente evoluiu com distúrbios de coagulação. Tal paciente (caso 2) passou a evoluir com

Tabela 1 - Aspectos clínicos e demográficos de 4 pacientes com infecção pelo vírus da hepatite C associada à glomerulonefrite.

Caso	Sexo	Idade (anos)	Queixa	Transmissão	
				via	tempo (anos)
1	M	49	anasarca	drogas IV	30
2	F	41	edema MMII	transfusão	25
3	F	22	anasarca	transfusão	22
4	M	41	anasarca	drogas IV	25

flutuação do coagulograma em decorrência de doença de von Willebrand. As biópsias foram realizadas por via percutânea, conforme técnicas habituais e os estudos histológicos por colorações

de rotina. Os achados histopatológicos do fígado foram interpretados de acordo com a classificação proposta por Desmet et al<sup>4</sup>.

## RESULTADOS

A avaliação das enzimas hepáticas revelou alterações nos 4 pacientes, com níveis séricos de ALT caracteristicamente flutuantes, variando de 1,1 até 1,5 vezes o limite superior da normalidade (LSN). Todos apresentavam baixos níveis séricos de albumina, variando de 2,36 a 3,78g/dl. Os 4 pacientes apresentavam crioglobulinemia, sendo 3 do tipo II (IgM-kappa monoclonal e IgG policlonal) e 1 do tipo I (IgM e

IgG monoclonais). Todos os casos apresentavam anticorpos contra o HCV e viremia estabelecida, pela presença de HCV-RNA no soro. Os níveis séricos de ALT e de albumina, as características da crioglobulinemia e a viremia encontram-se na Tabela 2.

Todos apresentavam função renal pouco comprometida, com depuração de creatinina variando de 59 a 101ml/min; também

Tabela 2 - Achados laboratoriais em 4 pacientes com infecção pelo vírus da hepatite C associada à glomerulonefrite.

Caso	ALT (XLSN)	HCV-RNA (PCR)	Albumina (g/dL)	Crioglobulina	
				Tipo	µg/ml
1	1,5	(+)	3,59	II	470
2	1,2	(+)	3,13	I	380
3	1,1	(+)	3,78	II	243
4	1,5	(+)	2,36	II	186

ALT: alanina aminotransferase; LSN: limite superior da normalidade; PCR: reação de polimerase em cadeia.

apresentavam proteinúria, variando de 0,6 a 4,3 g/24h, além de hematúria com hemácias dismórficas. A depuração de creatinina e as alterações urinárias nos 4 pacientes encontram-se na Tabela 3.

A biópsia hepática revelou alterações histológicas nos 3 casos em que foi realizada.

Atividade inflamatória tecidual (grau  $\geq 2$ ) e a presença de fibrose (estadio  $\geq 1$ ) foram identificados nestas 3 biópsias de fígado. A flutuação dos níveis séricos de ALT sugere comprometimento hepático no paciente que não foi submetido à biópsia hepática. A biópsia renal revelou GN membranoproliferativa (GNMP) em

Tabela 3 - Depuração de creatinina e achados urinários em 4 pacientes com infecção pelo vírus da hepatite C associada à glomerulonefrite.

Caso	Depuração Creat. (ml/min)	Proteinúria (g/24h)	Hematúria mil/ml
1	59	0,6	210
2	61	2,1	100
3	75	4,3	2.400
4	101	1,7	600

3 casos e GN proliferativa mesangial (GNPM) em 1. Os achados histopatológicos das biópsias hepáticas e renais encontram-se na Tabela 4.

Durante a evolução, 1 paciente (caso 2) abandonou o acompanhamento ambulatorial, após ter sido seguido por alguns anos, recebendo tratamento imuno-supressor, com relativo controle clínico. O caso 1 vinha sendo acompanhado, há alguns anos, e tratado com imuno-supressores,

com flutuação do quadro clínico-laboratorial. Após o diagnóstico de hepatite pelo HCV, recebeu tratamento antiviral com ribavirina, apresentando surpreendente melhora durante o tratamento, com controle da HAS, regressão do edema de MMII e redução da proteinúria, mas evoluiu com recidiva da doença hepática e renal após suspensão da medicação. Posteriormente, apresentou abdome agudo, compatível com

Tabela 4 - Aspectos histopatológicos do fígado e do rim em 4 pacientes com infecção pelo vírus da hepatite C associada à glomerulonefrite.

Biópsia	Hepática		Renal
	grau	estadio	
1	2	2	GN membranoproliferativa
2	-	-	GN membranoproliferativa
3	2	1	GN membranoproliferativa
4	2	4	GN proliferativa mesangial

isquemia intestinal e evoluiu para óbito após intervenção cirúrgica. Os casos 3 e 4 vêm recebendo terapia específica contra o HCV, há alguns meses, através da associação de interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ), na dose de 3 MU, 3 vezes

por semana, com ribavirina, na dose de 1g/dia, e evoluindo com redução da hipertensão arterial e regressão dos edemas, além da normalização das aminotransferases e desaparecimento da crioglobulinemia, até o momento.

## DISCUSSÃO

Após a primeira descrição de doença glomerular em paciente com infecção pelo HCV, foram publicados estudos, tanto descrevendo a prevalência do anti-HCV em pacientes com GNs, como demonstrando melhora das alterações urinárias nos casos sob tratamento específico contra o agente infeccioso.

Estudando a prevalência do anti-HCV em pacientes com GNs, alguns autores não encontraram positividade em nenhum caso<sup>12 22</sup>. Rollino et al<sup>20</sup>, por sua vez, observaram positividade do anti-HCV em 1 dos 27 pacientes com GN membranosa (GNM). Em São Paulo, pesquisando-se a prevalência do anti-HCV em 81 pacientes com GNs *primárias*, verificou-se positividade em 2 casos, ambos com GNMP, que correspondem aos casos 1 e 2 do presente estudo<sup>14</sup>. Por outro lado, Yamabe et al<sup>27</sup>, investigando a presença do anti-HCV em 146 pacientes com GNs, observaram positividade em 2 dos 24 casos (8,3%) de GNM e em 6 dos 10 casos (60%) de GNMP.

Diante destes resultados, pode-se supor que o envolvimento do HCV nas doenças glomerulares deve variar de acordo com a região analisada e que este agente pode ter relação mais específica com a GNMP. Alguns autores, no entanto, têm relatado outras formas de GNs em associação com a infecção pelo HCV, inclusive com demonstração de partículas virais nos glomérulos.

Vêm sendo descritos casos de GNM, nefropatia por IgA e GN fibrilar<sup>8 20 21 24</sup>. Além dos casos de GNMP, entre os pacientes ora descritos, observou-se 1 caso de GNPM, como também foi verificado por Horikoshi et al<sup>9</sup>. Estes autores detectaram ainda, por microscopia

eletrônica, partículas virais depositadas em região para-mesangial, similares às observadas em pacientes com hepatite não-A, não-B. Mais recentemente, depósitos glomerulares do antígeno *core* do HCV foram demonstrados, por imunofluorescência, em pacientes com GN, sugerindo o forte envolvimento viral na doença glomerular<sup>16 25</sup>.

Como observado em nossos casos e confirmado em outros estudos, a presença de doença hepática em atividade concomitante com a alteração urinária também representa forte indício da participação viral na doença renal<sup>11</sup>. Além disto, a presença de viremia, refletindo replicação viral, detectada em nossos pacientes e nos casos descritos por Johnson et al<sup>10</sup> reforça a importância do estímulo viral na etiopatogenia da GN. Outro aspecto peculiar identificado nos pacientes com GNs associadas ao HCV tem sido a elevada prevalência de crioglobulinemia, detectada em todos os nossos pacientes e em 20 dos 34 casos de Johnson et al<sup>10</sup>. Por fim, confirmando o envolvimento do HCV na GN, estudos vêm demonstrando melhora das alterações renais, com aumento da depuração de creatinina e redução da proteinúria e da hematúria, paralelamente à normalização das transaminases e negatificação da viremia, durante o tratamento antiviral<sup>8 10 24</sup>. De fato, Johnson et al<sup>10</sup>, tratando 14 pacientes com IFN- $\alpha$ , observaram redução da proteinúria em todos os casos, assim como melhora dos níveis séricos de creatinina. A taxa de normalização das transaminases e negatificação do HCV-RNA variou em torno de 50%, ao final do tratamento, mas todos os casos apresentaram recidiva da doença hepática e da renal, após suspensão da medicação. Ultimamente, foram descritos casos

de regressão dos níveis séricos de HCV-RNA associada à redução do criócrito, durante o emprego de IFN, assim como casos de melhora da histopatologia renal após tratamento antiviral<sup>6 7 15 27</sup>.

Por outro lado, alguns estudos têm também revelado melhora das alterações urinárias e regressão dos níveis de crioglobulinas durante o tratamento com imuno-supressores, apesar do aumento da carga virêmica<sup>19</sup>. Os autores sugeriram que a indução de crioglobulinas pelo HCV seria principalmente decorrente de um fenômeno auto-imune e não de efeito direto do agente viral. Todavia, o caso 1 do presente estudo, que foi previamente publicado, apresentou melhora da doença hepática e da renal enquanto se ministrou ribavirina<sup>13</sup>. Esta droga apresenta apenas efeito antiviral, diferente do IFN- $\alpha$  que também dispõe de ação imunomoduladora; a resposta terapêutica observada, neste paciente em particular, faz supor que o estímulo viral seja necessário na indução da crioglobulinemia e da GN.

Em resumo, de acordo com estes dados, tanto de prevalência como de resposta

terapêutica, pode-se admitir o envolvimento do HCV em doenças glomerulares, especialmente na GNMP. Sugere-se, portanto, a pesquisa do anti-HCV ou, ao menos, em virtude da flutuação, avaliações periódicas dos níveis séricos das transaminases nos pacientes com GNs. A pesquisa de crioglobulinas no soro também deve ser realizada em razão de sua elevada ocorrência na GN associada ao HCV. A simples pesquisa de crioglobulinas, em tubo previamente aquecido, pode ser executada em laboratórios com mínimos recursos e com custo praticamente nulo. A identificação de agentes virais nos pacientes com GNs assume grande relevância, na medida em que pode modificar a conduta terapêutica. O tratamento da GN associada ao HCV com imuno-supressores isoladamente deve ser evitado, visto que pode aumentar os níveis virêmicos, com conseqüências ainda mal definidas. Futuros estudos, empregando IFN- $\alpha$ , em doses mais elevadas ou por período mais prolongado, ou em associação com ribavirina, com o objetivo de reduzir a taxa de recidiva da infecção após suspensão do tratamento, devem ser desenvolvidos.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bradley DW. Virology, molecular biology, and serology of hepatitis C virus. *Transfusion Medicine Reviews* 6:93-102, 1992.
- Choo Q-L, Kuo G, Weiner AM, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of cDNA clone derived from a blood borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 244:359-362, 1989.
- Combes B, Stastny P, Shorey J, Barrera A, Eigenbrodt EH, Hull AR, Carter NW. Glomerulonephritis with deposition of Australia antigen-antibody complexes in glomerular basement membrane. *Lancet* ii:234-237, 1971.
- Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer P. Classification of chronic hepatitis: Diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 19:1513-1520, 1994.
- Di Bisceglie AM, Goodman ZD, Ishak KG, Hoofnagle JH, Melpolder JJ, Alter HJ. Long-term clinical and histopathological follow-up of chronic post-transfusion hepatitis. *Hepatology* 14:969-974, 1991.
- Fukumoto S, Ishimura E, Shoji S, Izumotani T, Kitahashi S, Kuroki T, Nishizawa Y, Morii H. Association between type II cryoglobulinemia and hepatitis C virus in a case treated with interferon-alpha. *Nephron* 73:94-96, 1996.
- Gilli P, Stabellini N, Storari A, Gualandi G, Guerra G, Ghinelli F. Effect of human leukocyte alpha interferon on cryoglobulinemic membranoproliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection. *Nephrology Dialysis Transplantation* 11:526-528, 1996.
- Gonzalo A, Navarro J, Bárcena R, Quereda C, Ortuño J. IgA nephropathy associated with hepatitis C virus infection. *Nephron* 69:354, 1995.
- Horikoshi S, Okada T, Shirato I, Inokuchi S, Ohmuro H, Tomino Y, Koide H. Diffuse proliferative glomerulonephritis with hepatitis C virus-like particles in paramesangial dense deposits in a patient with chronic hepatitis C virus hepatitis. *Nephron* 64:462-464, 1993.
- Johnson RJ, Gretch DR, Couser WG, Alpers CE, Wilson J, Chung M, Hart J, Willson R. Hepatitis C virus-associated glomerulonephritis. Effect of  $\alpha$ -interferon therapy. *Kidney International* 46:1700-1704, 1994.
- Johnson RJ, Gretch DR, Yamabe H, Hart H, Bacchi CE, Hartwell P, Couser WG, Corey L, Wener MH, Alpers CE, Willson R. Membranoproliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection. *New England Journal of Medicine* 328:465-470, 1993.
- Lai FM, Tam JS, Liew CT, Ip M, Lai KN. Low prevalence of hepatitis C virus antibodies with primary membranous nephropathy and membranoproliferative glomerulonephritis in Hong Kong. *Nephron* 70:367-368, 1995.
- Lopes E, Lopes LV, Silva AE. Mixed cryoglobulinemia and membranoproliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection. *Annals of Internal Medicine* 125:781-782, 1996.
- Lopes LMV, Lopes EPA, Silva AEB, Kirsztajn GM, Pereira AB, Sesso RC, Ferraz ML. Prevalence of

- hepatitis C virus antibodies in primary glomerulonephritis in Brazil. *American Journal of Nephrology* 18(6): 1998.
15. Morosetti M, Sciarra G, Meloni C, Palmieri G, Palombo G, Gallicci MT, Casciani CU. Membranoproliferative glomerulonephritis and hepatitis C: effects of interferon- $\alpha$  therapy on clinical outcome and histological pattern. *Nephrology Dialysis Transplantation* 11:532-534, 1996.
  16. Okada K, Takishita Y, Shimomura H, Tsuji T, Miyamura T, Kuhara T, Yatsumoto K, Kagami S, Kuroda Y. Detection of hepatitis C virus core protein in the glomeruli of patients with membranous glomerulonephritis. *Clinical Nephrology* 45:71-76, 1996.
  17. Pascual M, Perrin L, Giostra E, Schifferli JA. Hepatitis C virus in patients with cryoglobulinemia type II. *Journal of Infectious Diseases* 162:569, 1990.
  18. Pawlotsky J-M, Yahia MB, Andre C, Voisin M-C, Intrator L, Roudot-Thoraval F, Deforges L, Duvoux C, Zafrani E-S, Duval J, Dhumeaux D. Immunological disorders in C virus chronic active hepatitis: a prospective case-control study. *Hepatology* 19:841-848, 1994.
  19. Quigg RJ, Brathwaite M, Gardner DF, Gretch DR, Ruddy S. Successful cyclophosphamide treatment of cryoglobulinemic membranoproliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection. *American Journal of Kidney Diseases* 25:798-800, 1995.
  20. Rollino C, Roccatello D, Giachino O, Basolo B, Piccoli G. Hepatitis C virus infection and membranous glomerulonephritis. *Nephron* 59:319-320, 1991.
  21. Romas E, Power DA, Machet D, Powell H, D'Apice JF. Membranous glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection in an adolescent. *Pathology* 26:399-402, 1994.
  22. Rostoker G, Deforges L, Maadi AB, Rémy P, Bourgeon B, Lang P, Weil B. Low prevalence of hepatitis C virus antibodies among adult patients with primary glomerulonephritis in France. *Nephron* 63:367, 1993.
  23. Shindo M, Di Bisceglie AM, Cheung L, Shih JW-K, Cristiano K, Feinstone SM, Hoofnagle JH. Decrease in hepatitis C viral RNA during alpha interferon therapy for chronic hepatitis C. *Annals of Internal Medicine* 115:700-704, 1991.
  24. Stehman-Breen C, Alpers CE, Couser WG, Willson R, Johnson RL. Hepatitis C virus associated membranous glomerulonephritis. *Clinical Nephrology* 44:141-147, 1995.
  25. Yamabe H, Inuma H, Osawa H, Kaizuma M, Tamura N, Tsunoda S, Fujita Y, Shioto K, Onodera K. Glomerular deposition of hepatitis C virus in membranoproliferative glomerulonephritis. *Nephron* 72:741, 1996.
  26. Yamabe H, Johnson RJ, Gretch DR, Fukushi K, Osawa H, Miyata M, Inuma H, Sasaki T, Kaisuka M, Tamura N, Tsunoda S, Fujita Y, Onodera K. Hepatitis C virus infection and membranoproliferative glomerulonephritis in Japan. *Journal of the American Society of Nephrology* 6:220-223, 1995.
  27. Yamabe H, Johnson RJ, Gretch DR, Osawa H, Inuma H, Sasaki T, Kaizuma M, Tamura N, Tsunoda S, Fujita Y, Sato A, Onodera K. Membranoproliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection responsive to interferon- $\alpha$ . *American Journal of Kidney Diseases* 25:67-69, 1995.