UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

Gleusa de Castro

**Análise histológica comparativa de biópsias
hepáticas de pacientes com hepatite C crônica,
co-infectados pelo HIV-1, realizadas antes
e após o tratamento da hepatite C**

Ribeirão Preto

2006

GLEUSA DE CASTRO

**Análise histológica comparativa de biópsias hepáticas de
pacientes com hepatite C crônica,
co-infectados pelo HIV-1, realizadas antes
e após o tratamento da hepatite C**

Tese apresentada ao Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor.

Programa de Clínica Médica.

Orientador: Prof. Dr. José Fernando de Castro Figueiredo.

Ribeirão Preto

2006

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio, convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Castro, Gleusa de

Análise histológica comparativa de biópsias hepáticas de pacientes com hepatite C crônica, co-infectados pelo HIV-1, realizadas antes e após o tratamento da hepatite C. Ribeirão Preto, 2006.

145 p. : il. ; 30cm

Dissertação de Doutorado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP – Programa de Clínica Médica.

Orientador: José Fernando de Castro Figueiredo

1. Hepatite crônica C. 2. Vírus da imunodeficiência humana.
3. Tratamento da hepatite C. 4. Histologia hepática.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Gleusa de Castro

Análise histológica comparativa de biópsias hepáticas de pacientes com hepatite C crônica, co-infectados pelo HIV-1, realizadas antes e após o tratamento da hepatite C.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
para obtenção do Título de Doutor em Clínica
Médica.

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

"A distância que separa os sentimentos das palavras. Já pensei nisso. E o mais curioso é que no momento em que tento falar não só não exprimo o que sinto como o que sinto se transforma lentamente no que eu digo...."

"É necessário certo grau de cegueira para poder enxergar determinadas coisas. É essa talvez a marca do artista. Qualquer homem pode saber mais do que ele e raciocinar com segurança, segundo a verdade. Mas exatamente aquelas coisas escapam à luz acesa. Na escuridão tornam-se fosforescentes".

Clarice Lispector

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu filho,

Bruno Castro Gabellini,

que, com seu amor imensurável,

esteve sempre presente ao meu lado e

reforçou a importância do meu caminhar...

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. José Fernando de Castro Figueiredo, docente da Divisão de Moléstias Infecciosas e Tropicais do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP), pela orientação prestada no desenvolvimento deste estudo. Agradeço, com orgulho, ao orientador, médico, professor, pesquisador e, principalmente ao ser humano, pelos ensinamentos a mim transmitidos em todas essas esferas.

Ao Prof. Roberto Martinez, docente e chefe da Divisão de Moléstias Infecciosas e Tropicais do Departamento de Clínica Médica da FMRP-USP, que foi meu orientador de mestrado. Foi ele o responsável por abrir as primeiras portas do conhecimento científico para que eu pudesse entrar e continua me conduzindo nesse processo de forma grandiosa. Muito obrigada!

Ao Prof. Marcelo Simão Ferreira, do Departamento de Clínica Médica da Universidade Federal de Uberlândia, que me despertou para o conhecimento da Infectologia durante a minha graduação.

À Profa. Leandra Naira Zambelli Ramalho e ao Prof. Sérgio Zucoloto, docentes do Departamento de Patologia da FMRP-USP, pelo auxílio na concepção deste estudo e pela valiosa participação na realização dos exames histopatológicos das biópsias hepáticas, parte primordial deste estudo.

Ao Prof. Alex Vianey Callado França, ex-docente da Divisão de Gastroenterologia do Departamento de Clínica Médica da FMRP-USP, assim como as funcionárias Anália Ramos de Arruda e Elisabete Aparecida dos Santos pela grande disponibilidade na realização das biópsias hepáticas.

À Profa. Ana de Lourdes Candolo Martinelli, docente da Divisão de Gastroenterologia do Departamento de Clínica Médica da FMRP-USP, pelo auxílio na concepção e condução deste trabalho.

À Marie Secaf, do Laboratório de Gastroenterologia do HCFMRP-USP, cujo trabalho na biologia molecular foi de grande importância neste estudo.

Ao Prof. Edson Zangiacomi Martinez e aos estagiários Adriana de Fátima Lourencon e David Casale Aragon, do Centro de Métodos Quantitativos (CEMEQ) do HCFMRP-USP, pelo valioso auxílio prestado na análise estatística em todo o caminho deste estudo.

Ao Prof. Afonso Dinis Costa Passos, docente do Departamento de Medicina Social da FMRP-USP, pelo auxílio durante a realização do projeto deste estudo.

À Dra. Maria do Carmo Moraes Rodrigues Torres pelo auxílio nas idéias iniciais deste estudo.

À Dra. Maria Janete Moya pela recepção durante a minha chegada a este hospital e pelo encaminhamento de pacientes para este estudo.

A todos os professores da Divisão de Moléstias Infecciosas e Tropicais do Departamento de Clínica Médica da FMRP-USP pelos ensinamentos dispensados durante toda a minha formação de infectologista: Prof. Roberto Martinez, Prof. José Fernando de Castro Figueiredo, Profa. Alcyone Artioli Machado, Prof. Luiz Tadeu Moraes Figueiredo, Prof. Benedito Antonio Lopes da Fonseca e Prof. João Carlos da Costa.

À Unidade Especial de Terapia de Doenças Infecciosas (UETDI) do HCFMRP-USP, onde tenho o prazer de estar atuando desde a sua criação e onde foi possível a realização deste estudo. Parabéns pelos 10 anos de sua existência.

Aos membros da Equipe da UETDI, lembrados aqui nos nomes de Alci Correa, Amélia Sayore Kanehira, Conceição Aparecida da Silva, Edmar Porfírio de Oliveira, Francisco Carlos Pessoti, Margarida Rodrigues, Maria Francisca Nascimento, Regina Schieri Silva e Marcio Humberto Ferreira Vianna (*in memoriam*), pelo auxílio na condução deste trabalho. Lembro aqui a grande atenção e carinho dispensado diariamente e incansavelmente aos pacientes.

Aos médicos assistentes e residentes da Divisão de Moléstias Infecciosas e Tropicais pelo cuidado com os pacientes.

Aos funcionários do Departamento de Clínica Médica, que sempre me auxiliaram na condução do meu trabalho.

À Maria Letícia Wierman por caminhar comigo e possibilitar o meu crescimento; por abrir as cortinas e encorajar as descobertas.

À Dra. Tany Maria Soares, pela amizade e apoio nestes últimos anos da nossa convivência, que foram preciosos para o meu desenvolvimento.

À Dra. Cátia Costa Guimarães da Trindade pela amizade nestes quase 25 anos de convivência.

À minha família, em especial à minha mãe, Gasparina, pela dedicação, que me levou até onde hoje estou.

Aos pacientes, que foram a razão da existência deste estudo.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Mudanças individuais dos <i>scores</i> histológicos (a) Fibrose, (b) HAI, (c) CEH α -SMA positivas e (d) Depósito de colágeno nas biópsias realizadas pré e pós-tratamento da hepatite C. Em cor vermelha são representados os indivíduos que tiveram o RNA HCV negativo na 24 ^a semana de tratamento.	70
Figura 2.	Distribuição das razões (pós/pré tratamento) dos parâmetros histológicos de acordo com o resultado positivo ou negativo do RNA HCV na 24 ^a semana de tratamento: (a) HAI (b) Fibrose (c) CEH α -SMA positivas (d) Depósito de colágeno.	72
Figura 3.	Distribuição das razões pós/pré tratamento dos parâmetros histológicos de acordo com a duração do tratamento da hepatite C ($\leq$ 24 semanas ou $>$ 24 semanas): (a) HAI; (b) Fibrose; (c) CEH α -SMA positivas; (d) Depósito de colágeno.	74
Figura 4.	Distribuição dos valores individuais dos parâmetros histológicos (pós/pré-tratamento) de acordo com o intervalo de tempo entre o término ou interrupção do tratamento da hepatite e a biópsia-controle: (a) HAI; (b) Fibrose; (c) CEH α -SMA positivas; (d) Depósito de colágeno	76
Figura 5.	Correlações entre as razões (pós/pré tratamento) dos parâmetros histológicos: (a) CEH α -SMA x HAI; (b) Depósito de colágeno x HAI; (c) Fibrose x HAI; (d) Fibrose x CEH α -SMA; (e) Depósito de colágeno x CEH α -SMA; (f) Fibrose x Depósito de colágeno.	83
Figura 6.	Biópsia hepática de um paciente com hepatite C crônica co-infectado pelo HIV, que apresentou resposta virológica na 24 ^a semana de tratamento, antes (A) e após (B) o tratamento da hepatite C. Nota-se que houve redução na inflamação e fibrose (coloração hematoxilina e eosina) (1A, 1B), no depósito de colágeno (coloração pelo picrosirius) (2A e 2B) e na presença das células estreladas hepáticas α -SMA-positivas (imunohistoquímica) (3A e 3B)	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Características demográficas, bioquímicas e virológicas basais dos pacientes com hepatite C crônica co-infectados pelo HIV, Hospital das Clínicas da FMRP-USP, 1999- 2005.	60
Tabela 2-	Esquema terapêutico utilizado no tratamento da hepatite C distribuídos de acordo com a duração deste tratamento nos pacientes co-infectados pelo HCV e HIV, Hospital das Clínicas da FMRP-USP, 1999-2005.	62
Tabela 3-	Distribuição dos intervalos de tempo entre a interrupção da terapêutica para hepatite C e a biópsia hepática pós-tratamento e o intervalo entre as biópsias dos pacientes co-infectados pelo HCV e HIV, Hospital das Clínicas da FMRP-USP, 1999-2005.	63
Tabela 4-	Distribuição dos parâmetros histológicos da biópsia hepática realizada antes do tratamento da hepatite C dos pacientes co-infectados pelo HCV e HIV, Hospital das Clínicas da FMRP-USP, 1999-2005.	64
Tabela 5-	Distribuição dos parâmetros histológicos avaliados nas biópsias hepáticas pré e pós-tratamento da hepatite C dos pacientes co-infectados pelo HCV e HIV, Hospital das Clínicas da FMRP-USP, 1999-2005.	66
Tabela 6-	Distribuição de frequência de pacientes de acordo com as categorias dos parâmetros histológicos avaliados nas biópsias realizadas antes e após o tratamento da hepatite C dos pacientes co-infectados pelo HCV e HIV, Hospital das Clínicas da FMRP-USP, 1999-2005.	67
Tabela 7-	Valores de significância da comparação dos parâmetros histológicos na situação pré e pós-tratamento da hepatite C dos pacientes co-infectados pelo HCV e HIV, Hospital das Clínicas da FMRP-USP, 1999-2005.	69
Tabela 8-	Índices obtidos de biópsias hepáticas realizadas após o tratamento da hepatite C em relação àqueles observados antes do tratamento (razão pós/pré) de acordo com a resposta virológica do HCV na 24ª semana, nos pacientes co-infectados pelo HCV e HIV, Hospital das Clínicas FMRP-USP, 1999-2005.	71

Tabela 9-	Índices obtidos em biópsias hepáticas realizadas após o tratamento em relação àqueles observados antes do tratamento (razão pós/pré), de acordo com a duração do tratamento da hepatite C, nos pacientes co-infectados pelo HCV e HIV, Hospital das Clínicas FMRP-USP, 1999-2005.	73
Tabela 10-	Distribuição dos parâmetros histológicos (pós/pré-tratamento) de acordo com o intervalo de tempo entre a interrupção do tratamento da hepatite e a biópsia-controle, nos pacientes co-infectados pelo HCV e HIV, Hospital das Clínicas FMRP-USP, 1999-2005.	75
Tabela 11-	Resultados da Regressão Logística para a variável Fibrose.	78
Tabela 12-	Resultados da Regressão Logística para a variável PS (depósito de colágeno).	79
Tabela 13-	Resultados da Regressão Logística para a variável CEH SMA.	80
Tabela 14-	Resultados da Regressão Logística para a variável HAI	81
Tabela 15-	Coeficientes de correlação entre os parâmetros histológicos obtidos em biópsias hepáticas realizadas após o tratamento em relação àqueles observados antes do tratamento (razão pós/pré), nos pacientes co-infectados pelo HCV e HIV, Hospital das Clínicas FMRP-USP, 1999-2005	82

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Aids	Síndrome da imunodeficiência adquirida
ALT	Alanina aminotransferase
Anti HCV	Anticorpo contra o vírus da hepatite C
Anti HIV	Anticorpo contra o vírus da imunodeficiência humana
AST	Aspartato aminotransferase
b-DNA	<i>Branched deoxyribonucleic acid</i>
CEH	Célula estrelada hepática
Cel/mm³	Células por milímetro cúbico
CDC	<i>Centers for Diseases Control and Prevention</i>
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DP	Desvio padrão
ET-1	Endothelin-1
ELISA	<i>Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay</i>
Estea	Esteatose hepática
FAP	<i>Fibroblast activation protein</i>
FMRP	Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
g	Grama
g/dia	Gramas por dia
GB	Glóbulos brancos
GFAP	<i>Anti-human glial fibrillary acidic protein</i>
GGT	Gama glutamiltransferase
HAART	<i>Highly active antiretroviral therapy</i>
HAI	Índice de atividade histológica

HB	Hemoglobina
HBsAg	Antígeno de superfície para o vírus da hepatite B
HCV	Vírus da hepatite C
HE	Hematoxilina e eosina
HSCs	<i>Hepatic stellate cells</i>
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
IL	Interleucina
IMC	Índice de massa corporal
INF	Interferon
INF-α	Interferon-alfa
INR	<i>International Normalized Ratio</i>
Kg	Quilograma
Kg/m²	Quilograma por metro quadrado
mg	Miligrama
mg/dL	Miligrama por decilitro
ml	Mililitro
MMP-1	<i>Matrix metalloproteinase-1</i>
MMP-9	<i>Matrix metalloproteinase-9</i>
NA	Não avaliado
NASBA	<i>Nucleic acid sequence based amplification</i>
NR	Não realizado
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PEG	Peguilado
PDGF	<i>Platelet derived growth factor</i>

RNA HCV	Ácido ribonucléico do vírus da hepatite C
RNA HIV	Ácido ribonucléico do vírus da imunodeficiência humana
PS	Picrosirius
RT-PCR	Reação em cadeia da polimerase utilizando a transcriptase reversa
RVS	Resposta virológica sustentada
RNA	Ácido ribonucléico
T CD4⁺	Linfócito T auxiliar
TGF-β	<i>Transforming growth factor-beta</i>
Th 1	Célula T auxiliar tipo 1
Th 2	Célula T auxiliar tipo 2
TNF-α	<i>Tumor necrosis factor-alpha</i>
UETDI	Unidade Especial de Terapia de Doenças Infecciosas
UIBC	Capacidade latente de fixação do ferro
U/L	Unidade por litro
UI/L	Unidades Internacionais por litro
USP	Universidade de São Paulo
α- SMA	<i>Anti-human smooth muscle actin-alpha</i>
μg/dl	Micrograma por decilitro
%	Porcentagem.

Obs.: algumas abreviaturas, devido ao seu uso consagrado, foram mantidas de acordo com o original na língua inglesa.

RESUMO

CASTRO, G. **Análise histológica comparativa de biópsias hepáticas de pacientes com hepatite C crônica, co-infectados pelo HIV-1, realizadas antes e após o tratamento da hepatite C.** 2006 145 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

Sabe-se que o vírus da imunodeficiência humana (HIV) pode modificar a história natural da infecção pelo HCV, acelerando a progressão da fibrose hepática e conseqüente evolução para cirrose. O tratamento com interferon-alfa pode levar à melhora da histologia hepática, reduzindo a inflamação e fibrose, principalmente nos pacientes que apresentam resposta virológica sustentada. O impacto do tratamento sobre a evolução histológica em pacientes não-respondedores ao tratamento da hepatite C apresenta resultados controversos. **Objetivos:** Avaliar, nos pacientes com hepatite C crônica, co-infectados pelo HIV, o impacto do tratamento da hepatite C, sobre as modificações de parâmetros indicativos de fibrose e atividade inflamatória, em biópsias de fígado realizadas antes e após o tratamento da hepatite C. **Métodos:** Foram estudados 26 pacientes co-infectados pelo HCV e HIV-1, submetidos à biópsia hepática antes e, em média, 25,2 meses após o término do tratamento da hepatite C. Fragmentos da biópsia hepática foram comparados, antes e após o tratamento, em relação aos seguintes parâmetros: Índice de Atividade Histológica (HAI) e o grau de Fibrose (Knodell); intensidade do depósito de colágeno (coloração pelo picrosirius) e o grau de ativação das células estreladas (marcação com alfa-actina de músculo liso). Os índices destas variáveis histológicas, pós e pré-tratamento, foram relacionadas com o resultado do teste qualitativo RNA HCV (RT-PCR-AMPLICOR) na 24^a semana de tratamento, com a duração do tratamento da hepatite C e com o intervalo de tempo entre a interrupção do tratamento e a biópsia-controle. Foi avaliada a relação de possíveis fatores prognósticos de resposta virológica com a resposta histológica e foram realizadas correlações dos parâmetros histológicos entre si. **Resultados:** Os parâmetros histológicos avaliados de forma global foram semelhantes nas biópsias pré e pós-tratamento. As razões pós/pré-tratamento,

em todos os parâmetros avaliados nas biópsias hepáticas, diminuíram de forma significativa nos pacientes que apresentaram pesquisa negativa para o RNA HCV na 24ª semana de tratamento. Os parâmetros histológicos foram semelhantes nos grupos com duração de tratamentos diferentes (≤ 24 semanas e > 24 semanas), exceto as CEH células α -positivas, que teve melhora no grupo com tratamento mais prolongado. O intervalo de tempo entre o final do tratamento e a biópsia-controle não influenciou a melhora histológica. Na análise de regressão logística, houve associação da melhora dos parâmetros histológicos com o resultado negativo do RNA HCV na 24ª semana de tratamento. Houve correlação significativa entre todos os parâmetros histológicos avaliados. **Conclusões:** Os pacientes avaliados em conjunto tiveram seus parâmetros histológicos nas biópsias pré e pós-tratamento com valores semelhantes, porém quando se definiu melhora histológica, como a manutenção, ou melhora dos parâmetros histológicos avaliados individualmente, verificou-se que uma substancial parcela da população estudada apresentou melhora histológica. O efeito benéfico do tratamento parece se relacionar com o controle da viremia do HCV durante o tratamento e se verifica também em pacientes que não sustentaram a resposta virológica após a suspensão dos medicamentos. Os achados fazem supor que a redução da viremia do HCV teria como consequência a diminuição da inflamação e fibrose hepáticas, inclusive com diminuição do estado de ativação das células estreladas hepáticas, mesmo nos casos em que não houve resposta virológica sustentada. Os resultados do presente estudo são sugestivos de que o tratamento da hepatite C pode modificar a história natural da evolução da hepatite crônica nos pacientes co-infectados pelo HIV.

Palavras-chave: Hepatite crônica C. Vírus da imunodeficiência humana. Tratamento da hepatite C. Histologia hepática.

ABSTRACT

CASTRO, G. **Comparative histological analysis of liver biopsies from patients with chronic hepatitis C and co-infected with HIV-1, performed before and after the treatment of hepatitis C.** 2006 145 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

Human immunodeficiency virus (HIV) is known to be able to modify the natural history of HCV infection, accelerating the progression of hepatic fibrosis and the consequent evolution to cirrhosis. Treatment with interferon-alpha can lead to improved hepatic histology, reducing inflammation and fibrosis, especially in patients who present a sustained virologic response. The impact of treatment on histological evolution in patients who do not respond to treatment of hepatitis C is a controversial matter. **Objectives:** To evaluate in patients with chronic hepatitis C co-infected with HIV the impact of treatment of hepatitis C on the modifications of the parameters indicative of fibrosis and of inflammatory activity in liver biopsies obtained before and after treatment of hepatitis C. **Methods:** Twenty-six patients co-infected with HCV and HIV-1 were submitted to a liver biopsy before and, on average, 25.2 months after the end of treatment of hepatitis C. Fragments of the liver biopsy were compared before and after treatment regarding the following parameters: histological activity index (HAI) and grade of fibrosis (Knodell); intensity of collagen deposition (picosirius staining), and grade of stellate cell activation (labeling with smooth muscle alpha-actin). The post- and pretreatment ratios of these histological variables were related to the result of the quantitative HCV-RNA test (RT-PCR-AMPLICOR) during the 24th week of treatment, to the duration of treatment of hepatitis C and to the time interval between the discontinuation of treatment and the control biopsy. The relationship between possible factors of the virologic response and the histological response was evaluated and correlations between the various histological parameters were calculated. **Results:** The histological parameters evaluated in a global manner were similar in the pre- and post-treatment biopsies. The post-pretreatment ratios

for all parameters evaluated in the liver biopsies were significantly reduced in patients who were negative for HCV RNA during the 24th week of treatment. The histological parameters were similar in the groups with different durations of treatment (≤ 24 weeks and > 24 weeks), except for α -positive stellate hepatic cells, which were improved in the group with a more prolonged treatment. The time interval between the end of treatment and the control biopsy did not affect the histological improvement. In logistic regression analysis, the improvement of the histological parameters was found to be associated with a negative result of HCV RNA during the 24th week of treatment. There was a significant correlation between all histological parameters evaluated. **Conclusions:** When evaluated as a whole, the patients showed similar values for their histological parameters in the pre- and post-treatment biopsies. However, when histological improvement was defined as the maintenance or improvement of the histological parameters evaluated individually, a substantial part of the study population was found to present histological improvement. The beneficial effect of treatment seemed to be related to the control of HCV viremia during treatment and was also observed in patients who did not sustain the virologic response after the discontinuation of the medications. These findings lead us to assume that the reduction of HCV viremia causes a reduction of hepatic inflammation and fibrosis, as well as a reduction of the state of activation of stellate hepatic cells even in cases in which there is no sustained virologic response. The results of the present study suggest that treatment of hepatitis C can modify the natural history of the course of chronic hepatitis in patients co-infected with HIV.

Key words: Chronic hepatitis C. Human immunodeficiency virus. Treatment of hepatitis C. Liver Histology

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	22
1.1 Considerações gerais sobre a relevância da co-infecção HCV e HIV	22
1.2 Historia natural da infecção pelo vírus da hepatite C	24
1.3 Fisiopatologia da doença hepática na infecção crônica pelo vírus C e o papel das células estreladas hepáticas	26
1.4 Impacto da co-infecção pelo HIV na história natural da infecção pelo vírus C	32
1.5 Tratamento da hepatite C	35
1.6 Avaliação da histologia hepática.	37
1.7 Resposta histológica ao tratamento da hepatite C	38
2. JUSTIFICATIVA	43
3. OBJETIVOS	44
3.1 Geral	44
3.2 Específicos	44
4. CASUÍSTICA E MÉTODOS	45
4.1 Casuística	45
4.2 Critérios de inclusão	45
4.3 Critérios de exclusão	46
4.4 Aspectos éticos	47
4.5 Obtenção das informações	47
4.6 Definição e caracterização das variáveis	48
4.6.1 Sexo	48
4.6.2 Idade na época do tratamento	48
4.6.3 Cor	48
4.6.4 Índice de massa corporal (IMC)	48

4.6.5 Consumo de álcool	48
4.6.6 Fatores de risco para a aquisição do HIV	48
4.6.7 Doença definidora de aids	49
4.6.8 Uso de anti-retrovirais	49
4.6.9 Contagem de linfócitos T CD4 ⁺ no sangue	49
4.6.10 Viremia do HIV	49
4.6.11 Determinação do RNA HCV qualitativo	50
4.6.12 Genótipo do HCV	50
4.6.13 Outros exames laboratoriais	51
4.6.14 Terapêutica para hepatite C	51
4.6.15 Duração do tratamento da hepatite C	51
4.6.16 Intervalo de tempo entre as biópsias hepáticas	52
4.6.16.1 Intervalo de tempo entre o final do tratamento e a biópsia controle	52
4.6.16.2 Intervalo de tempo entre as biópsias pré e pós- tratamento	52
4.7 Avaliação histológica	53
4.7.1 Obtenção do material da biópsia	53
4.7.2 Avaliação da fibrose	53
4.7.3 Avaliação do índice de atividade histológica	54
4.7.4 Avaliação do depósito de ferro	54
4.7.5 Avaliação da esteatose	55
4.7.6 Avaliação da intensidade do depósito de colágeno	55
4.7.7 Avaliação da população de células estreladas hepáticas ..	56
4.8 Análise comparativa das biópsias	57
4.9 Análise estatística	57
5. RESULTADOS	59
5.1 População de estudo	59
5.1.1 Características demográficas, bioquímicas e virológicas ..	59
5.1.2 Esquema terapêutico utilizado e duração do tratamento da hepatite C	61

5.1.3 Avaliação virológica durante o tratamento da hepatite C ..	62
5.1.4 Intervalo de tempo entre as biópsias	63
5.2 Avaliação histológica	64
5.2.1 Parâmetros histológicos das biópsias realizadas antes do tratamento da hepatite C	64
5.2.2 Comparação dos parâmetros histológicos das biópsias realizadas antes e após o tratamento da hepatite C	65
5.2.3 Avaliação das razões dos parâmetros histológicos obtidos das biópsias realizadas após o tratamento em relação às observadas antes do tratamento de acordo com a resposta virológica na 24ª semana de tratamento da hepatite C	71
5.2.4 Distribuição dos parâmetros histológicos pós/pré-tratamento de acordo com a duração do tratamento da hepatite C	73
5.2.5 Distribuição dos parâmetros histológicos pós/pré-tratamento de acordo com o intervalo de tempo entre a interrupção do tratamento e a biópsia hepática controle pós-tratamento	75
5.2.6 Análise de regressão logística para as variáveis histológicas	77
5.2.7 Análise da correlação dos parâmetros histológicos avaliados em biópsias hepáticas realizadas após o tratamento em relação aos observados antes do tratamento (razão pós/pré) da hepatite C	82
5.2.8 Imagens da histologia hepática de um paciente do estudo	83
6. DISCUSSÃO	85
6.1 Considerações sobre a população de estudo	85
6.2 Considerações sobre o esquema terapêutico utilizado no tratamento da hepatite C	88

6.3 Avaliação virológica durante o tratamento da hepatite	89
6.4 Considerações sobre a histologia hepática	90
6.4.1 Análise das biópsias hepáticas	90
6.4.1.1 Análise histológica basal	90
6.4.1.2 Análise comparativa das biópsias pré e pós- tratamento	93
6.4.2 Influência da duração do tratamento da hepatite C sobre as modificações da histologia hepática	98
6.4.3 Época de realização da biópsia hepática controle e as modificações histológicas	99
6.4.4 Influência de variáveis preditivas de resposta ao tratamento sobre as modificações histológicas	101
6.4.5 Correlação dos parâmetros histológicos entre si	103
7. CONCLUSÕES	104
REFERÊNCIAS	106
APÊNDICES	126
ANEXOS.	143

1 INTRODUÇÃO

1.1 Considerações gerais sobre a relevância da co-infecção HCV e HIV

O vírus da hepatite C (HCV) é reconhecidamente a causa mais importante de doença hepática crônica e morte relacionada com o fígado, tornando-se um sério problema de saúde pública, devido a sua alta morbidade e mortalidade. Considerando a infecção pelo HCV em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), o problema torna-se ainda maior devido à elevada prevalência da co-infecção HCV e HIV e devido ao fato desses vírus agirem sinergicamente acelerando a progressão da doença hepática pelo HCV (BENHAMOU *et al.*, 1999; GONZALEZ; TALAL, 2003; POYNARD *et al.*, 2003).

Suspeitou-se da existência do HCV desde meados dos anos 70, como etiologia das chamadas hepatites não-A não-B, porém só em 1989, com o avanço de técnicas de biologia molecular, puderam realizar a clonagem de fragmentos do genoma do HCV, o que posteriormente levou ao desenvolvimento de testes diagnósticos através da pesquisa de anticorpos anti-HCV (ALTER, 1989; KUBO *et al.*, 1989; SHERLOCK, 1996).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que 3% da população mundial encontra-se infectada com o vírus da hepatite C, o que equivale à cerca de 170 milhões de pessoas no mundo, estando 32 milhões no continente africano, 21 milhões nos países do leste do Mediterrâneo e 32 milhões em países do sudoeste da Ásia, sendo que as Américas contribuem com 13 milhões (GLOBAL SURVEILLANCE AND CONTROL OF HEPATITIS C, 1999;

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999). Apesar do declínio no número de casos de hepatite C aguda, devido principalmente ao controle da transmissão através de sangue e derivados contaminados com o vírus, existe ainda um reservatório grande de pessoas infectadas, que servem como fonte para novas infecções. Segundo os *Centers for Diseases Control and Prevention* (CDC), a prevalência de hepatite C na população americana é estimada em 1,8%, o que representa cerca de 3,9 milhões de americanos infectados (ALTER *et al.*; 1999; CENTERS FOR DISEASES CONTROL AND PREVENTION, 1998; KIM, 2002; NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2002).

A prevalência da infecção pelo HIV é também elevada, sendo estimado no final de 2003, pela OMS, que 40 milhões de pessoas estavam contaminadas com o HIV no mundo, sendo 37 milhões de adultos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2003). A prevalência da infecção pelo HIV e pelo HCV tende a ser proporcional nas diversas áreas geográficas, tendo em vista que as duas infecções compartilham formas de transmissão semelhantes, particularmente a transmissão parenteral.

Considerando que, em média, 30% da população infectada pelo HIV possa também estar infectada pelo HCV, estima-se que existem 12 milhões de indivíduos co-infectados no mundo. A taxa de prevalência da co-infecção HIV e HCV sofre grande variação de acordo com o modo de aquisição da infecção. Ela pode variar de 64% a 91% quando a infecção é adquirida por via parenteral e de cerca de 5% a 14% quando a transmissão é sexual (SHERMAN *et al.*, 2002; SULKOWSKI *et al.*, 2000). No Brasil os estudos de soroprevalência do vírus da hepatite C, na população de pacientes infectados pelo HIV, mostram também uma

grande variação entre os centros estudados. A prevalência da co-infecção foi de 17,7% em um estudo na cidade de São Paulo (MENDES-CORREA; BARONE; GUASTINI, 2001), 36% em Santos (SEGURADO *et al.*, 2004), 88,2% em Santa Catarina (TREITINGER *et al.*, 1999) e de 38,7% em um estudo realizado em Ribeirão Preto (SOUZA *et al.*, 2004).

O HCV possui uma grande heterogeneidade molecular, apresentando pelo menos 6 genótipos diferentes e mais de 50 subtipos (NGUYEN; KEEFFE, 2004; SIMMONDS *et al.*, 1994). Os genótipos são numerados de 1 a 6 e os subtipos por letras a, b, c, etc. O genótipo 1 é responsável por 70% a 75% das infecções nos Estados Unidos (ALTER *et al.*, 1999). No Brasil, um estudo com 1688 amostras do vírus C, verificou que 64,4% dos vírus pertenciam ao genótipo 1 e 30,2% ao genótipo 3, sendo detectada esta maior prevalência do genótipo 1 em todas as regiões do Brasil (CAMPIOTTO *et al.*, 2005). Todos os diferentes genótipos parecem ter efeitos semelhantes na progressão da doença, porém a resposta ao tratamento é fortemente influenciada pelo genótipo, sendo o genótipo 1 o de pior resposta ao tratamento preconizado (MONDELI; SILINI, 1999).

1.2 Historia natural da infecção pelo vírus da hepatite C

A infecção aguda pelo HCV cursa de maneira assintomática em 70%-80% dos casos e raramente apresenta-se de forma fulminante (AFDHAL, 2004). Cerca de 20% a 50% dos pacientes adultos, imunocompetentes, têm capacidade de eliminar o vírus, levando à cura. O restante, 50-80%, desenvolvem infecção crônica persistente sem eliminação do vírus. Cerca de 20% destes

indivíduos portadores crônicos do HCV irão desenvolver cirrose, após um período de evolução de cerca de 20 a 30 anos, e uma vez estabelecida a cirrose, a chance de desenvolver insuficiência hepática ou carcinoma hepatocelular é estimada em 2-4% e 1-7% ao ano, respectivamente (FATTOVICH *et al.*, 1997; FREEMAN *et al.*, 2001; POYNARD; BEDOSSA; OPOLAN, 1997).

A taxa de progressão da fibrose para cirrose varia consideravelmente entre os pacientes. Alguns pacientes apresentam viremia por décadas e, após 20-30 anos, a biópsia hepática mostra lesões mínimas, enquanto em outros pacientes a doença pode progredir rapidamente e, dentro de 10-15 anos, a inflamação e fibrose levam à cirrose. Porém na maioria dos pacientes, o vírus causa uma fibrose progressiva e lenta, levando à cirrose em cerca de 20-30 anos. A cirrose descompensada é associada com aumento importante da mortalidade, daí a necessidade em muitos casos do transplante de fígado. A hepatite C crônica é a principal causa de transplante hepático nos Estados Unidos (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 1997).

Existem vários fatores que influenciam a progressão da infecção crônica pelo HCV, sendo que os fatores relacionados ao hospedeiro parecem ter maior importância na progressão da fibrose que os fatores virais, tendo em vista que não há relação fortemente estabelecida entre a carga viral ou o genótipo do HCV com a progressão da fibrose, mesmo que esses fatores causem grande impacto na resposta ao tratamento. O estado imunológico do hospedeiro parece ser crítico, uma vez que pode haver uma progressão mais rápida em pacientes imunodeprimidos, devido ao HIV ou devido ao uso de drogas imunossupressoras. Os principais fatores de risco, identificados para esta progressão mais rápida para

cirrose, incluem o sexo masculino; idade na época da aquisição do HCV (progressão mais rápida naqueles com idade superior a 40 anos); duração da infecção pelo HCV; elevado índice de massa corporal (o que é associado com esteatose hepática); sobrecarga de ferro; co-infecção com outros vírus como o vírus da hepatite B ou HIV e consumo de álcool (maior naqueles que consomem mais que 50g de etanol ao dia) (ANGELLUCI *et al.*, 2002; POYNARD, BEDOSSA; OPOLAN, 1997; SULKOWSKI *et al.*, 2000; ZARSKI; BOHN; BASTIE, 1998).

1.3 Fisiopatologia da doença hepática na infecção crônica pelo vírus C e o papel das células estreladas hepáticas

Os mecanismos fisiopatológicos responsáveis pelo início e progressão das lesões hepáticas durante a infecção crônica pelo HCV são múltiplos, envolvendo fatores ligados ao próprio vírus e ao hospedeiro. Existem estudos demonstrando que o dano hepático pode ser decorrente do efeito citopático direto do vírus e da resposta imune-mediada contra hepatócitos infectados pelo HCV (GONZALEZ-PERALTA; DAVIS; LAU, 1994); e outros estudos mostram o papel das citocinas no desenvolvimento da lesão hepática (FRIEDMAN, 2003).

O fígado normal possui um componente epitelial (hepatócitos), uma linhagem endotelial, macrófagos tissulares (células de Kupffer) e células estreladas perivasculares. Dentro dos sinusóides, o espaço subendotelial de Disse separa os hepatócitos do endotélio sinusoidal e contém uma matriz de baixa densidade, chamada de matriz extracelular, que compreende uma

variedade de polissacarídeos e proteínas que são secretadas localmente e englobadas em uma rede organizada. Além de ter a função de estabilizar a estrutura física dos tecidos, a matriz tem também um papel complexo na regulação do comportamento das células que estão em contato com ela, incluindo as células estreladas hepáticas, influenciando na sua morfologia, desenvolvimento, migração, proliferação e função. A matriz extracelular regula o fenótipo das células estreladas, assim como o seu metabolismo e estoque de retinóides em vacúolos de gordura no citoplasma (SENOO, 2004).

Na hepatite crônica, a lesão hepática é geralmente constituída por infiltração linfóide portal, necrose focal e em ponte, além de lesões nodulares degenerativas, que parecem ser secundárias à resposta imune. O infiltrado linfóide é composto principalmente de células T CD4⁺ localizadas dentro do espaço periportal, a maioria com fenótipo Th1 (com produção de IL-2, INF-gama e TNF) e células CD8⁺ localizadas na região periportal e lobular (PAWLOTSKY, 2004). A conformação da matriz extracelular, na infecção crônica se modifica, tornando-se reticulada, estimulando a formação da fibrose, que começa ao redor das áreas portais (periportal ou fibrose da zona 1) e gradualmente se estende para dentro dos lóbulos através da veia central (zona 3) com formação de septos e fibrose em ponte. O estágio final da fibrose constitui a cirrose, com fibrose extensa ligando as áreas portal e central, além de regeneração nodular do parênquima hepático, com conseqüente alteração da função hepática (FRIEDMAN, 2003; MARCELLIN; ASSELAH; BOYER, 2002).

Avanços recentes nas pesquisas básicas têm permitido aumentar a compreensão dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos na gênese e

progressão da fibrose hepática. Um importante foi a identificação das células estreladas hepáticas (CEH), também conhecidas como HSCs, células perisinusoidais, células armazenadoras de vitamina A, células de Ito ou células armazenadoras de lipídeos, que parecem desempenhar um papel fundamental na patogênese da fibrose hepática, por serem importantes produtoras de colágeno (PAOLUCCI *et al.*, 1990; YOKOI *et al.*, 1988). No fígado normal, as CEH representam cerca de 5-8% das células hepáticas. Elas são células mesenquimais, quiescentes, localizadas adjacentes ao espaço de Disse, sendo mais freqüentemente observadas nas proximidades da veia centrolobula. Essas células mantêm, em grânulos lipídicos característicos, o principal estoque de vitamina A do organismo, sob a forma de palmitato de retinol, e desempenham um papel fundamental na regulação da homeostase dos retinóides.

Em condições patológicas, como nas hepatites virais, as CEH passam por um processo complexo de ativação. Esse processo ocorre em duas etapas onde, inicialmente, há ativação das CEH por citocinas, quimiocinas e outras moléculas sinalizadoras induzidas pelo processo inflamatório. A seguir ocorre a transformação das células estreladas hepáticas em um fenótipo semelhante a miofibroblastos (*miofibroblasto-like*) quando apresentam aumento na expressão de α -actina de músculo liso (α -SMA). Nesse estágio elas perdem os retinóides, proliferam vigorosamente e passam a ter a capacidade de se contrair, produzir citocinas e atrair leucócitos. Nessa fase passam a produzir maior quantidade dos componentes da matriz extracelular, como colágeno, proteinoglicanas e glicoproteínas adesivas (NOUCHI, *et al.*, 1991; PAWLOTSKY, 2004; SENOO, 2004).

Estudos com hibridização *in situ* em fígado fibrótico de ratos têm demonstrado um aumento no sinal transcripto do gene procolágeno, exclusivamente em células não-parenquimatosas, a maioria das quais com alterações do fenótipo indicativos de células estreladas hepáticas. Portanto, esta desregulação da expressão do gene do colágeno nas CEH parece ser o ponto central na patogênese da fibrose hepática (MILANI, *et al.*, 1989). Em modelos experimentais, a fibrose é precedida por uma expansão das CEH que ocorre justamente em áreas onde posteriormente se desenvolverão os septos fibrosos (MANCINI *et al.*, 1992).

As mudanças iniciais nas CEH refletem a estimulação parácrina pelos tipos celulares lesados vizinhos, incluindo endotélio sinusoidal, células de Kupffer, hepatócitos, plaquetas e leucócitos. As células de Kupffer podem estimular a síntese da matriz extracelular, a proliferação de células e liberação de retinóides das células estreladas através da liberação de citocinas como *transforming growth factor-beta* (TGF β), TNF- α e intermediários reativos de oxigênio. Outra forma pela qual que as células de Kupffer podem influenciar as CEH seria por meio da secreção de *matrix metalloproteinase-9* (MMP-9 gelatinase B). O MMP-9 ativa o TGF β latente, que por sua vez estimula a síntese de colágeno pelas CEH sendo o TGF β 1 considerado a mais potente citocina fibrogênica (SCHUPPAN *et al.*, 2003). As células de Kupffer podem gerar oxigênio reativo que, quando produzidos no interior das CEH ou liberados no meio extracelular, são capazes de ativá-las e promover a síntese de colágeno. Os leucócitos recrutados no fígado, durante a injúria, juntam-se às células de Kupffer na produção de compostos, que modulam o comportamento das células

estreladas. Os linfócitos CD4⁺, produtores de citocinas no fígado, podem se diferenciar em subtipos Th1 e Th2, sendo que principalmente os linfócitos com perfil Th2 favorecem a fibrogênese no fígado lesado. As CEH também são as principais fontes produtoras de TGFβ no fígado, o que leva a um aumento na fibrose hepática (FRIEDMAN, 2003).

As células estreladas hepáticas, além de serem ativadas por fatores estimulantes, também se proliferam devido à atividade de fatores mitogênicos, em particular o *platelet derived growth factor* (PDGF) que é um potente estimulador da proliferação das CEH. Tanto a secreção de PDGF como seus receptores aumentam após a injúria hepática (OLASO; FRIEDMAN, 1998). Ocorre também aumento na contratilidade das CEH durante o processo de ativação, o que leva a um aumento da resistência portal, interferindo com o fluxo normal de sangue portal devido à constrição dos sinusóides e pela contração do fígado cirrótico. Acha-se que o *endothelin 1* (ET-1) é o principal estimulante da contratilidade das células estreladas hepáticas (ROCKEY, 2001).

Da mesma maneira, existem evidências de que o excesso de ferro no tecido hepático pode também levar à evolução da fibrose. Existem estudos mostrando relação entre a quantidade de ferro no tecido hepático com o número de CEH ativadas e com o número de hepatócitos em regeneração nos pacientes com hepatite C crônica. Nesses estudos, os autores concluem que o depósito de ferro, mesmo que moderado, na hepatopatia crônica pelo vírus C, é bastante comum e é associado com ativação das CEH contribuindo para o dano hepático (RIGAMONTI *et al.*, 2002; MARTINELLI; RAMALHO; ZUCOLOTO, 2004).

Do mesmo modo, a esteatose pode ser outro co-fator para a progressão da fibrose hepática nos pacientes com hepatite C. Ela tem sido mais prevalente nos pacientes com genótipo 3 do HCV e é vista uma associação direta entre a esteatose e a fibrose, sem relação com a intensidade da inflamação. Um mecanismo possível, não inflamatório, para a fibrose, seria a peroxidação lipídica que levaria à ativação das CEH e subsequente à deposição de colágeno (PATTON *et al.*, 2004).

Diante disto, verifica-se que os fatores de injúria necro-inflamatória no fígado são múltiplos, entre eles os vírus, levam à proliferação e ativação das células estreladas, que adquirem o fenótipo de células tipo miofibroblastos, transformando a matriz extracelular normal (membrana basal) em uma matriz reticulada e densa (tipo fibrilar), que é muito mais resistente à degradação enzimática, aumentando assim a progressão da fibrose hepática (MARCELLIN; ASSELAH; BOYER, 2002; MAK; LEO; LIEBER, 1984; MAK; LIEBER, 1988).

Além da presença da α -SMA nas CEH, outros marcadores de ativação têm sido identificados, como a *gelatinase fibroblast activation protein*, *fibroblast activation protein* (FAP) e a *glial fibrillary acidic protein* (GFAP), que podem ter também correlação com o desenvolvimento de fibrose hepática, visto que parte dos pacientes tem número considerável de células α -SMA e somente uma parte irá desenvolver cirrose (LEVY *et al.*, 2002; MARTINELLI; RAMALHO; ZUCOLOTO, 2004).

Os mecanismos envolvidos na resolução da fibrose hepática necessitam ser mais bem estudados, bem como os mecanismos pelos quais

possa ocorrer a reversão das CEH. Vários estudos demonstram falhas em degradar a matriz reticulada acumulada, que seria a principal causa da progressão da fibrose para cirrose. A *matrix metalloproteinase-1* (MMP-1) parece ser a principal protease implicada na degradação do colágeno tipo I, o mais importante colágeno no fígado fibrótico, mas não está claro se esta enzima possa ser produzida no fígado (FRIEDMAN, 2003). A apoptose das CEH provavelmente contribui para sua diminuição durante a resolução da fibrose hepática, sendo considerado um alvo potencial para terapia anti-fibrótica (SOHARA *et al.*, 2002).

1.4 Impacto da co-infecção pelo HIV na história natural da infecção pelo vírus C

Com o aumento da sobrevivência dos portadores do HIV, devido ao sucesso da terapia anti-retroviral de alta potência (*Highly Active Anti-retroviral Therapy* - HAART), tem-se estabelecido condições ideais para que a infecção pelo HCV, que possui uma progressão lenta, se torne uma das principais comorbidades nessa população. No passado, muitos pacientes morriam com doenças oportunistas relacionadas com a aids, bem antes do dano hepático ser desenvolvido e levar a sintomas de insuficiência hepática (BICA *et al.*, 2001; MONGA *et al.*, 2001; TEDALDI *et al.*, 2003). Contudo, a sobrevivência prolongada não pode explicar integralmente o aumento da morbidade e mortalidade relacionada com o HCV, pois há interação de múltiplos fatores relacionados como a interação vírus-hospedeiro, estado de imunossupressão, injúria hepática induzida por drogas e provavelmente a interação vírus-vírus.

É visto que o HIV modifica a história natural da infecção pelo HCV de diversas maneiras, levando a um aumento da carga viral do HCV no soro e no fígado; acelera o curso da progressão de hepatite crônica para cirrose com conseqüente desenvolvimento de falência hepática e suas complicações; aumenta o aparecimento de carcinoma hepatocelular e conseqüentemente aumenta a mortalidade (BENHAMOU *et al.*, 2001; BONACINI; PUOTI, 2000; GRAHAM, *et al.*, 2001; MURILLAS *et al.*, 2005; SORIANO *et al.*, 1999; SORIANO; RODRIGUES-ROSADA; GARGIA-SAMANIEGO, 1999; SOTO *et al.*, 1997; SULKOWSKI *et al.*, 2000).

Pacientes co-infectados pelo HCV e HIV desenvolvem mais comumente viremia persistente e mais elevada do HCV, principalmente aqueles com baixa contagem de linfócitos T CD4+ (EYSTER *et al.*, 1994; SHERMAN *et al.*, 1993; VILLANO *et al.*, 1999).

O carcinoma hepatocelular tem sido cada vez mais descrito entre os pacientes co-infectados, ocorrendo numa faixa etária menor e dentro de um período mais curto de infecção que naqueles sem infecção pelo HIV (GARCIA-SAMANIEGO *et al.*, 2001).

Da mesma forma, a fibrose hepática desenvolve-se mais rapidamente nos pacientes co-infectados, evoluindo para cirrose em cerca de 7 a 26 anos, diferentemente do que ocorre nos mono-infectados pelo HCV, que demoram cerca de 23-38 anos para desenvolverem cirrose (BENHAMOU *et al.*, 1999; MOHSEN *et al.*, 2003; POYNARD *et al.*, 2003). Tural *et al.*, (2003), avaliaram nesses pacientes os fatores associados com a piora da fibrose hepática, e observaram que a contagem de células T CD4+ na época da biópsia

hepática, idade na época da aquisição do HCV e ingesta alcoólica foram fatores de risco para fibrose hepática, enquanto o tempo de uso de anti-retrovirais foi detectado como um fator de proteção.

Soto *et al.* (1997), realizaram um estudo multicêntrico com 547 pacientes que adquiriram o HCV via parenteral (116 infectados pelo HIV e 431 HIV negativos) a fim de investigar o possível papel da infecção pelo HIV na história da hepatite C. Verificaram que os achados histológicos da biópsia hepática foram semelhantes nos dois grupos; contudo, dentro dos primeiros 10 anos, 14,9% dos co-infectados desenvolveram cirrose em comparação com 2,6% do grupo mono-infectados. Detectaram que o tempo médio estimado de infecção pelo HCV, para desenvolvimento de cirrose, foi significativamente maior nos pacientes sem infecção pelo HIV que nos co-infectados (23,2 vs 6,9 anos).

Estudando a evolução da infecção pelo vírus C nos co-infectados pelo HIV, Martinez-Sierra *et al.* (2003), verificaram um significativo aumento da carga viral do HCV, fibrose mais avançada e maior taxa de progressão de fibrose nos co-infectados, quando comparados com os monoinfectados pelo HCV. Foi identificado que a carga viral do HCV e o estado de imunossupressão foram fatores independentes para o aumento da taxa de progressão de fibrose, e que a restauração imunológica causada pela terapia anti-retroviral não influenciou a progressão.

Alguns estudos sugerem que o início da HAART, com conseqüente reconstituição imunológica, levaria a um aumento da carga viral do HCV. Este aumento poderia ser transitório, mas há relatos de casos de carga viral do HCV aumentada até por 48 meses (CHUNG *et al.*, 2002; RAGNI; BONTEMPO,

1999). O mecanismo fisiopatológico deste aumento paradoxal na carga viral não é claro, mas poderia estar associado à replicação das células T, oriundas de reservatórios extra-hepáticos, ou poderia representar uma alteração no ritmo de eliminação do HCV mediado imunologicamente (SHERMAN, 2004).

Verifica-se, portanto que inúmeros fatores contribuem para que ocorra um aumento da gravidade da doença hepática nos pacientes co-infectados, e isto tem levado a doença hepática a se tornar uma das principais causas de morte entre os pacientes infectados pelo HIV, principalmente em países desenvolvidos.

1.5 Tratamento da hepatite C

A hepatite C crônica tem sido, historicamente, uma doença de difícil tratamento. O objetivo principal do tratamento da hepatite C é a obtenção da negatividade da pesquisa do RNA HCV no soro, 24 semanas após o término do tratamento da hepatite C, o que caracteriza uma resposta virológica sustentada (RVS). A taxa de RVS tem aumentado consideravelmente nas últimas décadas à medida que novas estratégias de tratamento têm sido propostas, evoluindo da monoterapia com interferon, à combinação de interferon com ribavirina e, mais recentemente, com a introdução do interferon peguilado. Atualmente RVS tem sido obtida em cerca de 54% - 60% dos pacientes mono-infectados pelo HCV, sendo menor, por volta de 40%, naqueles com o genótipo 1 do HCV (HADZIYANNIS, *et al.*, 2004; MANNS *et al.*, 2001; McHUTCHISON *et al.*, 1998).

Existem relativamente poucos dados com respeito ao tratamento da hepatite C nos pacientes co-infectados com HIV. Alguns grandes estudos clínicos têm sido realizados com pacientes co-infectados, o que tem contribuído para a melhor compreensão das particularidades do tratamento da hepatite C nesses pacientes, avaliando os efeitos colaterais das drogas utilizadas no tratamento, a interação medicamentosa com os anti-retrovirais, assim como a resposta terapêutica.

Os pacientes co-infectados tendem a apresentar um maior número de critérios que contra-indicam o tratamento para a hepatite C, como a baixa adesão ao tratamento, uso de álcool e drogas, doenças psiquiátricas, doença oportunista ativa, contagem baixa de linfócitos CD4+. Fleming *et al.* (2003), avaliaram 1080 pacientes co-infectados e, desses, 70% foram considerados não elegíveis para o tratamento da hepatite C. Fleming *et al.* (2005), mostraram que o tratamento da hepatite C só foi possível de ser iniciado em apenas 8% de uma população de pacientes co-infectados e menos de 1% desses obteve resposta virológica sustentada.

A terapêutica inicial para hepatite C, nos pacientes co-infectados com HIV, onde se usou a monoterapia com interferon alfa-2b, mostrou uma taxa RVS sustentada em cerca de 20% a 29% dos pacientes (SORIANO *et al.*; 1996). Posteriormente, com a associação da ribavirina ao esquema terapêutico, os relatos passaram a mostrar uma RVS variando de 6% a 40% (NASTI *et al.*; 2001; ROCKSTROH *et al.*, 2002; SAULEDA *et al.*, 2001). O uso de interferon peguilado associado à ribavirina tem sido reportado em alguns estudos mostrando RVS em

27% a 40% dos pacientes, quando avaliados em conjunto todos os genótipos do HCV (CARRAT *et al.*, 2004; LAGUNO *et al.*, 2004; TORRIANI *et al.*, 2004).

O fato dos pacientes co-infectados apresentarem uma pior evolução da hepatite C, aliado a menor taxa de RVS e ao grande número de efeitos adversos do tratamento das duas patologias, faz com que o tratamento da co-infecção seja visto como um problema em particular, que requer grande atenção por parte dos estudiosos do assunto.

1.6 Avaliação da histologia hepática

A biópsia hepática é considerada o padrão ouro para estudar a histologia hepática na hepatite C crônica. Variabilidades nas amostras de biópsias podem ocorrer, refletindo a heterogeneidade do dano tissular através do fígado. Portanto, o material de biópsia deve ter tamanho suficiente para reduzir os erros de amostragem.

Diferentes sistemas de graduação da histologia hepática tem sido desenvolvidos na tentativa de quantificar as mudanças histológicas no material obtido pelas biópsias hepáticas. O índice de atividade histológica (HAI) foi primeiramente proposto por Knodell *et al.* (1981) e modificado por Desmet *et al.* (1994). O HAI classifica a alteração histológica em quatro categorias (I a IV), sendo necrose periportal, necrose intralobular, inflamação portal e fibrose, respectivamente. A somatória destes scores é o HAI, cujo valor pode variar de 1 a 18. Como a progressão clínica é mais bem estimada pela fibrose, Scheur (1991), propôs uma modificação do HAI, graduando a fibrose em diferentes graus. Outra

modificação foi feita no HAI, sugerida por Ishak *et al.* (1995), dividindo em sete graus de fibrose de 0 a 6 e os *scores* de necroinflamação e de fibrose são separados. Um outro sistema de classificação, considerado o mais simples, é o desenvolvido pelo grupo METAVIR, (INTRAOBSERVER, 1994), que determina um *score* separado de 0 a 3 para inflamação e de 0 a 4 para fibrose, sem necessidade de somá-los.

1.7 Resposta histológica ao tratamento da hepatite C

O objetivo principal do tratamento da hepatite C é obter a negatividade do RNA do HCV no soro, visto que isto tem sido associado com a melhora da lesão hepática e a interrupção do processo de fibrose, podendo assim evitar a progressão para a cirrose e o desenvolvimento de câncer de fígado. Outro importante objetivo do tratamento é a melhora das alterações na histologia hepática, tanto a inflamação quanto a fibrose, a fim de retardar ou diminuir a progressão para a cirrose hepática. Tem sido reportado que algumas citocinas como o interferon, poderiam reduzir a síntese de colágeno *in vitro* e *in vivo*, sugerindo que o interferon poderia ter, além de um efeito antiviral, atividade anti-fibrogênica (CASTILLA; PRIETO; FAUSTO, 1991; HIRAMATSU, *et al.*, 1995; JIMENEZ; FREUNDLICH; ROSENBLOOM, 1984).

Existem estudos mostrando que o interferon-alfa produz melhora da histologia hepática em pacientes com hepatite crônica pelo vírus C, com maior benefício na redução da inflamação e menor na diminuição da fibrose (SHIFFMAN *et al.*, 1997). Nos pacientes com RVS, há redução da atividade

inflamatória e da fibrose, verificadas na comparação de biópsias hepáticas realizadas antes e após tratamento, evidenciando que a melhora histológica é lenta e progressiva nos anos seguintes ao término do tratamento. (BRUNO *et al.*, 2001; TOCCACELI, *et al.*, 2003).

A evolução histológica nos pacientes não respondedores ao tratamento da hepatite C permanece controversa. Alguns estudos têm sugerido uma melhora histológica, principalmente na atividade necro-inflamatória, após o tratamento, nos pacientes sem resposta virológica, mesmo naqueles sem normalização das aminotransferases (DUCHATELLE *et al.*, 1998; LINDSAY *et al.*, 2001; PETRENKIENE, *et al.*, 2004; POYNARD *et al.*, 1999; ZEUZEM, *et al.*, 2000). Outros estudos não evidenciaram nenhuma melhora histológica nos não-respondedores (LEROY *et al.*, 2001). A estabilização da fibrose nos pacientes não-respondedores tem sido obtida após o tratamento com interferon-alfa (ABERGEL, *et al.*, 2004; KRYCZKA, *et al.*, 2003; POYNARD *et al.*, 2002), o que pode ser considerado um objetivo da terapêutica, visto que a fibrose progressiva, com evolução para cirrose, representa o curso natural da hepatite crônica.

A melhora histológica nos não-respondedores parece ocorrer principalmente naqueles pacientes que apresentaram uma diminuição na carga viral do HCV. Shiffman *et al.* (1997), mostraram que a redução na inflamação hepática, vista nos pacientes com viremia persistente após terapia com interferon-alfa, foi diretamente relacionada com o nível sérico do RNA HCV, inferindo que a redução da carga viral, mesmo na ausência de resposta viral sustentada, é associada com redução da inflamação hepática.

Esses achados têm sugerido o conceito de terapia de manutenção por período prolongado em pacientes com viremia persistente, a fim de reduzir a inflamação e diminuir a progressão da doença hepática. Shiffman *et al.* (1999), estudaram pacientes que não obtiveram RVS ao tratamento com interferon-alfa, mas que tinham mostrado melhora na inflamação hepática. Esses pacientes foram randomizados a continuar com a terapia de manutenção com INF ou suspender o tratamento. Aqueles que mantiveram o tratamento obtiveram uma redução na carga viral do HCV e na inflamação hepática num período de 2 anos; e aqueles que suspenderam o tratamento retornaram ao nível basal de carga viral e de inflamação. Observaram também uma redução na fibrose após 2 anos de tratamento, sugerindo que o tratamento a longo prazo pode ser capaz de diminuir a progressão da fibrose. Esses resultados levaram à realização de um estudo multicêntrico randomizado chamado *"Hepatitis C Antiviral Long-term Treatment against Cirrhosis trial"* (HALT-C), que está em andamento, a fim de determinar se o INF peguilado alfa-2a pode prevenir a progressão da doença em não-respondedores virológicos com fibrose avançada. Na semana 20 de tratamento com INF e ribavirina, os pacientes que se mantiverem sem resposta virológica, são randomizados a continuar com o INF peguilado alfa-2a, sozinho, por 4 anos, ou a suspenderem o tratamento e serem seguidos com biópsia hepática controle com 2 e 4 anos (LEE *et al.*, 2004).

Em pacientes infectados pelo HIV existem poucos dados a respeito da evolução da histologia hepática após o tratamento da hepatite C. Alguns estudos têm mostrado melhora histológica, alguns com estabilização da fibrose, nos pacientes co-infectados não-respondedores ao tratamento com

interferon-alfa, (Di MARTINO *et al.*, 2002; BOLDORIN *et al.*, 1997; LISSEN *et al.*, 2004).

Tem sido demonstrado que o interferon-alfa e gamma inibem a ativação das CEH em modelos experimentais de fibrose hepática (BARONI *et al.*, 1996; MALLAT *et al.*, 1995). Contudo, a distribuição das CEH na hepatite crônica viral em humanos, e os possíveis efeitos do IFN- α nestas células, encontram-se em investigação. Estudos avaliando material de biópsia de fígado, em pacientes com hepatite crônica C, antes e após o tratamento com interferon-alfa, verificaram na biópsia pré-tratamento, um grande número de CEH expressando α -actina de músculo liso (α -SMA) e observaram uma redução no número destas células, após o tratamento com IFN- α . A diminuição no número de CEH ativadas após o tratamento se correlacionou com a melhora do índice de atividade histológica (GUIDO *et al.*, 1996; SAKAIDA *et al.*, 1999). Além do marcador α -SMA para células estreladas, têm sido avaliados outros marcadores, como o FAP e o GFAP. Foi também encontrada uma forte correlação entre as CEH com expressão do FAP e a gravidade da fibrose hepática (LEVY *et al.*, 2002) e uma significativa correlação entre o número de células GFAP e α -SMA positivas com o depósito de ferro e com a atividade inflamatória e fibrose hepática (MARTINELLI; RAMALHO; ZUCOLOTO, 2004).

Devido à existência de vários sistemas de avaliação da biópsia hepática e falta de uniformidade em estudos clínicos, a definição do que é uma resposta histológica significativa ainda não é consensual. Em muitos estudos de terapia antiviral em hepatite C crônica, a resposta histológica tem sido definida como uma redução de no mínimo 2 pontos no *score* HAI total de Knodell. Alguns

estudos têm definido melhora na necroinflamação e fibrose individualmente, e define resposta histológica em dois componentes, sendo uma diminuição de no mínimo dois pontos no *score* de inflamação do HAI e uma diminuição de no mínimo um ponto no *score* de fibrose (LEE, 2004). Shiffman *et al.* (1997), avaliando resposta histológica após tratamento com interferon-alfa, definiram melhora histológica como sendo uma redução de 50% na inflamação hepática.

Há, portanto, evidências de que o uso do interferon-alfa, associado ou não à ribavirina, mesmo nos pacientes que não obtiveram resposta virológica, pode significativamente reduzir a carga viral do HCV no soro, diminuir a atividade das aminotransferases, melhorar a atividade histológica, diminuir a intensidade de ativação das células estreladas hepáticas e diminuir a progressão da fibrose, modificando a história natural da doença.

2 JUSTIFICATIVA

Sabe-se que o vírus da imunodeficiência humana (HIV) pode modificar a história natural da infecção pelo HCV, acelerando a progressão da hepatite crônica para cirrose, com conseqüente desenvolvimento de falência hepática e suas complicações. O tratamento preconizado para a hepatite crônica C, utilizando interferon-alfa, peguilado ou não-peguilado, associado à ribavirina, promove resposta virológica sustentada em parcela considerável de pacientes, o que leva, em alguns casos, à redução do processo inflamatório e da fibrose hepática. Por outro lado, a avaliação do impacto do tratamento sobre a evolução histológica em pacientes não-respondedores ao tratamento da hepatite C apresenta resultados controversos.

Diante do pequeno número de estudos que avaliaram o impacto do tratamento da hepatite C crônica, sobre a intensidade das alterações histológicas do fígado, por meio da análise de biópsias pareadas, antes e após o tratamento, e, principalmente, em pacientes co-infectados pelo HIV, faz-se necessária uma análise sistemática nestes pacientes, a fim de melhor compreender a evolução destas alterações histológicas hepáticas.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

- Avaliar, nos pacientes com hepatite C crônica co-infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), o impacto do tratamento da hepatite C, sobre as modificações de parâmetros indicativos de fibrose e atividade inflamatória, em biópsias de fígado realizadas antes e após o tratamento da hepatite C.

3.2 Específicos

- Avaliar a evolução dos parâmetros histológicos (Índice de atividade histológica, grau de fibrose, depósito de ferro, esteatose, depósito de colágeno, estado de ativação das células estreladas hepáticas) nas biópsias realizadas antes e após o tratamento da hepatite C;
- Correlacionar eventuais fatores prognósticos de resposta ao tratamento com a resposta histológica;
- Correlacionar os resultados da pesquisa do RNA HCV durante o tratamento com a resposta histológica;
- Avaliar, entre si, correlações sobre a evolução da necroinflamação, do grau de fibrose, do grau e ativação das células estreladas hepáticas e da intensidade do depósito de colágeno no fígado, em resposta ao tratamento da hepatite C.

---

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 Casuística

Foram avaliados prospectivamente 26 pacientes com hepatite C crônica, co-infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV-1), acompanhados no Ambulatório de Hepatites e na Unidade Especial de Terapia de Doenças Infecciosas (UETDI) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo. O estudo foi realizado no período de janeiro de 2004 a agosto de 2005. Foram incluídos na análise pacientes que haviam recebido tratamento para hepatite C desde maio de 1999. Foi realizada biópsia hepática em todos os pacientes, antes e após o tratamento da hepatite C, a fim de se avaliar a evolução histológica ocorrida e a possível influência do tratamento nestas alterações.

4.2 Critérios de inclusão

Os critérios de inclusão foram:

- Ter idade superior a 18 anos para ambos os sexos;
- Ter diagnóstico de hepatite crônica C, definido pela positividade do anti-HCV, pela presença de RNA do HCV no soro e pelos achados de biópsia hepática compatíveis com hepatite crônica;

-
- Ser infectado pelo HIV, definido pela presença do teste ELISA anti-HIV reagente e pela presença de RNA do HIV no soro, e estar clinicamente estável;
  - Ter linfócitos T CD4⁺ maior ou igual a 350 células/mm³;
  - Ter realizado biópsia hepática prévia ao tratamento e ter material desta biópsia armazenado no Serviço de Patologia;
  - Ter sido submetido ao tratamento para hepatite C com interferon-alfa, peguilado ou não peguilado, isolado ou associado à ribavirina, por tempo mínimo de 16 semanas;
  - Concordar, após consentimento informado, em se submeter à nova biópsia hepática transcorridos pelo menos 6 meses após a interrupção ou término do tratamento da hepatite C.

4.3 Critérios de exclusão

Os critérios de exclusão foram:

- Ser portador do vírus da hepatite B;
- Apresentar doenças oportunistas em atividade;
- Apresentar qualquer contra-indicação absoluta para realização do tratamento da hepatite;

- Apresentar qualquer contra-indicação absoluta para realização da biópsia hepática;
- Apresentar incapacidade de entender o termo de consentimento livre e esclarecido.

4.4 Aspectos éticos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCFMRP-USP e da FMRP-USP (processo nº 4935/2004) (Anexo A).

Antes de serem incluídos na pesquisa, os pacientes foram informados dos objetivos e métodos do Estudo, e concordando em participar, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice A), e receberam o formulário de orientações pré-biópsia hepática (Apêndice B).

4.5 Obtenção das informações

As informações de cada paciente foram obtidas por meio de preenchimento do Instrumento de coleta dos dados pertinentes ao estudo (Apêndice C). Alguns dados foram obtidos dos prontuários médicos e outros fornecidos pelos indivíduos quando do convite para participarem do estudo.

4.6 Definição e caracterização das variáveis

4.6.1 Sexo

- Masculino
- Feminino

4.6.2 Idade na época do tratamento

Coletada como variável contínua, tomando como base a idade na época que realizou o tratamento da hepatite C.

4.6.3 Cor

Foi definida como cor branca, parda e negra.

4.6.4 Índice de massa corporal (IMC)

O IMC foi calculado segundo a fórmula $IMC = \frac{\text{Peso (Kg)}}{\text{Altura}^2 \text{ (m)}}$

4.6.5 Consumo de álcool

Esta variável foi definida qualitativamente como referir ou não ingestão de bebida alcoólica no período anterior ao tratamento da hepatite C.

4.6.6 Fatores de risco para a aquisição do HIV

- Sexual – promiscuidade sexual homo ou heterossexual, caracterizada como ter mais de 3 parceiros em 6 meses ou ter relações sexuais com profissionais do sexo;

- Sangüíneo - uso de drogas ilícitas injetáveis ou recebimento de transfusão de sangue ou derivados antes de 1988 (Decreto 95721/88).

4.6.7 Doença definidora de aids

Definiu-se esta variável como ter ou não apresentado, até o momento, qualquer doença oportunista indicativa de aids, segundo os critérios vigentes (CENTERS FOR DISEASES CONTROL, 1993).

4.6.8 Uso de anti-retrovirais

Definiu-se esta variável como o paciente estar ou não fazendo uso, no momento da entrada no estudo, de qualquer medicamento anti-retroviral.

4.6.9 Contagem de linfócitos T CD4⁺ no sangue

Definiu-se esta variável em função da quantificação dos valores dos linfócitos T CD4⁺, expressos como células por milímetro cúbico (cel/mm³), detectados num período inferior a 3 meses, antecedendo à primeira biópsia hepática. Esta variável foi coletada como variável contínua.

4.6.10 Viremia do HIV

Definiu-se essa variável em função da quantificação da viremia do HIV (em logarítmo na base 10), a qual foi realizada num período inferior a 3 meses, antecedendo à primeira biópsia hepática. Esta variável foi coletada como variável contínua.

O método utilizado na quantificação da carga viral do HIV foi bDNA (*Test branched DNA*; Quantiplex HIV-1 RNA 3.0 Assay; Bayer Diagnostics), cujo limite de detecção é de 50 cópias/mL.

4.6.11 Determinação do RNA HCV qualitativo

A pesquisa do RNA (Teste qualitativo, COBAS AMPLICOR®, ROCHE Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany), foi realizada antes do início do tratamento, na 24ª semana, na 48ª semana e na 72ª semana após o início do tratamento da hepatite C. A variável foi definida como positiva ou negativa.

4.6.12 Genótipo do HCV

Definiu-se esta variável em função da identificação do genótipo do HCV realizada antes do tratamento da hepatite. Esta variável foi categorizada como:

- genótipo 1;
- genótipo 2;
- genótipo 3;
- outros.

A genotipagem do vírus C foi realizada por meio de teste imunoblot em tiras (*INNO-LiPA HCV II*, Innogenetics, Belgium), que se baseia na hibridização com sondas específicas contra os genótipos 1, 2, 3, 4 e seus subtipos, de produtos transcritos e amplificados por RT-PCR.

4.6.13 Outros exames laboratoriais

Os seguintes exames laboratoriais foram obtidos por meio da análise de prontuários dos pacientes. Estes exames foram realizados num período inferior a 3 meses antecedendo à primeira biópsia hepática: alanina aminotransferase (ALT), gamaglutamiltransferase (GGT), hemogloblina, plaquetas, glóbulos brancos, ferro sérico, ferritina, UIBC, albumina e INR. Os valores normais e as unidades de referência de cada um são apresentados no Apêndice D.

4.6.14 Terapêutica para hepatite C

A terapêutica realizada para a hepatite C foi obtida por meio da análise dos prontuários médicos e foi agrupada em:

- uso de interferon-alfa isolado;
- uso de interferon-alfa associado à ribavirina;
- uso de interferon peguilado associado à ribavirina.

4.6.15 Duração do tratamento da hepatite C

A duração do tratamento foi obtida por meio da análise dos prontuários médicos, sendo incluídos apenas os pacientes cuja duração foi igual ou superior a 16 semanas. Esta variável foi agrupada em:

- duração de 16 a 24 semanas;
- duração de 25 a 48 semanas.

4.6.16 Intervalo de tempo entre as biópsias hepáticas

Os pacientes foram submetidos à biópsia hepática pré-tratamento e outra controle, transcorridos pelo menos 6 meses após interrupção ou término do tratamento da hepatite C.

4.6.16.1 Intervalo de tempo entre o final do tratamento e a biópsia-controle

Esta variável foi agrupada nos seguintes intervalos de tempo:

- 6 a 12 meses;
- 13 a 23 meses;
- 24 a 55 meses.

4.6.16.2 Intervalo de tempo entre as biópsias pré e pós-tratamento

Esta variável foi agrupada nos seguintes intervalos de tempo:

- 15 a 30 meses;
- 31 a 45 meses;
- 46 a 72 meses.

4.7 Avaliação histológica

4.7.1 Obtenção do material da biópsia

Os pacientes foram submetidos à biópsia hepática através de punção percutânea com agulha de Barth (tipo *Trucut*) número 14 ou 16 Gauge, guiada por ultrassonografia. A avaliação histológica foi realizada por dois patologistas do Departamento de Patologia da FMRP-USP, separadamente e de maneira cega. Os fragmentos hepáticos foram fixados em solução de formol tamponado 10%, por 12 horas, a 25° C e depois de incluídos em parafina. Os cortes histológicos de fígado, com 4 µm, continham no mínimo 10 espaços-portas e foram corados com hematoxilina e eosina (HE), azul da Prússia (Método de Perl's), reticulina e picrosirius.

4.7.2 Avaliação da fibrose

Foi empregada a classificação de Knodell *et al.* (1981), modificada por Desmet *et al.* (1994), que permite o estadiamento da doença por meio da determinação do grau de fibrose (F): F0-fibrose ausente, F1-leve (fibrose periportal), F2-moderada (fibrose septos porta-porta, sem nódulos), F3-grave (distorção da arquitetura) ou F4-cirrose (Anexo B). Essa variável foi categorizada do seguinte modo:

F0 – ausente;

F1- leve (fibrose periportal);

F2 – moderada (fibrose septos porta-porta, sem nódulos);

F3 – grave (distorção da arquitetura);

F4 – cirrose.

4.7.3 Avaliação do índice de atividade histológica

O grau de atividade da doença foi estimado por meio do índice de atividade histológica (HAI) que leva em consideração a atividade necro-inflamatória portal, periportal e lobular, cuja soma dos *scores* resulta em *score* final de 1 a 18, sendo classificado como: *score* 1-3 atividade mínima; *score* 4-8 atividade leve; *score* 9-12 atividade moderada e *score* 13-18 atividade grave. Anexo B. Essa variável foi categorizada do seguinte modo:

- 1-3 Atividade mínima;
- 4-8 Atividade leve;
- 9-12 Atividade moderada;
- 13-18 Atividade grave.

4.7.4 Avaliação do depósito de ferro

A avaliação do ferro depositado no tecido hepático foi realizada utilizando-se o corante azul da Prússia (coloração de Perl's), e sua análise semiquantitativa com base na distribuição e localização lobular hepática, segundo classificação de Sciot *et al.* (1989). Nessa classificação, são consideradas a localização e a intensidade dos depósitos de ferro em hepatócitos, células de Kupffer, tratos portais e septos. São atribuídos *scores* a cada uma dessas

avaliações, sendo calculado o *score* final que varia de 0 a 20 (Anexo B). Essa variável foi categorizada do seguinte modo:

- *Score* 0 – ausente;
- *Score* 1-5 (grau I);
- *Score* 6-10 (grau II);
- *Score* 11-15 (grau III);
- *Score* 16 –20 (grau IV).

4.7.5 Avaliação da esteatose

A presença de esteatose também foi avaliada e semi-quantificada pela determinação da proporção de hepatócitos comprometidos pela esteatose macrovesicular conforme descrito por Patton *et al*, 2004, sendo então classificada em graus:

- 0-2% dos hepatócitos contendo gordura;
- 3-29% dos hepatócitos contendo gordura;
- 30-59% dos hepatócitos contendo gordura;
- mais que 60% dos hepatócitos contendo gordura.

4.7.6 Avaliação da intensidade do depósito de colágeno

A presença e a intensidade do depósito de colágeno foi avaliada pela coloração pelo picrossirius, com análise quantitativa do depósito de colágeno, usando-se uma ocular integradora de 100 pontos e aumento de 400x. Para cada

paciente foram contados 1000 pontos por fígado e cada ponto foi classificado como positivo ou negativo para colágeno (BRANDÃO, 2005). Os resultados foram expressos em porcentagem (%) de pontos corados pelo picrosirius.

4.7.7 Avaliação da população de células estreladas hepáticas

A população de células estreladas hepáticas (CEH) foi avaliada na biópsia de fígado pelo método de imunohistoquímica que identifica a expressão da alfa-actina de músculo liso (α -SMA) nestas células. As CEH α -SMA positivas foram avaliadas utilizando-se o anticorpo monoclonal "*Monoclonal Mouse Anti-human Smooth Muscle Actin*" (α -SMA, 1A4, DAKO, A/S, Denmark, diluição 1:100), usando-se um sistema de avidina-biotina-peroxidase (*Novostain Super ABC Kit, Universal, Novocastra Laboratories Ltd., United Kingdom*). As lâminas foram contracoradas, reveladas com 3-diaminobenzidina (DAB) e montadas. Controles positivos e negativos foram utilizados. As CEH α -SMA positivas foram contadas utilizando-se um procedimento de contagem por pontos em alta definição (X400). Para cada paciente, 1000 pontos por fígado foram contados e classificados como hepatócitos, ductos biliares, CEH α -SMA reativas ou outras estruturas (vasos sanguíneos, espaços sinusoidais e células inflamatórias). A porcentagem de CEH α -SMA positivas foi calculada considerando-se o número de pontos classificados como CEH α -SMA positivas pelo número total de células parenquimatosas ou não-parenquimatosas, na mesma área da mesma seção. Foram utilizadas como controles 5 biópsias de fígados normais (MARTINELLI; RAMALHO; ZUCOLOTO, 2004).

4.8 Análise comparativa das biópsias

Os parâmetros histológicos foram expressos numericamente da seguinte maneira: HAI em scores variando de 1 a 18; fibrose em valores variando de 0 a 4; depósito de colágeno como porcentagem de pontos corados pelo picrosirius, variando de 0 a 100; e células estreladas hepáticas em número de CEH alfa-SMA positivas por campo. Considerou-se como melhora histológica, para cada parâmetro isoladamente, quando a razão numérica pós/pré foi igual ou menor que 1.

4.9 Análise estatística

A análise e indicação dos métodos estatísticos foram feitas com a colaboração e orientação dos profissionais do Centro de Métodos Quantitativos (CEMEQ), do HCFMRP-USP.

Para análise dos dados foi utilizado o programa estatístico SAS *release 8.02*. SAS. Foi adotado o nível de significância de 0,05 ($\alpha=5\%$).

Para verificar as diferenças entre as situações pré e pós-tratamento, nas variáveis fibrose, ferro, esteatose e HAI foi utilizado o teste de Stuart – Maxwell e na análise das variáveis CEH-SMA e depósito de colágeno foi utilizado o teste de Mc Nemar.

As variáveis histológicas foram comparadas, antes e após o tratamento, e as razões dos resultados obtidos em cada variável (pós/pré-tratamento) foram relacionadas com a presença do RNA HCV na 24ª semana de

tratamento da hepatite C, com a duração do tratamento e com o intervalo de tempo entre a interrupção do tratamento e a biópsia hepática controle. Os resultados foram analisados por meio do teste de Wilcoxon.

Foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman para avaliar a correlação das razões das variáveis histológicas pós/pré-tratamento.

A fim de verificar uma possível associação entre a variável resposta (melhora ou não dos parâmetros histológicos com o tratamento) com algumas variáveis independentes foi realizado um modelo de regressão logística. A resposta melhora foi considerada quando houve manutenção ou diminuição dos valores dos parâmetros histológicos pós-tratamento em relação ao pré-tratamento. As variáveis de controle foram o tempo entre as duas biópsias, o tempo entre o final do tratamento e a biópsia-controle e o valor inicial de cada variável resposta. As variáveis independentes foram o uso de álcool, genótipo do HCV, IMC, resultado do RNA HCV na 24ª semana de tratamento, ferro hepático na biópsia pré-tratamento, grau de esteatose na biópsia pré-tratamento e o valor da ALT pré-tratamento. As variáveis-resposta (ou dependentes) foram os índices histológicos fibrose, PS, SMA e HAI. Os resultados das regressões logísticas foram sumarizados na forma de *odds-ratio* (OR), com seus respectivos intervalos de confiança 95%, obtidos a partir de: (1) Ajuste de um modelo logístico considerando-se apenas uma variável independente, obtendo-se assim um OR “Bruto”, em cada situação; (2) Ajuste de um modelo logístico considerando-se uma variável independente e as variáveis de controle, obtendo-se assim um OR “Ajustado”, em cada situação.

5 RESULTADOS

5.1 População de estudo

Participaram deste estudo 26 pacientes com hepatite crônica pelo vírus C, co-infectados pelo HIV, que foram atendidos no Hospital das Clínicas da FMRP-USP, que realizaram tratamento para hepatite C, preencheram todos os critérios de inclusão e exclusão e concordaram em participar do estudo. Os primeiros pacientes do estudo iniciaram tratamento para a hepatite C em maio de 1999. O estudo foi realizado no período de janeiro de 2004 a agosto de 2005, onde foram realizadas as biopsias hepáticas controles de toda a população.

5.1.1 Características demográficas, bioquímicas e virológicas

A Tabela 1 e o Apêndice E mostram as características demográficas, bioquímicas e virológicas basais dos 26 pacientes participantes do estudo, antes de se submeterem ao tratamento da hepatite C.

Tabela 1- Características demográficas, bioquímicas e virológicas basais dos pacientes com hepatite C crônica co-infectados pelo HIV, Hospital das Clínicas da FMRP-USP, 1999- 2005.

Variável	(n=26)
Sexo masculino (%)	19 (73,1)
Idade (anos) média (DP)	37,3 (5,3)
Cor branca, n° (%)	23 (88,5)
IMC (Kg/m ²) média (DP)	24,2 (4,0)
Uso prévio de álcool, n° (%)	21 (80,7)
Fatores de risco para aquisição do HIV, n° (%) UDEV	18 (69,2)
Doença definidora de aids, n° (%)	4 (15,4)
Em uso de anti-retrovirais, n° (%)	22 (84,6)
Linfócitos T CD4 ⁺ no sangue (células/mm ³) média (DP)	687,5 (254,8)
350-500 n° (%)	4 (15,3)
≥ 500 n° (%)	22 (84,7)
RNA HIV (log) *	
≤50 cópias/mL, n° (%)	10 (41,7)
>50 cópias/mL, n° (%)	14 (58,3)
Quantificação RNA HIV (log), média (DP)	3,78 (0,7)
HCV genótipo 1, n° (%)	21 (80,8)
genótipo 2	1 (3,8)
genótipo 3	4 (15,4)
ALT (U/L) média (DP)	135,2 (140,4)
GGT (U/L) média (DP)	145,8 (154,1)
Hemoglobina (g/dL) média (DP)	14,3 (1,6)
Plaquetas nx10 ³ (mm ³) média (DP)	185,1 (58,3)
Glóbulos brancos (mm ³) média (DP)	5 685,0 (1 897,0)
Ferro sérico (mg/dL) média (DP)	140,1 (59,6)
Ferritina (ng/dL) média (DP)	488,0 (426,5)
UIBC (mg/dl) média (DP)	187,9 (47,1)
Albumina (g/l) média (DP)	4,2 (0,4)
INR média (DP)	1,1 (0,1)

IMC, índice de massa corporal; UDEV, usuário de droga endovenosa; ALT, alanina aminotransferase; GGT, gamaglutamiltransferase; UIBC, capacidade de fixação latente do ferro. * avaliado em 20 pacientes

A análise da Tabela 1 permite verificar que os pacientes tinham uma idade média de 37,3 anos, sendo 73,1% do sexo masculino e 88,5% da cor branca, com um índice de massa corporal médio de 24,2 Kg/m². O uso de drogas injetáveis foi considerado o principal fator de risco para a aquisição do HIV, sendo referido por 69,2% dos pacientes. Vinte e um pacientes faziam uso de álcool previamente ao tratamento. Apenas 4 pacientes (15,4%) tinham antecedentes de doenças oportunistas prévias ao tratamento. Grande parte dos pacientes (84,6%) estava em uso de terapia anti-retroviral. Todos os pacientes apresentavam linfócitos T CD4⁺ maior que 350 células/mm³, com média de 687,5 células/mm³. Verifica-se que 41,7% dos pacientes apresentavam a quantificação do RNA do HIV plasmático abaixo de 50 cópias/mL, e o restante, 58,3%, acima de 50 cópias/mL, com uma mediana de 3,78 log. O genótipo 1 do HCV foi o responsável pela infecção em 80,8% dos pacientes, genótipo 2 em 3,8% e o genótipo 3 em 15,4% .

Os demais exames laboratoriais (Tabela 1 e Apêndice F) evidenciaram a ALT com média de 135,2 U/L, GGT de 145,8 U/L, hemoglobina de 14,3 g/dL, plaquetas de 185.00/mm³, glóbulos brancos de 5.685/mm³, ferro sérico de 140 mg/dL, ferritina de 488 ng/dL, UIBC de 187,9 mg/dL, albumina de 4,2 g/L e INR de 1,1.

5.1.2 Esquema terapêutico utilizado e duração do tratamento da hepatite C

Podemos ver na Tabela 2 e Apêndice G a distribuição dos esquemas terapêuticos utilizados no tratamento da hepatite C, assim como a duração desta terapêutica.

Tabela 2- Esquema terapêutico utilizado no tratamento da hepatite C distribuído de acordo com a duração deste tratamento nos pacientes co-infectados pelo HCV e HIV, Hospital das Clínicas da FMRP-USP, 1999-2005.

Terapêutica/ Duração	INF	INF + RIB	PEG-INF+RIB	N (%)
16 - 24 semanas	0 (0)	4 (66,7)	2 (33,3)	6 (23,1)
25 – 48 semanas	2 (10,0)	14 (70,0)	4 (20,0)	20 (76,9)
N	2 (7,7)	18 (69,2)	6 (23,1)	26 (100,0)

Dados expressos em frequência absoluta e percentagem.

INF, Interferon-alfa; RIB, ribavirina; PEG-INF, interferon peguilado.

Assim, todos os pacientes receberam tratamento para hepatite C por tempo superior a 16 semanas, sendo a maioria (76,9%) tratada por mais de 24 semanas. O esquema terapêutico mais utilizado (69,2%) foi o interferon-alfa associado à ribavirina.

5.1.3 Avaliação virológica durante o tratamento da hepatite C

Todos os 26 pacientes apresentavam RNA HCV positivo pré-tratamento confirmando a infecção pelo vírus C. Na 24^a semana de tratamento da hepatite foi realizado o RNA HCV em 20 pacientes, sendo negativo em 7 (35%). Na 72^a semana após o início do tratamento foi repetido o exame, e o mesmo permaneceu negativo apenas em 4 pacientes (20,0%), o que representou a taxa de resposta virológica sustentada.

5.1.4 Intervalo de tempo entre as biópsias

Na Tabela 3 podemos ver a distribuição dos intervalos de tempo entre a interrupção da terapêutica para hepatite C e a biópsia hepática pós-tratamento e o intervalo entre as biópsias pré e pós-tratamento.

Tabela 3- Distribuição dos intervalos de tempo entre a interrupção da terapêutica para hepatite C e a biópsia hepática pós-tratamento e o intervalo entre as biópsias dos pacientes co-infectados pelo HCV e HIV, Hospital das Clínicas da FMRP-USP, 1999-2005.

Intervalo de tempo	(n=26)
Entre a interrupção ou suspensão da terapêutica e a biópsia pós-tratamento, média (DP)	25,2 (15,2)
6-12 meses n (%)	7 (26,9)
13-23 meses n (%)	6 (23,1)
24-55 meses n (%)	13 (50,0)
Entre as biópsias, média (DP)	41,5 (15,8)
15-30 meses n (%)	8 (30,7)
31-45 meses n (%)	8 (30,7)
46- 72 meses n (%)	10 (38,6)

A biópsia hepática controle foi realizada, em média, 25,2 meses (DP 15,2) após o final do tratamento da hepatite C, sendo que 50,0% dos pacientes tiveram sua biópsia-contrôle realizada num tempo superior ou igual a 24 meses. Quando se avalia o intervalo entre as duas biópsias, pré e pós-tratamento, verifica-se que o intervalo de tempo teve uma média de 41,5 meses (DP 15,8), com 69,3% dos pacientes apresentando um intervalo de tempo superior a 30 meses.

5.2 Avaliação histológica

5.2.1 Parâmetros histológicos das biópsias realizadas antes do tratamento da hepatite C (tabela 4 e apêndice H e I)

Tabela 4- Distribuição dos parâmetros histológicos da biópsia hepática realizada antes do tratamento da hepatite C dos pacientes co-infectados pelo HCV e HIV, Hospital das Clínicas da FMRP-USP, 1999-2005.

Parâmetro histológico		n (%)
Fibrose	F0 (ausente)	0 (0,0)
	F1 (leve)	8 (30,8)
	F2 (moderada)	17 (65,4)
	F3 (grave)	1 (3,8)
	F4 (cirrose)	0 (0,0)
HAI	1-3 (mínima)	0 (0,0)
	4-8 (leve)	8 (30,8)
	9-12 (moderada)	17 (65,4)
	13-18 (grave)	1 (3,8)
Depósito de ferro	0	15 (57,7)
	I	8 (30,8)
	II	2 (7,7)
	III	1 (3,8)
	IV	0 (0,0)
Esteatose	0	10 (38,5)
	1	8 (30,8)
	2	7 (26,9)
	3	1 (3,8)
Depósito de colágeno (% pontos corados pelo picrosirius) *	≤ 30	16 (61,5)
	>30	10 (38,5)
CEH α-SMA positivas/campo *	≤ 25	13 (50,0)
	>25	13 (50,0)

HAI, índice de atividade histológica; CEH α-SMA, células estreladas alfa-actina músculo liso positivas. * ponto de corte = mediana

Verifica-se que a maioria (65,4%) dos pacientes apresentava hepatite moderada com fibrose moderada. Houve uma grande variação no depósito de ferro no fígado, sendo que 57,7% não apresentavam depósito de ferro. A esteatose estava ausente em 38,5% dos pacientes e identificada como grau 1 em 30,8%. A intensidade do depósito de colágeno, através do percentual de pontos corados pelo picrosirius, foi igual ou inferior a 30% em 61,5% dos pacientes e a percentagem de células estreladas α -actina-positivas foi menor ou igual a 25 em 50% dos pacientes.

5.2.2 Comparação dos parâmetros histológicos das biópsias realizadas antes e após o tratamento da hepatite C

Nas Tabela 5 e Apêndice H e I, podemos verificar a distribuição dos valores dos parâmetros histológicos (HAI, fibrose, depósito de colágeno e CEH) avaliados nas biópsias realizadas antes e após o tratamento da hepatite C. A Tabela 6 expressa a variação da frequência de pacientes de acordo com as categorias de todos os parâmetros histológicos avaliados.

Tabela 5- Distribuição dos parâmetros histológicos avaliados nas biópsias hepáticas pré e pós-tratamento da hepatite C dos pacientes co-infectados pelo HCV e HIV, Hospital das Clínicas da FMRP-USP, 1999-2005.

Parâmetro histológico	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo	p*
Fibrose							
Pré	26	1,7	0,5	1,0	2,0	3,0	0,14
Pós	26	2,0	0,9	1,0	2,0	4,0	
HAI							
Pré	26	9,2	2,6	4,0	9,5	13,0	0,22
Pós	26	10,2	3,4	5,0	11,0	18,0	
Depósito de colágeno (% pontos corados pelo picosirius)							
Pré	26	26,2	9,3	8,0	30,0	44,0	0,09
Pós	26	30,6	13,8	11,0	30,5	54,0	
CEH α-SMA/campo							
Pré	26	24,7	7,8	7,0	25,5	37,0	0,13
Pós	26	27,3	10,0	7,0	27,5	43,0	

HAI, índice de atividade histológica; CEH α -SMA, células estreladas alfa-actina músculo liso positivas

*p - Teste de Wilcoxon para amostras pareadas

Tabela 6- Distribuição de freqüência de pacientes de acordo com as categorias dos parâmetros histológicos avaliados nas biópsias realizadas antes e após o tratamento da hepatite C dos pacientes co-infectados pelo HCV e HIV, Hospital das Clínicas da FMRP-USP, 1999-2005.

Parâmetro histológico	Pré-Tratamento	Pós-tratamento				Total n (%)
Fibrose	Leve	2 (25,0)	5 (62,5)	1 (12,5)	0 (0,0)	8 (30,8)
	Moderada	6 (35,3)	6 (35,3)	3 (17,6)	2 (11,8)	17 (65,4)
	Grave	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (100,0)	0 (0,0)	1 (3,8)
HAI		4 a 8 (mínima)	9 a 12 (moderada)	≥ 13 (grave)	-	
	4 a 8	1 (12,5)	6 (75,0)	1 (12,5)	-	8 (30,8)
	9 a 12	5 (29,4)	8 (47,1)	4 (23,5)	-	17 (65,4)
	≥ 13	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (100,0)	-	1 (3,8)
Ferro		0	I	II	III	
	0	9 (60,0)	4 (26,6)	1 (6,7)	1 (6,7)	15 (57,7)
	I	2 (25,0)	4 (50,0)	2 (25,0)	0 (0,0)	8 (30,8)
	II	1 (50,0)	1 (50,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (7,7)
	III	0 (0,0)	1 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (3,8)
Esteatose		0	1	2	3	
	0	3 (30,0)	2 (20,0)	4 (40,0)	1 (10,0)	10 (38,5)
	1	3 (37,5)	1 (12,5)	4 (50,0)	0 (0,0)	8 (30,8)
	2	4 (57,1)	1 (14,3)	1 (14,3)	1 (14,3)	7 (26,9)
	3	1 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (3,8)
Depósito de colágeno		≤30	>30	-	-	
	≤ 30	12 (75,0)	4 (25,0)	-	-	16 (61,5)
	>30	1 (10,0)	9 (90,0)	-	-	10 (38,5)
CEH α-SMA		≤25	>25	-	-	
	≤ 25	7 (53,8)	6 (46,2)	-	-	13 (50,0)
	> 25	4 (30,8)	9 (69,2)	-	-	13 (50,0)

HAI, índice de atividade histológica; CEH α-SMA, células estreladas alfa-actina músculo liso positiva. Dados expressos em freqüência absoluta e porcentagem.

Conforme verificamos na Tabela 5, a avaliação global dos parâmetros fibrose, HAI, depósito de colágeno e células estreladas hepáticas α -actina positivas, identificados nas biópsias realizadas antes e após o tratamento da hepatite C, não apresentaram diferenças estatisticamente significantes.

Quando se compara a variação dos parâmetros histológicos (Tabela 6), podemos verificar que o grupo de pacientes com HAI moderado na biópsia pré-tratamento (o que representava 65,4% do total) regrediu para atividade mínima na biópsia pós-tratamento em 29,4%; manteve-se como moderada em 47,1% e progrediu para grave em 23,5%.

A fibrose foi moderada (F2) na biópsia pré-tratamento em 65,4% dos pacientes, regredindo para fibrose leve em 35,3%; manteve-se como moderada em 35,3%; evoluiu para grave em 17,6% e para cirrose em 11,8%.

O depósito de ferro foi ausente em 57,7% dos pacientes na biópsia pré-tratamento e manteve-se ausente em 60% deles.

A esteatose foi ausente em 38,5% e grau 1 em 30,8% na biópsia pré-tratamento e manteve-se ausente em 30% e grau 1 em 20% dos pacientes.

O depósito de colágeno foi menor ou igual a 30% em 61,5% dos pacientes e manteve-se neste intervalo em 75% dos pacientes.

A avaliação das células estreladas α -SMA positivas foi menor ou igual a 25 células/campo em 50% dos pacientes e manteve-se neste limite em 53,8%.

Quando verificamos as diferenças de todas as variáveis em conjunto, na situação pré-tratamento com a situação pós-tratamento, de acordo com o teste de Stuart-Maxwel, observa-se que não houve diferenças estatisticamente significantes entre elas (Tabela 7).

Tabela 7- Valores de significância da comparação dos parâmetros histológicos na situação pré e pós-tratamento da hepatite C dos pacientes co-infectados pelo HCV e HIV, Hospital das Clínicas da FMRP-USP, 1999-2005.

Parâmetro histológico	χ^2	p-valor
Fibrose	6,090	0,11
Ferro	1,320	0,72
Esteatose	1,940	0,58
HAI	5,080	0,08
CEH α -SMA	0,400	0,53
Depósito de colágeno	1,800	0,18

HAI, índice de atividade histológica; CEH α -SMA, células estreladas alfa-actina músculo liso positivas.

A Figura 1 resume a variação dos vários parâmetros histológicos da situação pré para pós-tratamento. O grau de fibrose diminuiu ou manteve-se inalterado na biópsia pós-tratamento, em relação à biópsia basal, em 15 pacientes (57,7%) e se elevou em 11 (42,3%). O HAI diminuiu ou manteve-se inalterado em 11 (42,3%) e se elevou em 15 (57,7%).

O número de CEH α -SMA diminuiu ou manteve-se em 8 pacientes (30,8%) e aumentou em 18 deles (69,2%). O depósito de colágeno diminuiu ou manteve-se em 7 pacientes (26,9%) e aumentou em 19 (73,1%) dos mesmos.

Figura 1. Mudanças individuais dos parâmetros histológicos (a) Fibrose, (b) HAI, (c) CEH α -SMA positivas e (d) Depósito de colágeno nas biópsias realizadas pré e pós-tratamento da hepatite C. Em cor vermelha são representados os indivíduos que tiveram o RNA HCV negativo na 24^a semana de tratamento.

5.2.3 Avaliação das razões dos parâmetros histológicos obtidos das biópsias realizadas após o tratamento em relação àquelas observadas antes do tratamento de acordo com a resposta virológica na 24^a semana de tratamento da hepatite C

A Tabela 8 mostra as razões pós/pré tratamento dos parâmetros histológicos de acordo com a resposta virológica do HCV na 24^a semana de tratamento da hepatite C, dos 20 pacientes que realizaram o RNA HCV neste período de tratamento. A Figura 2 expressa a distribuição individual destes valores. Verificamos que houve redução dos valores numéricos, em todos os parâmetros avaliados, nos pacientes que obtiveram resposta virológica na 24^a semana de tratamento da hepatite C.

Tabela 8- Índices obtidos de biópsias hepáticas realizadas após o tratamento da hepatite C em relação àquelas observadas antes do tratamento (razão pós/pré), de acordo com a resposta virológica do HCV na 24^a semana nos pacientes co-infectados pelo HCV e HIV, Hospital das Clínicas FMRP-USP, 1999-2005.

Parâmetro histológico	RNA-HCV 24 ^a semana	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo	p*
HAI	Positivo	13	1,35	0,52	0,56	1,17	2,40	0,054
	Negativo	7	0,71	0,31	0,42	0,56	1,10	
Fibrose	Positivo	13	1,58	0,67	0,50	1,50	3,00	0,002
	Negativo	7	0,64	0,24	0,50	0,50	1,00	
CEH α-SMA	Positivo	13	1,36	0,52	0,44	1,24	2,17	0,007
	Negativo	7	0,69	0,32	0,21	0,57	1,07	
Depósito colágeno	Positivo	13	1,66	0,91	0,52	1,54	3,63	0,024
	Negativo	7	0,60	0,31	0,36	0,43	1,05	

HAI, índice de atividade histológica; CEH α -SMA, células estreladas hepáticas α -actina de músculo liso positivas. *teste de Wilcoxon

Figura 2. Distribuição das razões (pós/pré-tratamento) dos parâmetros histológicos de acordo com o resultado positivo ou negativo do RNA HCV na 24ª semana de tratamento: (a) HAI (b) Fibrose (c) CEH α -SMA positivas (d) Depósito de colágeno. ● Pacientes que apresentaram RVS

5.2.4 Distribuição dos parâmetros histológicos pós/pré-tratamento de acordo com a duração do tratamento da hepatite C

A Tabela 9 mostra os índices das biópsias pós/pré-tratamento distribuídos de acordo com a duração do tratamento da hepatite C, se menor ou igual a 24 semanas ou maior que 24 semanas.

Tabela 9- Índices obtidos em biópsias hepáticas realizadas após o tratamento em relação àqueles observados antes do tratamento (razão pós/pré) de acordo com a duração do tratamento da hepatite C, nos pacientes co-infectados pelo HCV e HIV, Hospital das Clínicas FMRP-USP, 1999-2005.

Parâmetro histológico	Duração do tratamento	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo	p*
HAI		26	1,23	0,57	0,42	1,11	2,40	0,13
	≤ 24 sem	6	1,51	0,50	1,00	1,35	2,25	
	>24 sem	20	1,15	0,57	0,42	1,04	2,40	
Fibrose		26	1,29	0,67	0,50	1,00	3,00	0,60
	≤ 24 sem	6	1,42	0,49	1,00	1,25	2,00	
	>24 sem	20	1,25	0,72	0,50	1,00	3,00	
CEH α-SMA		26	1,25	0,65	0,21	1,08	3,29	0,04
	≤ 24 sem	6	1,70	0,85	1,06	1,40	3,29	
	>24 sem	20	1,11	0,53	0,21	1,05	2,17	
Depósito de colágeno		26	1,36	0,85	0,36	1,07	3,63	0,28
	≤ 24 sem	6	1,57	0,68	1,03	1,31	2,70	
	>24 sem	20	1,30	0,90	0,36	1,07	3,63	

HAI, índice de atividade histológica; CEH α-SMA, células estreladas hepáticas α-actina de músculo liso positivas. *Teste de Wilcoxon

Verificamos que os parâmetros histológicos foram semelhantes nos dois grupos de pacientes, exceto a razão CEH α-SMA, onde há uma

tendência de melhora no grupo que tratou por tempo superior a 24 semanas. Na Figura 3 podemos verificar a distribuição das razões pós/pré-tratamento dos parâmetros histológicos nos dois grupos de pacientes.

Figura 3. Distribuição das razões pós/pré tratamento dos parâmetros histológicos de acordo com a duração do tratamento da hepatite C (≤ 24 semanas ou > 24 semanas): (a) HAI; (b) Fibrose; (c) CEH α -SMA positivas; (d) Depósito de colágeno. ● Pacientes que apresentaram RVS.

5.2.5 Distribuição dos parâmetros histológicos pós/pré-tratamento de acordo com o intervalo de tempo entre a interrupção do tratamento e a biópsia hepática controle pós-tratamento (Tabela 10)

Tabela 10- Distribuição dos parâmetros histológicos (pós/pré-tratamento) de acordo com o intervalo de tempo entre a interrupção do tratamento da hepatite e a biópsia-controle, nos pacientes co-infectados pelo HCV e HIV, Hospital das Clínicas FMRP-USP, 1999-2005.

Parâmetro histológico	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo	p-valor*
HAI							
	26	1,23	0,57	0,42	1,11	2,40	
≤24 meses	13	1,20	0,52	0,56	1,08	2,25	0,85
>24 meses	13	1,26	0,63	0,42	1,22	2,40	
Fibrose							
	26	1,29	0,67	0,50	1,00	3,00	
≤24 meses	13	1,23	0,56	0,50	1,00	2,00	0,82
>24 meses	13	1,35	0,77	0,50	1,00	3,00	
CEH α- SMA							
Pós/Pré	26	1,25	0,65	0,21	1,08	3,29	
≤24 meses	13	1,26	0,70	0,44	1,07	3,29	0,78
>24 meses	13	1,23	0,62	0,21	1,12	2,17	
Depósito de colágeno							
	26	1,36	0,85	0,36	1,07	3,63	
≤24 meses	13	1,28	0,65	0,37	1,07	2,70	1,00
>24 meses	13	1,45	1,03	0,36	1,07	3,63	

HAI, índice de atividade histológica; CEH α-SMA, células estreladas hepáticas α-actina de músculo liso positivas.

* teste de Wilcoxon

Figura 4. Distribuição dos valores individuais dos parâmetros histológicos (pós/pré-tratamento) de acordo com o intervalo de tempo entre o término ou interrupção do tratamento da hepatite e a biópsia controle: (a) HAI; (b) Fibrose; (c) CEH α -SMA positivas; (d) Depósito de colágeno. ● Pacientes que apresentaram RVS.

Conforme evidenciado na Tabela 10 e Figura 4, os parâmetros histológicos avaliados não se mostraram diferentes no grupo que realizou a biópsia hepática-controle, num tempo igual ou inferior a 24 meses após o final do tratamento, quando comparados com o grupo que teve este intervalo superior a 24 meses.

5.2.6 Análise de regressão logística para as variáveis histológicas

A fim de verificar possíveis associações entre a variável resposta (melhora ou não dos parâmetros histológicos com o tratamento) com algumas variáveis independentes, foi realizado modelo de regressão logística. A resposta melhora foi considerada quando houve manutenção ou diminuição dos valores dos parâmetros histológicos pós-tratamento em relação ao pré-tratamento.

As variáveis de controle foram o tempo entre as biópsias, o tempo entre o final do tratamento e a biópsia-controle e o valor inicial de cada variável resposta. As variáveis independentes foram o uso de álcool, genótipo do HCV, IMC, resultado do RNA HCV na 24^a semana de tratamento, ferro hepático na biópsia pré-tratamento, grau de esteatose na biópsia pré-tratamento e o valor da ALT pré-tratamento. As variáveis dependentes (resposta) foram os parâmetros histológicos fibrose, depósito de colágeno, CEH α -SMA e HAI.

Os resultados das análises de regressões logísticas estão sumarizados nas Tabelas 11 a 14, com o *odds-ratio* (OR) e seus respectivos intervalos de confiança.

Observamos que houve associação da melhora das variáveis fibrose, depósito de colágeno e CEH α -SMA com o resultado negativo do RNA HCV na 24^a semana de tratamento da hepatite C. Quando se levam em consideração as variáveis de controle não se observam estas associações, do ponto de vista estatístico.

Tabela 11- Resultados da Regressão Logística para a variável Fibrose

Variáveis	Fibrose ^(a)		OR Bruto ^(b) IC (95%)	OR Ajustado ^(c) IC (95%)
	Não Melhora	Melhora		
IMC				
< 25	6 (54,6)	13 (86,7)	1	1
≥ 25	5 (45,4)	2 (13,3)	0,198 (0,015; 1,642)	0,265 (0,018; 2,623)
Uso de álcool				
Não	3 (27,3)	2 (13,3)	1	1
Sim	8 (72,7)	13 (86,7)	2,352 (0,218; 34,068)	2,601 (0,098; 69,672)
Genótipo HCV				
Não 1	2 (18,2)	3 (20,0)	1	1
1	9 (81,8)	12 (80,0)	0,893 (0,062; 9,628)	1,107 (0,068; 14,142)
RNA HCV (24 ^a semana)				
Positivo	8 (100,0)	5 (41,7)	1	1
Negativo	0 (0,0)	7 (58,3)	11,936 (1,410;...)	2,875 (0,265;...)
Ferro (Pré-Tratamento)				
Ausente	6 (54,6)	9 (60,0)	1	1
I, II ou III	5 (45,4)	6 (40,0)	0,807 (0,128; 5,091)	0,712 (0,086; 5,040)
Esteatose (Pré-Tratamento)				
0	5 (45,4)	5 (33,3)	1	1
1, 2 ou 3	6 (54,6)	10 (66,7)	1,634 (0,254; 10,893)	1,039 (0,076; 8,904)
ALT (Pré-Tratamento)				
< 88	6 (54,6)	7 (46,7)	1	1
≥ 88	5 (45,4)	8 (53,3)	1,355 (0,223; 8,587)	0,252 (0,004; 3,972)
Tempo entre biópsias				
< 41 meses	5 (45,4)	8 (53,3)	1	1
≥ 41 meses	6 (54,6)	7 (46,7)	0,738 (0,116; 4,482)	0,736 (0,117; 4,398)
Tempo entre fim e 2 ^a biópsia				
< 25 meses	6 (54,6)	7 (46,7)	1	1
≥ 25 meses	5 (45,4)	8 (53,3)	1,355 (0,223; 8,587)	1,359 (0,209; 9,385)
Fibrose (Pré Tratamento)				
Leve	6 (54,6)	2 (13,3)	1	1
Moderada ou Grave	5 (45,4)	13 (86,7)	7,115 (0,893; 95,557)	6,566 (0,870; 83,255)

(a) Dados expressos em frequência absoluta e porcentagem respectivamente;

(b) OR obtido a partir do modelo ajustado para cada variável independente;

(c) OR obtido a partir do modelo ajustado para cada variável independente e as variáveis de controle.

Tabela 12- Resultados da Regressão Logística para a variável PS (depósito de colágeno)

Variáveis	PS ^(a)		OR Bruto ^(b) IC (95%)	OR Ajustado ^(c) IC (95%)
	Não Melhora	Melhora		
IMC				
< 25	12 (63,2)	7 (100,0)	1	1
≥ 25	7 (36,8)	0 (0,0)	0,205 (...; 1,677)	0,291 (0; 2,388)
Uso de álcool				
Não	4 (21,1)	1 (14,3)	1	1
Sim	15 (78,9)	6 (85,7)	1,573 (0,118; 91,746)	1,661 (0,062; 131,343)
Genótipo HCV				
Não1	3 (15,8)	2 (28,6)	1	1
1	16 (84,2)	5 (71,4)	0,484 (0,041; 7,341)	0,593 (0,048; 8,963)
RNA HCV (24 ^a semana)				
Positivo	11 (84,6)	2 (28,6)	1	1
Negativo	2 (15,4)	5 (71,4)	11,480 (1,045; 214,866)	11,129 (0,902; 590,764)
Ferro (Pré-Tratamento)				
Ausente	10 (52,6)	5 (71,4)	1	1
I, II ou III	9 (47,4)	2 (28,6)	0,458 (0,035; 3,732)	0,412 (0,030; 3,580)
Esteatose (Pré-Tratamento)				
0	9 (47,4)	1 (14,3)	1	1
1, 2 ou 3	10 (52,6)	6 (85,7)	5,094 (0,469; 275,433)	6,155 (0,548; 355,501)
ALT (Pré-Tratamento)				
< 88	10 (52,6)	3 (42,9)	1	1
≥ 88	9 (47,4)	4 (57,1)	1,459 (0,187; 12,853)	4,383 (0,272; 305,736)
Tempo entre biópsias				
< 41 meses	8 (42,1)	5 (71,4)	1	1
≥ 41 meses	11 (57,9)	2 (28,6)	0,305 (0,023; 2,475)	0,321 (0,025; 2,542)
Tempo entre fim e 2 ^a biópsia				
< 25 meses	9 (47,4)	4 (57,1)	1	1
≥ 25 meses	10 (52,6)	3 (42,9)	0,685 (0,078; 5,338)	0,709 (0,075; 5,969)
PS (Pré Tratamento)				
< 31	11 (57,9)	5 (71,4)	1	1
≥ 31	8 (42,1)	2 (28,6)	0,562 (0,043; 4,636)	0,583 (0,045; 4,882)

(a) Dados expressos em frequência absoluta e porcentagem respectivamente;

(b) OR obtido a partir do modelo ajustado para cada variável independente;

(c) OR obtido a partir do modelo ajustado para cada variável independente e as variáveis de controle.

Tabela 13- Resultados da Regressão Logística para a variável CEH SMA

Variáveis	CEH SMA ^(a)		OR Bruto ^(b) IC (95%)	OR Ajustado ^(c) IC (95%)
	Não Melhora	Melhora		
IMC				
< 25	11 (61,1)	8 (100,0)	1	1
≥ 25	7 (38,9)	0 (0,0)	0,165 (0; 1,330)	0,197 (0; 1,548)
Uso de álcool				
Não	3 (16,7)	2 (25,0)	1	1
Sim	15 (83,3)	6 (75,0)	0,613 (0,054; 9,079)	1,109 (0,063; 21,432)
Genótipo HCV				
Não1	3 (16,7)	2 (25,0)	1	1
1	15 (83,3)	6 (75,0)	0,613 (0,054; 9,079)	0,730 (0,058; 11,874)
RNA HCV (24 ^a semana)				
Positivo	11 (84,6)	2 (28,6)	1	1
Negativo	2 (15,4)	5 (71,4)	11,480 (1,045; 214,866)	16,038 (0,805; ...)
Ferro (Pré-Tratamento)				
Ausente	10 (55,6)	5 (62,5)	1	1
I, II ou III	8 (44,4)	3 (37,5)	0,758 (0,089; 5,421)	0,954 (0,114; 8,280)
Esteatose (Pré-Tratamento)				
0	9 (50,0)	1 (12,5)	1	1
1, 2 ou 3	9 (50,0)	7 (87,5)	6,535 (0,622; 349,801)	6,385 (0,605; 349,875)
ALT (Pré-Tratamento)				
< 88	9 (50,0)	4 (50,0)	1	1
≥ 88	9 (50,0)	4 (50,0)	1,000 (0,137; 7,282)	0,653 (0,045; 7,223)
Tempo entre biópsias				
< 41 meses	9 (50,0)	4 (50,0)	1	1
≥ 41 meses	9 (50,0)	4 (50,0)	1,000 (0,137; 7,282)	0,968 (0,134; 6,914)
Tempo entre fim e 2 ^a biópsia				
< 25 meses	10 (55,6)	3 (37,5)	1	1
≥ 25 meses	8 (44,4)	5 (62,5)	2,025 (0,287; 17,253)	1,968 (0,259; 17,977)
SMA (Pré Tratamento)				
< 26	10 (55,6)	3 (37,5)	1	1
≥ 26	8 (44,4)	5 (62,5)	2,025 (0,287; 17,253)	1,936 (0,279; 16,130)

(a) Dados expressos em frequência absoluta e porcentagem respectivamente;

(b) OR obtido a partir do modelo ajustado para cada variável independente;

(c) OR obtido a partir do modelo ajustado para cada variável independente e as variáveis de controle.

Tabela 14- Resultados da Regressão Logística para a variável HAI

Variáveis	HAI ^(a)		OR Bruto ^(b) IC (95%)	OR Ajustado ^(c) IC (95%)
	Não Melhora	Melhora		
IMC				
< 25	10 (66,7)	9 (81,8)	1	1
≥ 25	5 (33,3)	2 (18,2)	0,458 (0,035; 3,732)	0,671 (0,041; 10,883)
Uso de álcool				
Não	4 (26,7)	1 (9,1)	1	1
Sim	11 (73,3)	10 (90,9)	3,475 (0,279; 196,658)	1,231 (0,032; ...)
Genótipo HCV				
Não1	3 (20,0)	2 (18,2)	1	1
1	12 (80,0)	9 (81,8)	1,120 (0,104; 16,087)	1,461 (0,017; 125,787)
RNA HCV (24 ^a semana)				
Positivo	8 (88,9)	5 (45,5)	1	1
Negativo	1 (11,1)	6 (54,5)	8,533 (0,707; 495,381)	2,875 (0,265; ...)
Ferro (Pré-Tratamento)				
Ausente	8 (53,3)	7 (63,6)	1	1
I, II ou III	7 (46,7)	4 (36,4)	0,664 (0,097; 4,115)	0,296 (0,004; 5,223)
Esteatose (Pré-Tratamento)				
0	7 (46,7)	3 (27,3)	1	1
1, 2 ou 3	8 (53,3)	8 (72,7)	2,258 (0,345; 18,614)	1,967 (0,093; 46,519)
ALT (Pré-Tratamento)				
< 88	9 (60,0)	4 (36,4)	1	1
≥ 88	6 (40,0)	7 (63,6)	2,526 (0,412; 17,794)	1,038 (0,046; 22,519)
Tempo entre biópsias				
< 41 meses	6 (40,0)	7 (63,6)	1	1
≥ 41 meses	9 (60,0)	4 (36,4)	0,396 (0,056; 2,427)	0,405 (0,058; 2,440)
Tempo entre fim e 2 ^a biópsia				
< 25 meses	7 (46,7)	6 (54,6)	1	1
≥ 25 meses	8 (53,3)	5 (45,4)	0,738 (0,116; 4,482)	0,736 (0,107; 4,786)
HAI (Pré Tratamento)				
Leve	7 (46,7)	0 (0,0)	1	1
Moderada ou Grave	8 (53,3)	11 (100,0)	11,155 (1,408; ...)	10,283 (1,340; ...)

(a) Dados expressos em frequência absoluta e porcentagem respectivamente;

(b) OR obtido a partir do modelo ajustado para cada variável independente;

(c) OR obtido a partir do modelo ajustado para cada variável independente e as variáveis de controle.

5.2.7 Análise da correlação dos parâmetros histológicos avaliados em biópsias hepáticas realizadas após o tratamento em relação aos observados antes do tratamento (razão pós/pré) da hepatite C

Foram verificadas as possíveis correlações entre as razões pós/pré-tratamento dos parâmetros histológicos estudados. Conforme visualizado na Tabela 15, foi observada uma correlação positiva entre todos os índices histológicos analisados ($p < 0,0001$). Na Figura 5 observamos a dispersão das razões histológicas pós/pré-tratamento, mostrando uma evidente correlação.

Tabela 15- Coeficientes de correlação entre os parâmetros histológicos obtidos em biópsias hepáticas realizadas após o tratamento em relação àqueles observados antes do tratamento (razão pós/pré), nos pacientes co-infectados pelo HCV e HIV, Hospital das Clínicas FMRP-UPS, 1999-2005.

Variável	Correlação	p-valor*
CEH α -SMA x HAI	0,933	< 0,0001
Colágeno x Fibrose	0,953	< 0,0001
Colágeno x CEH α -SMA	0,925	< 0,0001
CEH α -SMA x Fibrose	0,922	< 0,0001
HAI X Fibrose	0,896	<0.0001
HAI X Colágeno	0,925	<0.0001

Figura 5. Correlações entre as razões (pós/pré tratamento) dos parâmetros histológicos: (a) CEH α -SMA x HAI; (b) Depósito de colágeno x HAI; (c) Fibrose x HAI; (d) Fibrose x CEH α -SMA; (e) Depósito de colágeno x CEH α -SMA; (f) Fibrose x Depósito de colágeno.

5.2.8 Imagens da histologia hepática de um paciente do estudo

A Figura 6 ilustra as imagens histológicas antes e após o tratamento da hepatite C, onde se observa a melhora nos parâmetros histológicos

avaliados, em um paciente do estudo que apresentou RNA HCV negativo na 24^a semana de tratamento.

Figura 6. Biópsia hepática de um paciente com hepatite C crônica, co-infectado pelo HIV, que apresentou resposta virológica na 24^a semana de tratamento, antes (A) e após (B) o tratamento da hepatite C. Nota-se que houve redução na fibrose (coloração hematoxilina e eosina, 200x) (1A, 1B); no depósito de colágeno (coloração pelo picrosirius, 200x) (2A e 2B) e na presença das células estreladas hepáticas α -SMA-positivas (imunohistoquímica, 400x) (3A e 3B).

6 DISCUSSÃO

6.1 Considerações sobre a população de estudo

Este estudo foi realizado no período de janeiro de 2004 a agosto de 2005, com a população de pacientes com hepatite C crônica co-infectados pelo HIV-1, seguidos no Ambulatório de Hepatites e na Unidade Especial de Terapia de Doenças Infecciosas (UETDI), do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Foram avaliados os prontuários de todos os pacientes co-infectados pelo HCV e HIV que haviam realizado o tratamento para hepatite C desde maio de 1999 até o período de início do estudo. Aqueles que possivelmente preenchiam os critérios de inclusão e exclusão foram chamados para consulta e convidados a participar do estudo.

As principais dificuldades para obtenção de um maior número de pacientes para o estudo foram o grande número de pacientes que não realizaram o tratamento da hepatite C devido a contra-indicações relacionadas com a infecção pelo HIV, principalmente a baixa contagem de linfócitos CD4⁺; interrupção precoce do tratamento da hepatite devido a efeitos colaterais ou abandono de tratamento; falta de concordância em realizar a biópsia hepática controle após o tratamento, principalmente entre os pacientes que haviam apresentado resposta virológica sustentada; e o fato de alguns pacientes não possuírem material da biópsia hepática pré-tratamento armazenada no Laboratório de Patologia.

A dificuldade em incluir pacientes com co-infecção HCV/HIV em protocolos de tratamento da hepatite crônica tem sido relatada na literatura. Segundo o estudo de Fleming *et al.* (2003), 70% de 149 pacientes co-infectados pelo HCV/HIV não foram elegíveis para a realização do tratamento da hepatite C, devido a fatores como má adesão ao seguimento, uso de drogas ou álcool ou a presença de outras doenças em atividade.

Muitos pacientes suspendem precocemente o tratamento da hepatite C pelos efeitos colaterais das drogas utilizadas. Os principais efeitos colaterais incluem sintomas mononucleose-símile, com mialgia, febre, hiporexia; alterações hematológicas como anemia, leucopenia e plaquetopenia; alterações psiquiátricas; distúrbios da função tireoidiana, entre outros. Os pacientes co-infectados, devido ao fato de utilizarem outras medicações que levam à interação com as drogas utilizadas no tratamento da hepatite, tendem a apresentar maior intensidade de efeitos colaterais, principalmente os efeitos hematológicos (SORIANO *et al.*, 2004). Num grande estudo clínico com 859 pacientes co-infectados utilizando peginterferon alfa-2a ou interferon convencional associado ou não à ribavirina, Torriani *et al.* (2004), mostraram que 31,8% dos pacientes suspenderam o tratamento durante o estudo, seja por falta de adesão ao tratamento ou devido a eventos adversos. Seiscentos e vinte pacientes (95,4%) apresentaram algum tipo de evento adverso, sendo que em 18,6% foi considerado sério. No estudo de Laguno *et al.* (2004), 34 (35%) de 95 pacientes co-infectados HCV/HIV em tratamento com peginterferon alfa-2b ou interferon convencional associado à ribavirina descontinuaram o tratamento devido a eventos adversos ou outras razões relacionadas ao paciente.

Foram possíveis de serem incluídos no presente estudo 26 pacientes que preencheram os critérios de inclusão. A população na sua grande maioria foi composta por homens, adultos jovens, da cor branca, com um índice de massa corporal normal, que adquiriram os vírus através do uso de drogas injetáveis. Estas características são semelhantes às encontradas em outros estudos com pacientes co-infectados HCV/HIV (TORRIANI *et al.*, 2004; LAGUNO *et al.*, 2004; MORENO *et al.*, 2004).

O genótipo 1 do HCV foi o responsável pela infecção em 80,8% dos nossos pacientes. A prevalência do genótipo 1 no Brasil é estimada em 64% (FOCACCIA *et al.*, 2004; CAMPIOTTO *et al.*, 2005). Alguns centros apresentam prevalências atípicas, como em Salvador, onde o genótipo 3 foi o mais prevalente (53,3%) seguido pelo genótipo 1 (40%) em estudo de Zarife *et al.* (2005). Sabendo que o genótipo 1 do HCV é um importante preditor de resposta à terapêutica da hepatite C (MONDELI; SILINI, 1999), a nossa população de estudo se caracteriza como menos propensa a responder ao tratamento.

Em nosso estudo a infecção pelo HIV encontrava-se estabilizada em todos os pacientes, sendo que a maioria nunca havia apresentado doenças oportunistas. Apresentavam, na época do tratamento da hepatite C, contagem média de linfócitos CD4⁺ de 687/mm³ e o RNA quantitativo do HIV estava abaixo de 50 cópias/mL em 41,7% dos pacientes. Cerca de 85% dos pacientes estavam em uso de medicações anti-retrovirais durante a terapêutica da hepatite C. Essa condição de estabilidade da infecção pelo HIV representa uma condição importante para o tratamento da hepatite C, sendo esses critérios semelhantes a

outros estudos onde grande parte dos pacientes encontrava em terapia anti-retroviral (MORENO *et al.*, 2004; LAGUNO *et al.*, 2004; RULLIER *et al.*, 2004).

Os pacientes também apresentavam estabilidade da doença hepática, com função preservada quando avaliada pela dosagem de albumina, INR e contagem de plaquetas.

Verificamos, portanto, tratar-se de uma população bastante selecionada, estável, tanto do ponto de vista da infecção pelo HIV quanto do HCV. Essas características da população do estudo poderiam influenciar de forma positiva os resultados do tratamento (TEDALDI *et al.*, 2003; TURAL *et al.*, 2003).

6.2 Considerações sobre o esquema terapêutico utilizado no tratamento da hepatite C

A terapêutica utilizada para o tratamento da hepatite C seguiu as recomendações do Ministério da Saúde do Brasil, segundo Portaria em vigor no período do estudo (BRASIL, 2002). A maioria dos pacientes foi tratada com interferon-alfa associado à ribavirina. Como o estudo incluiu pacientes que receberam tratamento para hepatite C desde 1999, 2 pacientes (7,7%) receberam monoterapia com interferon-alfa. Poucos pacientes fizeram uso de interferon peguilado (23,1%), visto que essa medicação tornou-se disponível em nosso Serviço a partir de 2003. O tempo de tratamento foi variável de acordo com a resposta virológica na 24ª semana, porém a maioria recebeu tratamento por mais de 24 semanas. O tempo mínimo de tratamento para o paciente ser admitido no estudo foi estipulado em 16 semanas.

6.3 Avaliação virológica durante o tratamento da hepatite

A taxa de resposta virológica sustentada (RNA do HCV negativo após 6 meses do término do tratamento) obtida com o tratamento dos pacientes co-infectados com HIV se apresenta em taxas variáveis, de acordo com a população estudada, com o genótipo predominante do HCV, com a carga viral do HCV e com a terapêutica empregada. O Estudo APRICOT (TORRIANI *et al.*, 2004) obteve RVS em 7% do grupo de pacientes com genótipo 1 que utilizaram interferon-alfa e ribavirina, assim como o Estudo RIBAVIC (CARRAT *et al.*, 2004) obteve taxa de 5% utilizando também o interferon convencional. Considerando-se todos os genótipos em conjunto a taxa de RVS foi de 12% e 19%, respectivamente.

No estudo de Laguno *et al.* (2004) foi utilizado interferon-alfa e ribavirina num grupo de pacientes co-infectados e obtiveram 7% de resposta no grupo com genótipo 1 ou 4 e 21% no total de pacientes. Em nosso estudo, apesar do número pequeno de pacientes para comparação, obtivemos uma taxa de RVS de 20%. Como a maioria dos pacientes são portadores do HCV genótipo 1 (80,8%) e fizeram uso de interferon-alfa isolado ou associado à ribavirina, esta taxa de RVS de 20%, apesar de baixa, não difere muito da literatura. Na avaliação da 24ª semana de tratamento, 35% dos pacientes obtiveram resposta virológica considerada satisfatória.

6.4 Considerações sobre a histologia hepática

6.4.1 Análise das biópsias hepáticas

6.4.1.1 Análise histológica basal

A análise histológica das biópsias realizadas antes do tratamento da hepatite C mostrou que a quase totalidade dos pacientes (96,1%) apresentavam fibrose leve ou moderada, com apenas um paciente com fibrose grave e nenhum com cirrose, segundo a classificação de Knodell *et al.* (1981), modificada por Desmet *et al.* (1994). Verificamos que 65,5% dos pacientes apresentavam hepatite moderada (score 9-12), com a mediana do HAI de 9,5. Muitos estudos têm demonstrado maior grau de fibrose em pacientes co-infectados HCV/HIV em relação aos mono-infectados pelo HIV (MARTINEZ-SIERRA *et al.*, 2003; MAYERS *et al.*, 2004; MOHSEN *et al.*, 2003; RULIER *et al.*, 2004). Por outro lado, outros estudos não demonstraram diferenças entre os mono-infectados e os co-infectados com HIV (Di MARTINO *et al.*, 2002; LAGUNO *et al.*, 2004; MORENO *et al.*, 2004; TORRIANI *et al.*, 2004). Estudos mais recentes com pacientes co-infectados, em uso de terapia anti-retroviral de alta potência, evidenciaram que essa terapia pode representar um efeito protetor sobre a evolução da fibrose hepática (BENHAMOU *et al.*, 2001; TURAL *et al.*, 2003).

No presente estudo foram encontrados depósitos de ferro no fígado em 42,3% dos pacientes, na maioria de leve intensidade. Alguns estudos mostram associação do grau de depósito de ferro no tecido hepático com a fibrose e a gravidade da lesão nos pacientes mono-infectados com HCV

(RIGAMONTI *et al.*, 2002; MARTINELLI; RAMALHO; ZUCOLOTO, 2004; SEBASTIANI *et al.*, 2006).

A esteatose hepática foi evidenciada em 61,5% dos pacientes da nossa casuística, a maioria em graus leve e moderado, sendo um achado comum nos pacientes com hepatite C (PATTON *et al.*, 2004; SEBASTIANI *et al.*, 2006). Com o objetivo de avaliar a prevalência e severidade da esteatose nos pacientes co-infectados pelo HCV e HIV, Gaslightwala e Pini (2006) estudaram as biópsias hepáticas de 154 pacientes co-infectados e 554 mono-infectados pelo HCV e verificaram que a esteatose de qualquer grau e de grau 2 ou 3 foi significativamente mais comum nos pacientes co-infectados. Isso sugere que além da esteatose ser mais prevalente nos pacientes co-infectados, ela apresenta também maior grau de severidade. Verificaram através de análise univariada que a obesidade, diabetes, hipertrigliceridemia, baixa contagem de linfócitos CD4⁺ e duração de terapia anti-retroviral maior que 4 anos foram fatores associados com a esteatose. Na análise multivariada somente a hipertrigliceridemia e duração de terapia anti-retroviral maior que 4 anos foram fatores preditores independentes para esteatose. Observaram também que o grau de esteatose foi fortemente correlacionado com a gravidade da fibrose nos pacientes co-infectados.

O depósito de colágeno no tecido hepático foi avaliado neste estudo através da análise semi-quantitativa, após coloração pelo picrosírius, detectando-se uma mediana de 30% de pontos corados pelo picrosírius nas amostras analisadas (Tabela 5). Essa técnica foi empregada por Brandão (2005) no estudo da fibrose hepática em pacientes com hepatite auto-imune. O colágeno pode também ser quantificado, após coloração pelo picrosírius, utilizando-se um

sistema de análise de imagem automatizado, onde se faz uma avaliação morfológica da fibrose hepática. Esta metodologia foi utilizada por Duchatelle *et al.* (1998) na análise da fibrose hepática em pacientes com hepatite C crônica, onde evidenciaram uma associação significativa entre o colágeno total e a fibrose de acordo com a classificação de Knodell.

A participação das células estreladas hepáticas na patogênese da fibrose hepática tem sido documentada. Em condições patológicas, como nas hepatites virais, essas células, quiescentes, passam por um complexo mecanismo de ativação, diferenciando-se em células com características de miofibroblastos. Neste momento elas perdem os retinóides, proliferam vigorosamente, passam a ter capacidade de contrair, produzir citocinas e atrair leucócitos. Elas passam a produzir grande quantidade de componentes da matriz extracelular, que se torna reticulada, densa, e mais resistente à degradação enzimática, aumentando assim a capacidade de progressão da fibrose hepática (MARCELLIN; ASSELAM; BOYER, 2002; MAK; LEO; LIEBER, 1984). Nesse processo de diferenciação essas células passam a expressar alguns marcadores, entre eles a α -actina de músculo liso (α -SMA), o que as tornam identificáveis por método imunohistoquímico.

No presente estudo as células estreladas hepáticas α -SMA positivas foram quantificadas, mostrando uma grande variabilidade entre os pacientes estudados (variação de 7 a 37 CEH α -SMA positivas por campo), conforme visualizado na Figura 1.

6.4.1.2 Análise comparativa das biópsias pré e pós-tratamento

Alguns estudos sugerem que o interferon-alfa pode ter propriedades anti-fibrogênicas em animais experimentais e em humanos (CASTILLA; PRIETO; FAUSTO, 1991; HIRAMATSU *et al.*, 1995; JIMENEZ; FREUNDLICH; ROSENBLOOM, 1984), porém o tipo de resposta histológica, nos pacientes com hepatite C crônica, é bastante controverso, assim como os possíveis fatores que contribuem para essas alterações. Um grande questionamento neste assunto seria como se comporta a histologia hepática naqueles pacientes que não obtiveram resposta virológica ao INF. Pensando-se que a severidade da inflamação parece ser um fator importante que leva à cirrose, qualquer redução na inflamação hepática poderia potencialmente retardar a progressão da fibrose.

Diante disso, com o objetivo de avaliar a evolução da histologia hepática, nos pacientes com hepatite C crônica co-infectados pelo HIV, comparamos alguns parâmetros histológicos em biópsias realizadas após o tratamento da hepatite C com aqueles obtidos pré-tratamento. Verificamos que, considerando-se de um modo global todos os pacientes, não houve diferenças significativas em relação à fibrose, ao HAI, ao depósito de colágeno e ao número de CEH α -SMA positivas nas biópsias obtidas após a interrupção ou término do tratamento da hepatite C, comparadas com a análise das biópsias pré-tratamento (Tabela 5).

A maioria dos estudos que analisaram as mudanças histológicas nas biópsias pareadas de acordo com a resposta bioquímica ou virológica obtida com o tratamento da hepatite C foram realizados em pacientes mono-infectados.

Os critérios para definição de respondedores ao tratamento não são homogêneos nesses estudos, assim como há grande diversidade quanto ao melhor momento de se fazer a biópsia para a análise comparativa. De forma geral, a proporção de pacientes que obtiveram resposta virológica foi relacionada somente com eficácia da terapêutica antiviral. Vários estudos demonstram melhora dos parâmetros histológicos, inclusive com regressão da cirrose (POYNARD *et al.*, 2002), após o tratamento nos pacientes com resposta virológica sustentada. A análise da evolução histológica nos pacientes sem resposta virológica permanece controversa, com resultados conflitantes, como verificamos em alguns estudos descritos a seguir.

Guido *et al.* (1996) avaliaram comparativamente biópsias pré-tratamento e 12 meses após o término do tratamento em 44 pacientes com hepatite crônica (20 com hepatite C). Verificaram uma melhora significativa do HAI e não observaram mudanças no grau de fibrose. Neste grupo, 16 dos 20 pacientes com hepatite C foram considerados respondedores clínicos, com base apenas no critério de manutenção da ALT dentro dos limites normais até 12 meses após suspensão da terapia. Observaram também uma diminuição no número de CEH α -SMA positivas nas biópsias controles, sendo esta melhora correlacionada com a melhora do HAI, mas sem correlação com a resposta clínica. Da mesma forma, Duchatelle *et al.* (1998) observaram diminuição da necroinflamação e nenhuma mudança na fibrose. Esses autores observaram diminuição no colágeno do espaço de Disse, através de quantificação por método morfométrico, no final do tratamento e 6 meses após o tratamento. Este efeito foi semelhante nos respondedores e não respondedores. Isto sugeria, segundo os

autores, que o efeito antifibrótico do interferon parecia ser independente de parâmetros bioquímicos ou virológicos.

Da mesma forma, Sakaida *et al.* (1999) estudaram biopsias pareadas em 51 pacientes com hepatite C crônica submetidos ao tratamento com INF-alfa. Verificaram que somente no grupo com resposta completa (definido como ALT normal e RNA HCV negativo 6 meses após o término do tratamento), houve melhora dos parâmetros avaliados, que foram a dosagem de ALT, grau de fibrose, número de CEH α -SMA positivas e o HAI. Eles observaram também um grande número de CEH α -SMA fortemente positivas, que diminuiu após o tratamento, principalmente no grupo respondedor, o que leva os autores a sugerir que as CEH α -SMA eram as responsáveis pela fibrose.

Também com o objetivo de avaliar a resposta histológica após o tratamento da hepatite C, Leroy *et al.* (2001) estudaram 183 pacientes, dos quais 13% obtiveram resposta virológica sustentada. Foi observada importante diminuição da inflamação e diminuição leve da fibrose nos pacientes com RVS, ao passo que não observaram resposta histológica nos pacientes não-respondedores, recidivantes ou no grupo-controle. No grupo não respondedor, 25% tiveram uma diminuição de 1 ponto de atividade pelo METAVIR na biópsia-controle, porém foi semelhante ao encontrado no grupo-controle (23%).

Shifman *et al.* (1997) reportaram melhora histológica em não-respondedores ao tratamento da hepatite C, e observaram que a redução na inflamação hepática foi diretamente relacionada com o nível sérico do RNA HCV durante o tratamento, inferindo que a redução na carga viral, mesmo na ausência de RVS, estava associada à redução da inflamação hepática. Do mesmo modo,

Toccaceli *et al.* (2003) e Abergel *et al.* (2004), em trabalhos distintos, observaram que os pacientes tratados com INF, mesmo os recidivantes, não apresentaram progressão do dano histológico, que usualmente ocorre nos pacientes com hepatite C não tratados. Everson *et al.* (2004) avaliando pacientes com fibrose avançada ou cirrose, observaram melhora da inflamação e fibrose em todos os pacientes tratados com IFN peguilado, sendo essa melhora moderada naqueles que tiveram recidiva virológica ou não resposta ao tratamento.

Os dados de evolução histológica em biópsias de pacientes co-infectados pelo HCV e HIV são escassos. Diversos estudos mostram que os pacientes com hepatite C crônica, co-infectados pelo HIV, apresentam maior grau de inflamação e de fibrose hepática em relação aos mono-infectados pelo HCV (MARTINEZ-SIERRA *et al.*, 2003; MOHSEN *et al.*, 2003; RULLIER *et al.*, 2004; TORRES, 2004). Por outro lado, Di Martino *et al.*, (2002) não demonstraram diferenças no grau de fibrose entre os mono-infectados e os co-infectados com HIV. Verificaram resposta histológica semelhante entre os grupos infectados pelo HIV e os não-infectados, definida como diminuição de 2 ou mais pontos no score da classificação de Knodell. Verificaram, inclusive, melhora da histologia hepática em 25% dos não-respondedores ao tratamento, independentemente do estado sorológico do HIV.

Boldorini *et al.* (1997), estudando pacientes co-infectados pelo HCV e HIV, verificaram que, em média, os índices de fibrose (Knodell) e inflamação portal mantiveram-se nas biópsias realizadas 18 meses após o tratamento da hepatite C, quando comparados com o pré-tratamento, porém houve estabilização da fibrose nesses pacientes.

No estudo APRICOT, Lissen *et al.* (2004) avaliaram 401 pacientes co-infectados com biópsia pré-tratamento e uma controle 56 dias pós-tratamento da hepatite. Definiram como melhora histológica a diminuição de 2 ou mais pontos no score HAI ISHAK modificado. Verificaram melhora histológica em 41% dos pacientes que fizeram uso de interferon alfa e ribavirina e em 57% dos que utilizaram interferon peguilado alfa-2a e ribavirina. Não observaram alteração da fibrose. Verificaram que a resposta histológica foi correlacionada com a resposta virológica, porém num número substancial de pacientes que não apresentaram resposta virológica sustentada houve melhora da histologia hepática.

Em nosso estudo, quando avaliamos os pacientes tratados individualmente, verificamos uma melhora do grau de fibrose (diminuição de pelo menos 1 ponto) em 23,1% e da inflamação (diminuição de 1 ponto) em 19,2%. Quando consideramos resposta histológica como a manutenção ou melhora dos índices avaliados, verificamos resposta em 57,5% com relação à fibrose e 43,3% com relação à inflamação.

Como descrito anteriormente, obtivemos RVS em apenas 20% dos pacientes do nosso estudo, e devido ao número pequeno da amostra, não nos foi possível analisar a resposta histológica em função da RVS. Dessa forma, procuramos analisar a evolução dos parâmetros histológicos com a resposta virológica observada na 24^a semana de tratamento. Verificamos que houve redução dos valores numéricos da relação pós/pré tratamento dos parâmetros histológicos fibrose, HAI, depósito de colágeno e número de células α -SMA positivas, nos pacientes que obtiveram resposta virológica na 24^a semana de tratamento da hepatite. É interessante ressaltar que essa melhora histológica foi

observada tanto nos quatro pacientes que apresentaram RVS como também nos três pacientes que não sustentaram a resposta virológica obtida na 24^a semana (Tabela 8).

Apesar do pequeno número de pacientes avaliados, nossos resultados são sugestivos de que o tratamento da hepatite C pode modificar a história natural da evolução da hepatite crônica nos pacientes co-infectados pelo HIV. O efeito benéfico desse tratamento parece estar relacionado com a negatificação da viremia do HCV durante o tratamento e se acompanha de melhora da inflamação e fibrose num número considerável de pacientes, assim como diminuição da intensidade do depósito de colágeno e diminuição do estado de ativação das células estreladas hepáticas. No entanto, os efeitos dessa melhora histológica a longo prazo precisam ser melhor avaliados.

6.4.2 Influência da duração do tratamento da hepatite C sobre as modificações da histologia hepática

Verificamos, numa avaliação global (Tabela 9), que os parâmetros histológicos, fibrose, HAI e depósito de colágeno, foram semelhantes nos grupos que realizaram tratamento para hepatite C por tempo inferior ou igual a 24 semanas e naqueles que trataram por mais de 24 semanas. Somente o número de CEH α -SMA diminuiu de forma significativa naqueles que receberam tratamento para hepatite C por mais de 24 semanas. Porém, quando avaliamos individualmente (Figura 3), uma grande parcela de pacientes tiveram seus parâmetros histológicos melhorados na biópsia pós-tratamento, quando tratados por mais de 24 semanas. Devemos levar em consideração que os pacientes que

obtiveram resposta virológica na 24ª semana de tratamento estão concentrados no grupo que tratou mais de 24 semanas; portanto, a análise da duração da terapêutica sobre a resposta histológica sofre influência da resposta virológica.

Shiffman *et al* (1999) verificaram que o uso do interferon por um tempo mais prolongado nos pacientes que não tiveram resposta virológica ao final do tratamento foi relacionado com uma redução da fibrose após 2 anos de tratamento, sugerindo que o tratamento a longo prazo poderia ser capaz de diminuir a progressão da fibrose nos pacientes não-respondedores. Encontra-se em andamento um estudo com um grande número de pacientes com hepatite C crônica, que acompanhará pacientes sem resposta virológica ao tratamento preconizado fazendo uso de interferon isolado por 4 anos, os quais serão comparados com o grupo-controle que suspendeu o tratamento quando não obteve resposta virológica. Serão realizadas biópsias hepáticas controles com 2 e 4 anos após o tratamento, o que contribuirá para o melhor entendimento do papel do interferon na resposta histológica (LEE *et al.*, 2004).

6.4.3 Época de realização da biópsia hepática-controle e as modificações histológicas

O grupo como um todo teve sua biópsia-controle realizada em média 25,2 meses após a interrupção ou término da terapêutica e 41,5 meses após a biópsia hepática inicial. Esse intervalo de tempo para realização da biópsia-controle, em relação ao final do tratamento, é bastante variado na literatura, sendo verificados intervalos de 6, 12 e 18 meses (DUCHATELLE *et al.*, 1998); 6 meses (LEROY *et al.*, 2001); 18 meses (BOLDORINI *et al.*, 1997;

SAKAIDA *et al.*, 1999); 23 meses (Di MARTINO *et al.*, 2002) e 25,2 meses em nosso estudo.

Verificamos que a evolução dos parâmetros histológicos (fibrose, HAI, depósito de colágeno e número de CEH α -SMA positivas) foi semelhante no grupo cujo intervalo de tempo entre o final da terapêutica e a biópsia-controle foi igual ou inferior a 24 meses ao grupo que teve este intervalo maior que 24 meses. O momento em que foi realizada a biópsia-controle, em nosso estudo, não representou um fator de influência nos achados histológicos.

Contrariamente ao observado em nosso estudo, Toccaceli *et al.* (2003), avaliaram pacientes com hepatite C crônica que tiveram resposta ao tratamento com interferon, com biópsias realizadas em diferentes tempos (média de 29,5 meses após o final do tratamento) e relacionaram os parâmetros histológicos com grupos que fizeram a biópsia no período de 12 a 23 meses, 24 a 35 meses e 36 meses ou mais. Foi verificada uma diminuição mais pronunciada da necroinflamação e da fibrose no grupo de pacientes que realizaram a biópsia num tempo superior a 36 meses. Os autores concluem que a regressão do dano hepático induzido pelo INF pode ser mais bem apreciado em biópsias hepáticas realizadas num tempo superior a 36 meses após o término da terapia para hepatite C.

Da mesma forma, Bruno *et al.* (2001) avaliaram um grupo de pacientes com biópsias hepáticas controles, realizadas 6-12 meses e 48-72 meses após o tratamento, e na análise seqüencial verificaram uma melhora da histologia, em pacientes virêmicos e não virêmicos, melhor evidenciada nas biópsias realizadas mais tardiamente.

6.4.4 Influência de variáveis preditivas de resposta ao tratamento sobre as modificações histológicas

Existem diversos estudos analisando os fatores associados com a resposta virológica ao tratamento da hepatite C. Alguns fatores mostraram ser preditores independentes de resposta sustentada, como o genótipo 2 ou 3, baixa carga viral do HCV, ausência de fibrose ou somente fibrose portal, sexo feminino e idade abaixo de 40 anos (POYNARD *et al.*, 2000; LEE *et al.*, 2002). Posteriormente foi demonstrado que o índice de massa corporal influenciava a análise com relação ao sexo (MANNS *et al.*, 2001). Fatores preditivos adicionais de resposta relacionados com o HIV incluem a contagem de linfócitos T CD4⁺ maior que 500/mm³, RNA HIV plasmático menor que 10.000 cópias/ml e ausência de uso de álcool (SORIANO *et al.*, 1996).

Por outro lado a análise de fatores relacionados com a resposta histológica ou com a progressão da cirrose, principalmente nos pacientes co-infectados pelo HIV, é escassa. Martin-Carbonero *et al.* (2004), estudando pacientes com hepatite C co-infectados pelo HIV, detectaram através de análise de regressão logística multivariada, que, sexo masculino, alta ingestão de álcool, idade superior a 35 anos e contagem de linfócitos T CD4⁺ menor que 500/mm³ foram fatores associados com fibrose hepática mais grave. Martinez-Sierra *et al.* (2003) identificaram a alta carga viral do HCV e a baixa quantificação de linfócitos T CD4⁺ como fatores associados com taxa de progressão para fibrose mais elevada.

O acúmulo de ferro no tecido hepático pode piorar a evolução da fibrose. Existem estudos mostrando relação entre a variação do ferro no tecido

hepático com o número de células estreladas em fígado de pacientes com hepatite C crônica. Os autores concluem que o depósito de ferro, mesmo que moderado, na hepatopatia crônica pelo vírus C, é bastante comum e é associado com ativação das células estreladas, contribuindo para o dano hepático (RIGAMONTI *et al.*, 2002; MARTINELLI; RAMALHO; ZUCOLOTO, 2004).

A esteatose representa outro co-fator para progressão da fibrose hepática em pacientes com hepatite C. Ela é mais prevalente em pacientes com genótipo 3 do HCV e é vista uma associação direta entre esteatose e fibrose e sem relação com inflamação. Um mecanismo possível, não inflamatório, para a fibrose, seria peroxidação lipídica que levaria à ativação de células estreladas e subsequente deposição de colágeno (PATTON *et al.*, 2004).

Levando em consideração estas possíveis variáveis de progressão de fibrose, analisamos em nosso estudo, através de regressão logística, a relação de algumas variáveis (uso de álcool, genótipo do HCV, IMC, resultado do RNA HCV na 24^a semana de tratamento, valores basais de ferro hepático, esteatose e o valor da ALT) com a melhora ou não dos parâmetros histológicos (HAI, fibrose, depósito de colágeno e CEH α -SMA). Fixamos como variáveis de controle a idade, o intervalo de tempo entre as biópsias, os intervalos de tempo entre o final do tratamento e a biópsia-controle e o valor inicial de cada variável-resposta. Nessa análise, verificamos que houve associação apenas do RNA HCV na 24^a semana de tratamento com a melhora dos parâmetros histológicos fibrose, depósito de colágeno e CEH α -SMA. Quando se faz o ajuste pelas variáveis de controle, não se verifica esta relação, podendo-se supor que alguma variável de controle pode, direta ou indiretamente, estar influenciando a

análise. Por outro lado, a análise pode ter sido prejudicada devido ao número pequeno da amostra, que se reflete em intervalos de confiança grandes.

6.4.5 Correlação dos parâmetros histológicos entre si

Avaliamos em nosso estudo parâmetros histológicos que podiam estimar o grau de comprometimento hepático pela infecção pelo vírus da hepatite C, assim como a evolução dos mesmos após a terapêutica com INF. Foram avaliados a atividade da doença através do índice de atividade histológica (HAI), o estadiamento da doença por meio do grau de fibrose, a intensidade do depósito de colágeno através da coloração pelo picrosirius e o estado de ativação das células estreladas através da quantificação das CEH α -SMA positivas. A relação pós/pré-tratamento destes parâmetros histológicos foi correlacionada entre si.

Verificamos que todas as associações realizadas foram estatisticamente significantes. Da mesma forma Sakaida *et al.* (1999) obtiveram correlação dos parâmetros da biópsia inicial, isto é, a fibrose com o índice α -SMA e com o HAI, assim como o HAI com o índice α -SMA. Verificaram também que a mudança no índice α -SMA após o tratamento da hepatite C, foi significativamente correlacionado com a fibrose, tanto no grupo com resposta virológica quanto naqueles não respondedores. Guido *et al.* (1996) também observaram que a diminuição das CEH após o tratamento foi correlacionada com a melhora do HAI.

A concordância dos parâmetros histológicos em nosso estudo pode indicar uma boa consistência dos resultados obtidos.

7 CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo são sugestivos de que o tratamento da hepatite C pode modificar a história natural da evolução da hepatite crônica nos pacientes co-infectados pelo HIV. Foi verificado que todos os parâmetros histológicos avaliados (fibrose, HAI, intensidade do depósito de colágeno, estado de ativação das células estreladas hepáticas) melhoraram no grupo de pacientes que apresentou resposta virológica na 24ª semana de tratamento da hepatite C. Assim, esse efeito benéfico do tratamento parece se relacionar com o controle da viremia do HCV durante o tratamento e se verifica também em pacientes que não sustentaram a resposta virológica após a suspensão dos medicamentos.

Os pacientes, quando avaliados em conjunto, tiveram seus parâmetros histológicos, nas biópsias pré e pós-tratamento, com valores semelhantes. Porém, quando analisados individualmente, verificou-se que uma substancial parcela da população estudada apresentou melhora histológica.

Não foram observadas diferenças importantes dos parâmetros histológicos analisados nas duas biópsias hepáticas em relação à duração do tratamento da hepatite C, ou em relação ao intervalo de tempo entre elas.

A análise da influência de algumas variáveis preditivas de resposta ao tratamento sobre as modificações histológicas demonstrou que apenas a negatividade da detecção do RNA do HCV, na 24ª semana de tratamento, se associou com a melhora histológica.

Houve correlação entre as razões pós/pré-tratamento de todos os parâmetros histológicos estudados entre si, evidenciando uma boa concordância entre eles, o que pode indicar uma boa consistência dos resultados obtidos.

REFERÊNCIAS*

ABERGEL, A.; DARCHA, C.; CHEVALLIER, M.; UGHETTO, S.; HENQUELL, C.; POL, S.; DE LEDINGHEN, V.; CANVA, V.; BRONOWICKI, J.P.; TRAN, AL; MARTINEAU, N.; LAFEUILLE, H.; DECHELOTTE, P.; BOMMELAER, G.; BONNY, C. French Multicentre Study Group. Histological response in patients treated by interferon plus ribavirin for hepatitis C virus-related severe fibrosis. **Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.**, England, v. 16, n. 11, p. 1219-1227, 2004.

AFDHAL, N.H. The Natural History of hepatitis C. **Semin. Liver Dis.**, New York, v. 24, p. 3-8, 2004. Supplement 2.

ALTER, H.J. Discovery of the non-A, non-B hepatitis virus: the end of the beginning or the beginning of the end. **Transfus. Med. Rev.**, Orlando, v. 3, n. 2, p. 77-81, 1989.

ALTER, M.J.; KRUZON-MORAN, D.; NAINAN, O.V.; McQUILLAN, G.M.; GAO, F.; MOYER, L.A.; KASLOW, R.A.; MARGOLIS, H.S. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 341, n. 8, p. 556-562, 1999.

ANGELUCCI, E.; MURETTO, P.; NICOLUCCI, A.; BARONCIANI, D.; ERER, B.; GAZIEV, J.; RIPALTI, M.; SODANI, P.; TOMASSONI, S.; VISANI, G.; LUCARELLI, G. Effects of iron overload and hepatitis C virus positivity in determining progression of liver fibrosis in thalassemia following bone marrow transplantation. **Blood**, Washington, v. 100, n. 1, p. 17-21, 2002.

BARONI, G.S.; D AMBROSIO, L.; CURTO, P.; CASINI, A.; MANCINI, R.; JEZEQUEL, A.M.; BENEDETTI, A. Interferon gamma decreases hepatic stellate cell activation and extracellular matrix deposition in rat liver fibrosis. **Hepatology**, Baltimore, v. 23, n. 5, p. 1189-1199, 1996.

---

* De acordo com:
ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BENHAMOU, Y.; BOCHET, M.; DI MARTINO, V.; CHARLOTTE, F.; AZRIA, F.; COUTELLIER, A.; VIDAUD, M.; BRICAIRE, F.; OPOLON, P.; KATLAMA, C.; POYNARD, T. Liver fibrosis progression in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus coinfecting patients. **Hepatology**, Baltimore, v. 30, n. 4, p. 1054-1058, 1999.

BENHAMOU, Y.; DI MARTINO, V.; BOCHET, M.; COLOMBET, G.; THIBAUT, V.; LIOU, A.; KATLAMA, C.; POYNARD, T. Factors affecting liver fibrosis in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus-coinfecting patients: impact of protease inhibitor therapy. **Hepatology**, Baltimore, v. 34, n. 2, p. 283-287, 2001.

BICA, L.; MCGOVERN, B.; DHAR, R.; STONE, D.; MCGOWAN, K.; SCHEIB, R.; SNYDMAN, D.R. Increasing mortality due to end-stage liver disease in patients with human immunodeficiency virus infection. **Clin. Infect. Dis.**, Chicago, v. 32, n. 3, p. 493-497, 2001.

BOLDORIN, R.; VIGANO, P.; MONGA, G.; NEBULONI, M.; CARGNEL, A.; GUBERTINI, G.; MIGIARETTI, G.; CONSTANZI, G. Hepatic histology of patients with HIV infection and chronic hepatitis C treated with interferon. **J. Clin. Pathol.**, London, v. 50, n. 9, p. 735-740, 1997.

BONACINI, M.; PUOTI, M. Hepatitis C in patients with human immunodeficiency virus infection: diagnosis, natural history, meta-analysis of sexual and vertical transmission, and therapeutic issues. **Arch. Intern. Med.**, Chicago, v. 160, n. 22, p. 3363-3373, 2000.

BRANDÃO, D.F. Relações entre plasmócitos e células estreladas hepáticas na hepatite auto-imune. 2005. 61p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2005.

BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Assistência. Protocolo de Tratamento da Hepatite C. Diário Oficial. Brasília, DF, 8 novembro 2002.

BRUNO, S.; BATTEZZATI, P.M.; BELLATI, G.; MANZIN, A.; MAGGIONI, M.; CROSIGNANI, A.; BORZIO, A.; SOLFOROSI, L.; MORABITO, A.; IDEO, G.; PODDA, M. Long-term beneficial effects in sustained responders to interferon-alfa therapy for chronic hepatitis C. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 34, n. 5, p. 748-755, 2001.

CAMPIOTTO, S.; PINHO, J.R.; CARRILHO, F.J.; DA SILVA, L.C.; SOUTO, F.J.; SPINELLI, V.; PEREIRA, L.M.; COELHO, H.S.; SILVA, A.O.; FONSECA, J.C.; ROSA, H.; LACET, C.M.; BERNARDINI, A.P. Geographic distribution of hepatitis C virus genotypes in Brazil. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, São Paulo, v. 38, n. 1, p. 41-49, 2005.

CARRAT, F.; BANI-SADR, F.; POL, S.; ROSENTHAL, E.; LUNEL-FABIANI, F.; BENZEKRI, A.; MORAND, P.; GOJJARD, C.; PIALOUX, G.; PIROTH, L.; SALMON-CERON, D.; DEGOTT, C.; CACOUB, P.; PERRONNE, C. Pegylated interferon alfa-2b vs standard interferon alfa-2b, plus ribavirin, for chronic hepatitis C in HIV-infected patients: a randomized controlled trial. **JAMA**, Chicago, v. 292, n. 23, p. 2839-2848, 2004.

CASTILLA, A.; PRIETO, J.; FAUSTO, N. Transforming growth factors beta 1 and alpha in chronic liver disease. Effects of interferon alfa therapy. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 324, n. 14, p. 933-940, 1991.

CENTERS FOR DISEASES CONTROL AND PREVENTION (CDC). Revised Classification system for HIV infection and expanded surveillance definition for AIDS among adolescents and adults. **JAMA**, Chicago, v. 269, n. 6, p. 729-730, 1993.

CENTERS FOR DISEASES CONTROL AND PREVENTION (CDC). Recommendations for prevention and control of hepatitis C (HCV) infection and HCV-related disease. **MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.**, Atlanta, v. 47, p. 1-40, 1998.

CHUNG, R.T.; EVANS, S.R.; YANG, Y.; THEODORE, D.; VALDEZ, H.; CLARK, R.; SHIKUMA, C.; NEVIN, T.; SHERMAN, K.E. Immune recovery is associated with persistent rise in hepatitis C virus RNA, infrequent liver test flares, and is not impaired by hepatitis C virus in co-infected subjects. **AIDS**, London, v. 16, n. 14, p. 1915-1923, 2002.

DESMET, V.J.; GERBER, M.; HOOFNAGLE, J.H.; MANNS, M.; SCHEUR, P.J. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. **Hepatology**, Baltimore, v. 19, n. 6, p. 1513-1520, 1994.

DI MARTINO, V.; THEVENOT, T.; BOYER, N.; CAZALS-HATEM, D.; DEGOTT, C.; VALLA, D.; MARCELIN, P. HIV coinfection does not compromise liver histological response to interferon therapy in patients with chronic hepatitis C. **AIDS**, London, v. 16, n. 3, p. 441-445, 2002.

DUCHATELLE, V.; MARCELLIN, P.; GIOSTRA, E.; BREGEAUD, L.; POUTEAU, M.; BOYER, N.; AUPERIN, A.; GUERRET, S.; ERLINGER, S.; HENIN, D.; DEGOTT, C. Changes in liver fibrosis at the end of alpha interferon therapy and 6 to 18 months later in patients with chronic hepatitis C: quantitative assessment by a morphometric method. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 29, n. 1, p. 20-28, 1998.

EVERSON, G.; PAPPAS, S.C.; GOVINDARAJAN, S.; LENTZ, E.; LOPEZ-TALAVERA, J.C. Histologic benefit of peginterferon alfa-2a (40KD) (Pegasys) monotherapy in patients with advanced fibrosis or cirrhosis due to chronic hepatitis C. In: ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LIVER DISEASES (AASLD), 55., 2004, Boston. Abstract 351.

EYSTER, M.E.; FRIED, M.W.; Di BISCEGLIE, A.M.; GOEDERT, J.J. Increasing hepatitis C virus RNA levels in hemophiliacs: relationship to human immunodeficiency virus infection and liver disease. **Blood**, Washington, v. 84, n. 4, p. 1020-1023, 1994.

FATTOVICH, G.; GIUSTINA, G.; DEGOS, F.; TREMOLADA, F.; DIODATI, G.; ALMASIO, P.; NEVENS, F.; SALINAS, A.; MURA, D.; BROWUER, J.T.; THOMAS, H.; NJAPOUM, C.; CASARIN, C.; BONETTI, P.; FUSCHI, P.; BASHO, J.; TOCCO, A.; BHALLA, A.; GALASSINI, R.; NOVENTA, F.; SCHALM, S.W.; REALDI, G. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: a retrospective follow-up study of 384 patients. **Gastroenterology**, Baltimore, v. 112, p. 463-472, 1997.

FLEMING, C.A.; CRAVEN, D.E.; THORNTON, D.; TUMILTY, S.; NUNES, D. Hepatitis C virus and human immunodeficiency virus coinfection in an urban population: low eligibility for interferon treatment. **Clin. Infect. Dis.**, Chicago, v. 36, n. 1, p. 97-100, 2003.

FLEMING, C.A.; TUMILTY, S.; MURRAY, J.E.; NUNES, D. Challenges in the treatment of patients coinfecting with HIV and hepatitis C virus: need for team care. **Clin. Infect. Dis.**, Chicago, v. 40, p. 349-354, 2005. Supplement 5.

FOCACCIA, R.; BARALDO, D.C.; FERRAZ, M.L.; MARTINELLI, A.L.; CARRILHO, F.J.; GONÇALES Jr, F.L.; COELHO, H.S.; LACERDA, M.A.; BRANDÃO, C.E.; MATTOS, A.A.; LIRA, L.G.; ZAMIN Jr, I.; PINHEIRO, J.O.; TOVO, C.V.; BOTH, C.T.; SOARES, J.A.; DITTRICH, S. Demographic and anthropometrical analysis and genotype distribution of chronic hepatitis C patients treated in public and private reference centers in Brazil. **Braz. J. Infect. Dis.**, Salvador, v. 8, n. 5, p. 348-355, 2004.

FREEMAN, A.J.; DORE, G.J.; LAW, M.G. THORPE, M.; VON OVERBECK, J.; LLOYD, A.R.; MARINOS, G.; KALDOR, J.M. Estimating progression to cirrhosis in chronic hepatitis C virus infection. **Hepatology**, Baltimore, v. 34, n. 5, p.809-816, 2001.

FRIEDMAN, S.L Liver fibrosis – from bench to bedside. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 38, p. 38-53, 2003. Supplement 1.

GARCIA-SAMANIEGO, J.; RODRIGUEZ, M.; BERENGUER J.; RODRIGUEZ-ROSADO, R.; CARBO, J.; ASENSI, V.; SORIANO, V. Hepatocellular carcinoma in HIV-infected patients with chronic hepatitis C. **Am. J. Gastroenterol.**, New York, v. 96, n. 1, p. 179-183, 2001.

GASLIGHTWALA, I.; BINI, E.J. Impact of human immunodeficiency virus infection on the prevalence and severity of steatosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 44, n. 6, p. 1026-1032, 2006.

GLOBAL SURVEILLANCE AND CONTROL OF HEPATITIS C. Report of a WHO consultation organized in collaboration with the Viral Hepatitis Prevention Board, Antwerp, Belgium. **J. Viral Hepat.**, Oxford, v. 6, n. 1, p. 35-47, 1999.

GONZALEZ, S.A.; TALAL A.H. Hepatitis C virus in Human Immunodeficiency virus-infected individuals: an emerging comorbidity with significant implications. **Semin. Liver Dis.**, New York, v. 23, n. 2, p. 149-166, 2003.

GONZALEZ-PERALTA, R.; DAVIS, G.L.; LAU, J.Y.N. Pathogenetic mechanisms of hepatocellular damage in chronic hepatitis C virus infection. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 21, n. 2, p. 255-259, 1994.

GRAHAM,C.S.; BADEN, L.R.; YU, E.; MRUS, J.M.; CARNIE, J.; HEEREN, T.; KOZIEL, M.J. Influence of human immunodeficiency virus infection on the course of hepatitis C virus infection: a meta-analysis. **Clin. Infect. Dis.**, Chicago, v. 33, n. 4, p. 562-569, 2001.

GUIDO, M.; RUGGE, M.; CHEMELLO, L.; LEANDRO, G. FATTOVICH,G.; GIUSTINA, G.; CASSARO, M.; ALBERTI, A. Liver stellate cells in chronic viral hepatitis: the effect of interferon therapy. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 24, n. 3, p. 301-307, 1996.

HADZIYANNIS, S.J.; SETTE, H. JR.; MORGAN, T.R.; BALAN, V.; DIAGO, M.; MARCELLIN, P.; RAMADORI, G.; BODENHEIMER JR, H.; BERNSTEIN, D.; RIZZETTO, M.; ZEUZEM, S.; POCKROS, P.J.; LIN, A.; ACKRILL, A.M. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. **Ann. Intern. Med.**, Philadelphia, v. 140, n. 5, p. 346-355, 2004.

HIRAMATSU, N.; HAYASHI, N.; KASAHARA, A.; HAGIWARA, H.; TAKEHARA, T.; HARUNA, Y.; NAITO, M.; FUSAMTO, H.; KAMADA, T. Improvement of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients treated with natural interferon alpha. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 22, n. 2, p. 696-699, 1995.

INTRAOBSERVER and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. **Hepatology**, Baltimore, v. 20, p. 15-20, 1994.

ISHAK, K.; BAPTISTA, A.; BIANCHI, L.; CALLEA, F.; DE GROOTE, J.; GUDAT, F.; DENK, H.; DESMET, V.; KORB, G.; MAC SWEEN, R.N. Histological grading and staging of chronic hepatitis. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 22, n. 6, p. 696-699, 1995.

JIMENEZ, S.A.; FREUNDLICH, B.; ROSENBLOOM J. Selective inhibition of human diploid fibroblast collagen synthesis by interferons. **J. Clin. Invest.**, New Haven, v. 74, n. 3, p. 1112-1116, 1984.

KIM, W.R. The burden of hepatitis C in the United States. **Hepatology**, Baltimore, v. 36, n. 5, p. 30-34, 2002. Supplement 1.

KNODELL, R.G.; ISHAK, K.G.; BLACK, W.C.; CHEN, T.S.; CRAIG, R.; KAPLOWITZ, N.; KIERNAN, T.W.; WOLLMAN, J. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. **Hepatology**, Baltimore, v. 1, n. 5, p. 431-435, 1981.

KRYCZKA, W.; CHRAPEK, M.; PALUCH, K.; ZAREBSKA-MICHALUK, D. Progress of liver disease in chronic hepatitis C patients who failed antiviral therapy. **Med. Sci. Monit.**, Warsaw, v. 9, p. 25-28, 2003. Supplement 3.

KUBO, Y.; TAKEUCHI, K.; BOONMAR, S.; KATAYAMA, T.; CHOO, Q.L.; KUO, G.; WEINER, A.J.; BRADLEY, D.W.; HOUGHTON, M.; SAITO, I. A cDNA fragment of hepatitis C virus isolated from an implicated donor of post-transfusion non-A, non-B hepatitis in Japan. **Nucleic Acids Res.**, London, v. 17, n. 24, p. 10367-10372, 1989.

LAGUNO, M.; MURILLAS, J.; BLANCO, J.L.; MARTINEZ, E.; MIQUEL, R.; SANCHEZ-TAPIAS, J.M.; BARGALLO, X.; GARCIA-CRIADO, A.; DE LAZZARI, E.; LARROUSSE, M.; LEON, A.; LONCA, M.; MILINKOVIC, A.; GATELL, J.M.; MALLOLAS, J. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of HIV/HCV co-infected patients. **AIDS**, London, v. 18, n. 13, p. 27-36, 2004.

LEE W.M.; DIENSTAG, J.L.; LINDSAY, K.L.; LOK, A.S.; BONKOVSKY, H.L.; SHIFFMAN, M.L.; EVERSON, G.T.; DI BISCEGLIE, A.M.; MORGAN, T.R.; GHANY, M.G.; MORISHIMA, C.; WRIGHT, E.C.; EVERHART, J.E. Evolution of the HALT-C Trial: pegylated interferon as maintenance therapy for chronic hepatitis C in previous interferon nonresponders. **Control Clin. Trials**, New York, v. 25, n. 5, p. 472-492, 2004.

LEE, S.S.; HEATHCOTE, E.J.; REDDY, K.R.; ZEUZEM, S.; FRIED, M.W.; WRIGHT, T.L.; POCKROS, P.J.; HAUSSINGER, D.; SMITH, C.I.; LIN, A.; PAPPAS, S.C. Prognostic factors and early predictability of sustained viral response with peginterferon alfa-2a (40KD). **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 37, n. 4, p. 500-506, 2002.

LEE, S.S. Histological response to interferon alfa-based therapies in hepatitis C. **Semin. Liver Dis.**, New York, v. 24, p. 55-60, 2004. Supplement 2.

LEROY, V.; DE TRAVERSAY, C.; BARNNOUD, R.; HARTMANN, J.D.; BAUD, M.; OUZAN, D.; ZARSKI, J.P. Changes in histological lesions and serum fibrogenesis markers in chronic hepatitis C patients non-responders to interferon alpha. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 35. n. 1, p. 120-126, 2001.

LEVY, M.T.; McCAUGHAN, G.W.; MARINOS, G.; GORRELL, M.D. Intrahepatic expression of the hepatic stellate cell marker fibroblast activation protein correlates with the degree of fibrosis in hepatitis C virus infection. **Liver**, Copenhagen, v. 22, n. 2, p. 93-101, 2002.

LINDSAY, K.L.; TREPO, C.; HEINTGES, T.; HEINTGES, T.; SHIFFMAN, M.L.; GORDON, S.C.; HOEFS, J.C.; SCHIFF, E.R.; GOODMAN, ZD.; LAUGHLIN, M.; YAO, R.; ALBRECHT, J.K. A randomized double-blind trial comparing pegylated interferon alfa-2b to interferon alfa-2b as initial treatment for chronic hepatitis C. **Hepatology**, Baltimore, v. 34, n. 2, p. 395-403, 2001.

LISSEN, E.; CLUMECK, N.; SOLA, R.; CORREA, M.; MONTANER, J.; NELSON, M.; DEPAMPHILIS, J.; DIETERICH, D.T. Histological response to peginterferon alfa-2a (40kd) (PEGASYS®) plus ribavirin (COPEGUS®) in patients with HIV-HCV co-infection: results of the AIDS Pegasys Ribavirin International Co-infection Trial (APRICOT). In: 55TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LIVER DISEASES (AASLD), 55., 2004, Boston. Abstract 174.

MAK, K.M.; LEO, M.A.; LIEBER, C.S. Alcoholic liver injury in baboons: transformation of lipocytes to transitional cells. **Gastroenterology**, Baltimore, v. 87, n. 1, p. 188-200, 1984.

MAK, K.M.; LIEBER, C.S. Lipocytes and transitional cells in alcoholic liver disease: a morphometric study. **Hepatology**, Baltimore, v. 8, n. 5, p. 1027-1033, 1988.

MALLAT, A.; PREAUX, A.M.; BLAZEJEWSKI, S.; ROSENBAUM, J.; DHUMEAUX, D.; MAVIER, P. Interferon alfa and gamma inhibit proliferation and collagen synthesis of human Ito cells in culture. **Hepatology**, Baltimore, v. 21, n. 4, p. 1003-1010, 1995.

MANCINI, R. JEZEQUEL, A.M.; BENEDETTI, A.; PAOLUCCI, F.; TROZZI, L.; ORLANDI, F. Quantitative analysis of proliferating sinusoidal cells in dimethylnitrosamine-induced cirrhosis. An immunohistochemical study. **J Hepatol**, Amsterdam, v. 15, n. 3, p. 361-366, 1992.

MANN, M.P.; McHUTCHISON, J.G.; GORDON, S.C.; RUSTGI, V.K.; SHIFFMAN, M.; REINDOLLAR, R.; GOODMAN, Z.D.; KOURY, K.; LING, M.; ALBRECHT, J.K. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. **Lancet**, London, v. 358, n. 9286, p. 958-65, 2001.

MARCELLIN, P.; ASSELAH, T.; BOYER, N. Fibrosis and disease progression in hepatitis C. **Hepatology**, Baltimore, v. 36, n. 5, p. 47-56, 2002. Supplement 1.

MARTIN-CARBONERO, L.; BENHAMOU, Y.; PUOTI, M.; BERENGUER, J.; MALLOLAS, J.; QUEREDA, C.; ARIZCORRETA, A.; GONZALEZ, A.; ROCKSTROH, J.; ASENSI, V.; MIRALLES, P.; LAGUNO, M.; MORENO, L.; GIRON, J.A.; VOGEL, M.; GARCIA-SAMANIEGO, J.; NUNEZ, M.; ROMERO, M.; MORENO, S.; DE LA CRUZ, J.J.; SORIANO, V. Incidence and predictors of severe liver fibrosis in human immunodeficiency virus-infected patients with chronic hepatitis C: a European collaborative study. **Clin. Infect. Dis.**, Chicago, v. 38, n. 1, p. 128-133, 2004.

MARTINELLI, A.L.C.; RAMALHO, L.N.Z.; ZUCOLOTO, S. Hepatic stellate cells in hepatitis C patients: Relationship with liver iron deposits and severity of liver disease. **J. Gastroenterol. Hepatol.**, Melbourne, v. 19, n. 1, p. 91-98. 2004.

MARTINEZ-SIERRA, C.; ARIZCORRETA, A.; DIAZ, F.; ROLDAN, R.; MARTIN-HERRERA, L.; PEREZ-GUZMAN, E.; GIRON-GONZALEZ, J.A. Progression of chronic hepatitis C to liver fibrosis and cirrhosis in patients coinfecting with hepatitis C virus and human immunodeficiency virus. **Clin. Infect. Dis.**, Chicago, v. 36, n. 4, p. 491-498, 2003.

McHUTCHISON, J.G.; GORDON, S.C.; SCHIFF, E.R.; SHIFFMAN, M.L.; LEE, W.M.; RUSTGI, V.K.; GOODMAN, Z.D.; LING, M.H.; CORT, S.; ALBRECHT, J.K. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 339, n. 21, p. 1485-1492, 1998.

MENDES-CORREA, M.C.; BARONE, A.A.; GUASTINI, C. Hepatitis C virus seroprevalence and risk factors among patients with HIV infection. **Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 15-19, 2001.

MILANI, S.; HERBST, H.; SCHUPPAN, D.; HAHN, E.G.; STEIN, H. In situ hybridization for procollagen types I, III, and IV mRNA in normal and fibrotic rat liver: evidence for predominant expression in non-parenchymal liver cells. **Hepatology**, Baltimore, v. 10, n. 1, p. 84-92, 1989.

MOHSEN, A.H.; EASTERBROOK, P.J.; TAYLOR, C.; PORTMANN, B.; KULASEGARAM, R.; MURAD, S.; WISELKA, M.; NORRIS, S. Impact of human immunodeficiency virus (HIV) infection on the progression of liver fibrosis in hepatitis C virus infected patients. **Gut**, London, v. 52, n. 7, p. 1035-1040, 2003.

MONDELI, M.U.; SILINI, E. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 31, p. 65-70, 1999. Supplement 1.

MONGA, H.K.; RODRIGUES-BARRADAS, M.C.; BREAU, K.; KHATTAK, K.; TROISI, C.L.; VELEZ, M.; YOFFE, B. Hepatitis C virus infection-related morbidity and mortality among patients with human immunodeficiency virus infection. **Clin. Infect. Dis.**, Chicago, v. 33, n. 2, p. 240-247, 2001.

MORENO, L.; QUEREDA, C.; MORENO, A.; PEREZ-ELIAS, M.; ANTELA, A.; CASADO, J.L.; DRONDA, F.; MATEOS, M.L.; BARCENA, R.; MORENO, S. Pegylated interferon α 2b plus ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C in HIV-infected patients. **AIDS**, London, v. 18, n. 1, p. 67-73, 2004.

MURILLAS, J.; DEL RIO, M.; RIERA, M.; VAQUER, P.; SALAS, A.; LEYES, M.; ANGELES RIBAS, M.; PENARANDA VERA, M.; VILLALONGA, C. Increased incidence of hepatocellular carcinoma (HCC) in HIV-1 infected patients. **Eur. J. Intern. Med.**, Basingstoke, v. 16, n. 2, p. 113-115, 2005.

MYERS, R.P.; BENHAMOU, Y.; BOCHET, M.; THIBAUT, V.; MEHRI, D.; POYNARD, T. Pegylated interferon alpha 2b and ribavirin in HIV/hepatitis C virus-co-infected non-responders and relapsers to IFN-based therapy. **AIDS**, London, v.18, n. 1, p.75-79, 2004.

NASTI, G.; DI GENNARO, G.; TAVIO, M.; CADORIN, L.; TEDESCHI, R.M.; TALAMINI, R.; CARBONE, A.; TIRELLI, U. Chronic hepatitis C in HIV infection: feasibility and sustained efficacy of therapy with interferon alfa-2b and ribavirin. **AIDS**, London, v. 15, n. 14, p. 1783-1787, 2001.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. Consensus of Development Conference Panel Statement: Management of Hepatitis C. **Hepatology**, Baltimore, v. 26, p. 2-10, 1997.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. Development Conference Panel Statement: Management of hepatitis C. **Hepatology**, Baltimore, v. 36, p. 3-20, 2002. Supplement 1.

NGUYEN, M.H.; KEEFFE, E.B. Epidemiology and treatment outcomes of patients with chronic hepatitis C and genotypes 4 to 9. **Rev. Gastroenterol. Disord.**, Mercer Island, v. 4, p. 14-21, 2004. Supplement 1.

NOUCHI, T.; TANAKA, Y.; TSUKADA, T.; SATO, C.; MARUMO, F. Appearance of alpha-smooth muscle actin positive cells in hepatic fibrosis. **Liver**, Copenhagen, v. 11, n. 2, p. 100-105, 1991.

OLASO, E.; FRIEDMAN, S.L. Molecular regulation of hepatic fibrogenesis. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 29, n. 5, p. 836-847, 1998.

PAOLUCCI, R.; MANCINI, R.; MARUCCI, L.; BENEDETTI, A.; JEZEQUEL, A.M.; ORLANDI, F. Immunohistochemical identification of proliferating cells following dimethylnitrosamine-induced liver injury. **Liver**, Copenhagen, v. 10, n. 5, p. 278-281, 1990.

PATTON, H.M.; PATEL, K.; BEHLING, C.; BYLUND, D.; BLATT, L.M.; VALLEE, M.; HEATON, S.; CONRAD A.; POCKROS, P.J.; McHUTCHISON J.G. The impact of steatosis on disease progression and early and sustained treatment response in chronic hepatitis C patients. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 40, n. 3, p. 484-490, 2004.

PAWLOTSKY, J.M. Pathophysiology of hepatitis C virus infection and related liver disease. **Trends Microbiol.**, Cambridge, v. 12, n. 2, p. 12-96, 2004.

PETRENKIENE, V.; GUDINAYICIENE, I.; JONAITIS, L.; KUPCINSKAS, L. Improvement of liver histopathology in patients with hepatitis C after interferon and ribavirin combination therapy. **Medicina (Kaunas)**, Kaunas, v. 40, n. 10, p. 962-968, 2004.

POYNARD, T.; BEDOSSA, P.; OPOLAN, P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. **Lancet**, London, v. 3491, n. 9055, p. 825-832, 1997.

POYNARD, T.; MOUSSALI, J.; RATZIU, V.; REGIMBEAU, C.; OPOLON, P. Effects of interferon therapy in "non responder" patients with chronic hepatitis C. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 31, p. 178-183, 1999. Supplement 1.

POYNARD, T.; McHUTCHISON, J.; GOODMAN, Z, LING, M.H.; ALBRECHT, J. Is an `a la carte` combination interferon alfa-2b plus ribavirin regimen possible for the first-line treatment in patients with chronic hepatitis C? **Hepatology**, Baltimore, v. 31, n. 1, p. 211-218, 2000.

POYNARD, T.; McHUTCHISON, J.; MANNS, M.; TREPO, C.; LINDSAY, K.; GOODMAN, Z.; LING, M.H.; ALBRECHT, J. Impact of pegylated interferon alfa-2b and ribavirin on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. **Gastroenterology**, Baltimore, v. 122, n. 5, p. 1303-1313, 2002.

POYNARD, T.; MATHURIN, P.; LAI, C.L.; GUYADER, D.; POUPON, R.; TAINTURIER, M.H.; MYERS, R.P.; MUNTENAU, M.; RATZIU, V.; MANNS, M.; VOGEL, A.; CAPRON, F.; CHEDID, A.; BEDOSSA, P. A comparison of fibrosis progression in chronic liver diseases. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 38, n. 3, p. 257-265, 2003.

RAGNI, M.V.; BONTEMPO, F.A. Increase in hepatitis C virus load in hemophiliacs during treatment with highly active antiretroviral therapy. **J. Infect. Dis.**, Chicago, v. 180, n. 6, p. 2027-2029, 1999.

RIGAMONTI, C.; ANDORNO, S.; MADULI, S.; MORELL, S.; PITTAU, S.; NICOSIA, G.; BOLDORINI, R.; STARTORI, M. Iron, hepatic stellate cells and fibrosis in chronic hepatitis C. **Eur. J. Clin. Invest.**, Berlin, v. 32, p. 28-35. 2002. Supplement 1.

ROCKEY, D.C. Hepatic blood flow regulation by stellate cells in normal and injured liver. **Semin. Liver Dis.**, New York, v. 21, n. 3, p. 337-350, 2001.

ROCKSTROH, J.K.; MUDAR, M.; LICHTERFELD, M.; NISCHALKE, H.D.; KLAUSEN, G.; GOLZ, J.; DUPKE, S.; NOTHEIS, G.; STEIN, L.; MAUSS, S.; G. Pilot study of interferon alpha high-dose induction therapy in combination with ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-co-infected patients. **AIDS**, London, v. 16, n.15, p. 2083-2085, 2002.

RULLIER, A.; TRIMOULET, P.; NEAU, D.; BERNARD, P.; FOUCHER, J.; LACOSTE, D.; WINNOCK, M.; URBANIAK, R.; BALLARDINI, G.; BALABAUD, C.; BIOULAC-SAGE, P.; LE BAIL, B. Fibrosis is worse in HIV-HCV patients with low-

level immunodepression referred for HCV treatment than in HCV-matched patients. **Human Pathol.**, Philadelphia, v. 35, n. 9, p. 1088-1094, 2004.

SAKAIDA, I.; NAGATOMI, A.; HIRONAKA, K.; UCHIDA, K.; OKITA, K. Quantitative analysis of liver fibrosis and stellate cell changes in patients with chronic hepatitis C after interferon therapy. **Am. J. Gastroenterol.**, New York, v. 94, n. 2, p. 489-496, 1999.

SAULEDA, S.; JUAREZ, A.; ESTEBAN, J.I.; ALTISENT, C.; RUIZ, I.; PUIG, L.; ESTEBAN, R.; GUARDIA, J. Interferon and ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C in human immunodeficiency virus-infected patients with congenital coagulation disorders. **Hepatology**, Baltimore, v. 34, n. 5, p. 1035-1040, 2001.

SCHEUER, P.J. Classification of chronic viral hepatitis. A need for reassessment. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 13, n. 3, p. 372-374, 1991.

SCHUPPAN, D.; KREBS, A.; BAUER, M.; HAHN, E.G. Hepatitis C and liver fibrosis. **Cell Death Differ.**, London, v. 10, p. 59-65, 2003. Supplement 1.

SCIOT, R; VAN EYKEN, P; FACCHETTI, F.; CALLEA, F.; VAN DER STEEN, K.; VAN DIJCK, H.; VAN PARYS, G.; DESMET, V.J. Hepatocellular transferrin receptor expression in secondary siderosis. **Liver**, Copenhagen, v. 9, n. 1, p. 52-61, 1989.

SEBASTIANI, G.; VARIO, A.; FERRARI, A.; PISTIS, R.; NOVENTA, F.; ALBERTI, A. Hepatic iron, liver steatosis and viral genotypes in patients with chronic hepatitis C. **J. Viral Hepat.**, Oxford, v. 13, n. 3, p. 199-205, 2006.

SEGURADO, A.C.; BRAGA, P.; ETZEL, A.; CARDOSO, M.R. Hepatitis C vírus coinfection in a cohort of HIV-infected individuals from Santos, Brazil: seroprevalence and associated factors. **AIDS Patient Care STDS**, Larchmont, v. 18, n. 3, p. 135-143, 2004.

SENOO, H. Structure and function of hepatic stellate cells. **Med. Electron. Microsc.**, Tokyo, v. 37, n.1, p. 3-15, 2004.

SHERLOCK, S. Hepatitis C virus: a historical perspective. **Dig. Dis. Sci.**, New York, v. 41, p. 3-5, 1996. Supplement 12.

SHERMAN, K.E.; O'BRIEN, J.; GUTIERREZ, A.G; HARRISON, S.; URDEA, M.; NEUWALD, P.; WILBER, J. Quantitative evaluation of hepatitis C virus RNA in patients with concurrent human immunodeficiency virus infections. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v. 31, n. 10, p. 2679-2682, 1993.

SHERMAN, K.E.; ROUSTER, S.D.; CHUNG, R.T.; RAJICIC, N. Hepatitis C prevalence among patients infected with human immunodeficiency virus: a cross-sectional analysis of the US Adult AIDS Clinical Trial Group. **Clin. Infect. Dis.**, Chicago, v. 34, n. 6 p. 831-837, 2002.

SHERMAN, K.E. HCV and HIV: A Tale of two viruses. **Rev. Gastroenterol. Disord.**, Mercer Island, v. 4, p. 48-54, 2004. Supplement 1.

SHIFFMAN, M.L.; HOFMANN, C.M.; THOMPSON, E.B.; FERREIRA-GONZALES, A.; CONTOS, M.J.; KOSHY, A.; LUKETIC, V.A.; SANYAL, A.J.; MILLS, A.S.; GARRETT, C.T. Relationship between biochemical, virological, and histological response during interferon treatment of chronic hepatitis C. **Hepatology**, Baltimore, v. 26, n. 3, p. 780-785, 1997.

SHIFFMAN, M.L.; HOFMANN, C.M.; CONTOS, M.J.; LUKETIC, V.A.; SANYAL, A.J.; STERLING, R.K.; FERREIRA-GONZALEZ, A.; MILLS, A.S.; GARRET, C. A randomized, controlled trial of maintenance interferon therapy for patients with chronic hepatitis C virus and persistent viremia. **Gastroenterology**, Baltimore, v. 117, n. 5, p. 1164-1172, 1999.

SIMMONDS P, ALBERTI A, ALTER H.J.; BONINO, F.; BRADLEY, D.W.; BRECHOT, C.; BROUWER, J.T.; CHAN S.W.; CHAYANA, K.; CHEN, D.S. A

proposed system for the nomenclature of hepatitis genotypes. **Hepatology**, Baltimore, v. 19, n. 5, p. 1321-1324, 1994.

SOHARA N.; ZNOYKO, I.; LEVY, M.T.; TROJANOWSKA, M.; REUBEN, A. Reversal of activation of human myofibrast-like cells by culture on a basement membrane-like substrate. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 37, n. 2, p. 214-221, 2002.

SORIANO, V.; GARCIA-SAMANIEGO, J.; BRAVO, R.; GONZALES, J.; CASTRO, A.; CASTILLA, J.; MARTINEZ-ODRIOZOLA, P.; COLMENERO, M.; CARBALLO, E.; SUAREZ, D.; RODRIGUEZ-PINERO, F.J.; MORENO, A.; DEL ROMERO, J.; PEDREIRA, J.; GONZALEZ-LAHOZ, J. Interferon alpha for the treatment of chronic hepatitis C in patients infected with human immunodeficiency virus: Hepatitis-HIV Spanish Study Group. **Clin. Infect. Dis.**, Chicago, v. 23, n. 3, p. 585-591, 1996.

SORIANO, V.; GARCIA-SAMANIEGO, J.; RODRIGUES-ROSADO, R.; GONZALES, J.; PEDREIRA, J. Hepatitis C and HIV infection: biological, clinical and therapeutic implications. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 31, p. 119-123, 1999. Supplement 1.

SORIANO, V.; RODRIGUES-ROSADA, R.; GARCIA-SAMANIEGO, J. Management of chronic hepatitis C in HIV-infected patients. **AIDS**, London, v. 13, n. 5, p. 539-546, 1999.

SORIANO, V.; PUOTI, M.; SULKOWSKI, M.; MAUSS, S.; CACOUB, P.; CARGNEL, A.; DIETERICH, D.; HATZAKIS, A.; ROCKSTROH, J. Care of patients with hepatitis C and HIV co-infection. **AIDS**, London, v.18, n. 1, p. 1-12, 2004.

SOTO, B.; SANCHES-QUIJANO, A.; RODRIGO, L.; DEL OLMO, J.A.; GARCIA-BENGOCHEA, M.; HERNANDEZ-QUERO, J.; REY, C.; ABAD, M.A.; RODRIGUEZ, M.; SALES GILABERT, M.; GONZALEZ, F.; MIRON, P.; CARUZ, A.; RELIMPIO, F.; TORRONTERAS, R.; LEAL, M.; LISSEN, E. Human immunodeficiency virus infection modifies the natural history of chronic

parenterally-acquired hepatitis C with an unusually rapid progression to cirrhosis. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 26, n. 1, p. 1-5, 1997.

SOUZA, M.G.; PASSOS, A.D.; MACHADO, A.A.; FIGUEIREDO, J.F.; ESMERALDINO, L.E. HIV and hepatitis B virus co-infection: prevalence and risk factors. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Sao Paulo, v. 37, n.1, p. 391-395, 2004.

SULKOWSKI, M.S.; MAST, E.E.; SEEFF, L.B.; THOMAS, D.L. Hepatitis C virus infection as an opportunistic disease in persons infected with human immunodeficiency virus. **Clin. Infect. Dis.**, Chicago, v. 30, p. 77-84, 2000. Supplement 1.

TEDALTI, E.M.; BAKER, R.K.; MOORMAN, A.C.; ALZOLA, C.F.; FURHRER, J.; McCABE, R.E.; WOOD, K.C.; HOLMBERG, S.D. Influence of coinfection with hepatitis C virus on morbidity and mortality due to human immunodeficiency in the era of highly active antiretroviral therapy. **Clin. Infect. Dis.**, Chicago, v. 36, n. 3, p. 363-367, 2003.

TOCCACELI, F.; LAGHI, V.; CAPURSO, L.; KOCH, M.; SERENO, S.; SCUDERI, M. Long-term liver histology improvement in patients with chronic hepatitis C and sustained response to interferon. **J. Viral Hepat.**, Oxford, v. 10, n. 2, p. 126-133, 2003.

TORRES, M.C.M.R. Gravidade da doença hepática e população de células estreladas hepáticas em pacientes com hepatite C crônica com e sem co-infecção pelo vírus da imunodeficiência humana: papel das citocinas TNF- α e TGF- β 1. 2004. 138 p. Dissertação (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2004.

TORRIANI, F.J.; RODRIGUEZ-TORRES, M.; ROCKSTROH, J.K.; LISSEN, E.; GONZALEZ-GARCIA, J.; LAZZARIN, A.; CAROSI, G.; SASADEUSZ, J.; KATLAMA, C.; MONTANER, J.; SETTE, H. JR.; PASSE, S.; DE PAMPHILIS, J.; DUFF, F.; SCHRENK, U.M.; DIETERICH, D.T. Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin

for chronic hepatitis C virus infection in HIV-infected patients. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 351, n. 5, p. 438-450, 2004.

TREITINGER, A.; SPADA, C.; SILVA, E.L.; MIRANDA, A.F.; OLIVEIRA, O.V.; SILVEIRA, M.V.; VERDI, J.C.; ABDALLA, D.J. Prevalence of serologic markers of HBV and HCV infection in seropositive patients in Florianopolis, Brazil. **Braz. J. Infect. Dis.**, Salvador, v. 3, n. 1, p. 1-5, 1999.

TURAL, C.; FUSTER, D.; TOR, J.; OJANGUREN, I.; SIRERA, G.; BALLESTEROS, A.; LASANTA, J.A.; PLANAS, R.; REY-JOLY, C.; CLOTET, B. Time on antiretroviral therapy is a protective factor for liver fibrosis in HIV and hepatitis C virus (HCV) co-infected patients. **J. Viral Hepat.**, Oxford, v. 10, n. 2, p. 118-125, 2003.

VILLANO, S.A.; VLAHOV, D.; NELSON, K.E.; COHN, S.; THOMAS, D.L. Persistence of viremia and the importance of long-term follow-up after acute hepatitis C infection. **Hepatology**, Baltimore, v. 29, n. 3, p. 908-914, 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Hepatitis C – global prevalence (update). **Wkly. Epidemiol. Rec.**, Geneve, v.74, n.49, p. 425-427, 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). AIDS epidemic update. Disponível em: <www.who.int/hiv/pub/epidemiology/en/epiupdate2003>. Acesso em: 20 jun.2005.

YOKOI, Y.; NAMIHISA, T.; MATSUZAKI, K.; MIYAZAKI, A.; YAMAGUCHI, Y. Distribution of Ito cells in experimental hepatic fibrosis. **Liver**, Copenhagen, v. 8, n.1, p. 48-52, 1988.

ZARIFE, M.A.; SILVA, L.K.; SILVA, M.B.; LOPES, G.B.; BARRETO, M.L.; TEIXEIRA, M.D.; DOURADO, I.; REIS, M.G. Prevalence of hepatitis C virus infection in north-eastern Brazil: a population-based study. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, London, 2005. No prelo.

ZARSKI, J-P.; BOHN, B.; BASTIE, A. Characteristics of patients with dual infection by hepatitis B and C viruses. **J. Hepatol.**, Amsterdam, v. 28, n.1, p. 27-33, 1998.

ZEUZEM, S.; FEINMAN, S.V.; RASENACK, J.Z.; HEATHCOTE; E.J.; LAI, M.Y.; GANE, E.; O'GRADY, J.; REICHEN, J.; DIAGO, M.; LIN, A.; HOFFMAN, J.; BRUNDA, M.J. Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 343, n. 33, p. 1666-1672, 2000.

APÊNDICE A

Termo de consentimento livre e esclarecido

O Estudo intitulado *“Análise da progressão da fibrose hepática e mudanças nas células estreladas no fígado de pacientes co-infectados pelo vírus da imunodeficiência humana e pelo vírus da hepatite C submetidos ao tratamento com interferon-alfa e ribavirina”*, está sendo realizado pela Dra. Gleusa de Castro, com a orientação do Prof. Dr. José Fernando de Castro Figueiredo, no Ambulatório de Hepatites do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo- HCFMRP-USP.

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa clínica, de forma inteiramente voluntária, sendo que sua assistência médica não será influenciada caso você decida não participar. O objetivo do estudo é avaliar, nos pacientes co-infectados pelo vírus da hepatite C e pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), que já receberam tratamento para hepatite C, o resultado desse tratamento sobre a progressão da doença. Para participar desse estudo, você deve ter 18 anos ou mais, com infecção pelo HIV e pelo vírus da hepatite C; ter realizado biópsia hepática antes do tratamento e concordar que o material obtido da biópsia, antes do tratamento, e que está guardado, possa ser utilizado nessa pesquisa; ter sido submetido ao tratamento para hepatite C e concordar em realizar nova biópsia hepática após o final do tratamento da hepatite C, sabendo que essa segunda biópsia não é realizada de rotina nos pacientes não incluídos nessa pesquisa.

Após a consulta inicial, caso você concorde em participar do estudo e todos os seus exames estejam de acordo, você será incluído e informado sobre a realização de uma biópsia de fígado. A biópsia de fígado é um procedimento semelhante ao que você já realizou antes de ter iniciado o tratamento da hepatite C. Trata-se de retirada de um pequeno fragmento (cerca de 10 mm) do fígado, que é um órgão situado abaixo das costelas do lado direito da barriga. Será feita uma punção na sua pele, com uma agulha, após realizar anestesia local, a qual será guiada até o fígado, através de um exame de ultrassonografia. O fragmento

do fígado retirado por esta biópsia será encaminhado ao Serviço de Patologia para análise.

Ao participar deste estudo você estará nos ajudando a determinar os possíveis benefícios, a longo prazo, do tratamento da hepatite C. Você não terá benefício imediato sendo submetido a essa nova biópsia hepática, podendo no futuro, ter benefícios, na medida em que novas opções de tratamento aparecerem e você puder fazer uso das mesmas.

Você poderá sentir dor no local da biópsia, podendo ser necessário ser medicado com analgésico. A biópsia hepática pode provocar sangramento no fígado, que pode parar espontaneamente ou, em raros casos, ser necessária cirurgia para estancar a hemorragia. A fim de diminuir o risco de sangramento, a biópsia será realizada com a ajuda de ultrassonografia, que localizará o melhor espaço no fígado para realizar a punção, além do que, você será examinado com a medida da pressão e do pulso e ficará em repouso por 6 horas após o procedimento.

Os resultados da pesquisa serão divulgados independentemente dos resultados, em conformidade com as exigências legais. Seu nome ou quaisquer outros dados que poderiam identificá-lo não serão utilizados em relatórios ou publicações resultantes deste estudo. Para perguntas sobre a pesquisa ou caso você sinta que está apresentando algum problema relacionado com a mesma, você pode entrar em contato com a Dra. Gleusa de Castro, através do telefone (16) 602 2695 ou 602 2182.

Consentimento

Eu, voluntariamente, forneci o meu consentimento para participar deste estudo, como descrito acima, e recebi uma cópia do termo de consentimento livre e esclarecido para os meus registros. Minha participação é voluntária e eu posso decidir não participar ou me retirar do estudo a qualquer momento, sem penalidades ou perdas dos benefícios ou do tratamento a que eu tenha direito. Meu médico também poderá escolher interromper minha participação no estudo caso for em benefício da minha saúde.

Eu tive a oportunidade de perguntar ao meu médico a respeito de questões sobre este estudo e eu compreendi os procedimentos e sei quais os possíveis riscos e benefícios por participar deste estudo, como descrito acima. Eu compreendo que não estou abrindo mão de nenhum dos meus direitos legais assinando este termo de consentimento.

Data

Assinatura do Participante

Data

Assinatura de testemunha

Data

Assinatura do Pesquisador

APÊNDICE B

Orientações aos pacientes que serão submetidos à biópsia hepática

Biópsia hepática

Data: ____ / ____ / ____

Horário: ____ h

Local: Sala de biópsia do Ambulatório da UETDI

Informações importantes:

1. A biópsia hepática é um procedimento simples, feito com anestesia local.
2. É indispensável a coleta de sangue (hemograma e tempo de protrombina) na mesma semana em que está marcada a biópsia ou, no máximo, na semana anterior. Sem coletar sangue não será possível fazer a biópsia.
3. Não usar anti-inflamatórios – AAS, Voltaren, Cataflan, etc, desde a semana anterior ao procedimento. Se precisar de analgésicos (dor, cefaléia) use Tylenol, Dôrico ou Novalgina.
4. Vir em jejum.
5. Se possível vir com acompanhante.
6. A alta será dada cerca de 6 horas após a biópsia (3 ou 4 horas da tarde).
7. Após o exame recomendamos não fazer atividade física exagerada nas próximas 24 horas (participar de esporte, levantar peso, etc).
8. Você tem direito a atestado médico; solicite-o se necessário.
9. O resultado do exame estará em seu prontuário em 4 semanas, quando deverá estar marcado seu retorno.
10. Em caso de dúvida contatar Dra. Gleusa nos telefones 602 2695 ou 602 2182.

APÊNDICE C

Instrumento de coleta de dados dos pacientes co-infectados HIV-HCV

1 IDENTIFICAÇÃO:

1.1 Nome: _____

1.2 Registro: _____ 1.3 D.N.: ____/____/____

1.4 Sexo: 1.4.1 ( ) F 1.4.2 ( ) M

1.5 Cor: 1.5.1 ( ) Branca 1.5.2 ( ) Negra 1.5.3 ( ) Pardo

1.6 CR para HIV e/ou HCV: 1.6.1 ( ) UDEV 1.6.2 ( ) Sexual
1.6.3 ( ) transf 1.6.4 ( ) acidente 1.6.5 ( ) não identificado

1.7 Uso de álcool: não ( ) sim ( ) _____ gramas

1.8 Idade que iniciou uso álcool: _____ anos.

2 INFECÇÃO PELO HIV

2.1 Data do anti-HIV +: ____/____/____

2.2 seguido na UETDI

2.2.1 sim ( ) 2.2.2 não ( ) 2.2.3 data início ____/____/____

2.3 Classificação CDC

( ) A ( ) B ( ) C ( ) 1 ( ) 2 ( ) 3

2.4 Doença definidora de Aids no momento do diagnóstico

2.4.1 ( ) S 2.4.2 ( ) N

2.5 uso de ARV:

2.5.1 ( ) sim 2.5.2 ( ) não 2.5.3 data início: ____/____/____.

3 INFECÇÃO PELO HBV

3.1.1 HbsAg ( ) P ( ) N.

4 CONTAGEM DE CÉLULAS CD4 E CARGA VIRAL

DATA	Pré-tto	1-2m tto	3-4m	5-6m	7-8m	9-10m	11-12m	Pós 12sem	Pós 24sem
	____/____/____	____/____/____	____/____/____	____/____/____	____/____/____	____/____/____	____/____/____	____/____/____	____/____/____
CD4									
CV									
LOG									
ARV									
Motivo troca									

5 INFECÇÃO PELA HEPATITE C

5.1 Data do 1º anti-HCV ____/____/____

5.2 Data do CN amb. Hepatite: ____/____/____

5.3 Duração da infecção: ____ idade da contaminação: ____.

5.4 HCV-PCR e PCR quantitativo

DATA	____/____/____ (pré-tto)	____/____/____ (12 sem)	____/____/____ (24 sem)	____/____/____ (48sem)	____/____/____ 24 sem pós tto	
HCV-PCR						
PCR quantit.						

5.5 genótipo

5.5.1 ( ) 1a   5.5.2 ( ) 1b   5.5.3 ( ) 2   5.5.4 ( ) 3   5.5.5 ( ) 4

6 BIÓPSIA HEPÁTICA

6.1 DATA: ____/____/____   Número: _____   ( ) NR

6.2 número de espaços porta: ( ) <5   ( ) 5-10   ( ) >10   ( ) NA

Classificação de Knodell

6.3 Estadiamento: ( ) ausente   ( ) fibrose leve   ( ) fibrose moderada
( ) fibrose grave   ( ) cirrose   ( ) NA

6.4 Score: ( ) 6.4.1 ( ) normal   6.4.2 ( ) mínima atividade -HAI 1-3
6.4.3 ( ) leve- HAI 4-8   6.4.4 ( ) moderada -HAI 9-12
6.4.5 ( ) grave HAI 13-18   6.4.6 ( ) NA

6.5 Esteatose   6.6.1 ( ) sim   6.6.2 ( ) não.

6.7 Coloração ferro: 6.7.1 ( ) hepatócitos   6.7.2 ( ) ausência
6.7.3 ( ) finos focal   6.7.4 ( ) finos zonal   6.7.5 ( ) grosseiros zonal
6.7.6 ( ) grosseiros difusos   6.7.7 ( ) NA

6.8. Kupffer: 6.8.1 ( ) ausência 6.8.2 ( ) finos algumas 6.8.3 ( ) finos maioria
6.8.4 ( ) grosseiros hipertróficos 6.8.5 ( ) grosseiros
6.8.6 ( ) todas 6.8.7 ( ) NA

6.9. Portais/septos: 6.9.1 ( ) ausência 6.9.2 ( ) traços finos grânulos
6.9.3 ( ) finos dispersos 6.9.4 ( ) grosseiros
6.9.5 ( ) maciço 6.9.6 ( ) NA

6.10 Score total de ferro: 6.10.1 ( ) ausência 6.10.2 ( ) 1-5,9
6.10.3 ( ) 6-10 6.10.4 ( ) 11-15,9 6.10.5 ( ) 16-20 6.10.6 ( ) NA

6.11. Grau final: 6.11.1 ( ) ausência 6.11.2 ( ) I 6.11.3 ( ) II
6.11.4 ( ) III 6.11.5 ( ) IV 6.11.6 ( ) NA

6.12 Células estreladas: _____.

7 EXAMES LABORATORIAIS

7.1 bioquímica

	Pré tto	1-2m	3-4m	5-6m	7-8m	9-10m	11-12m	12sem pós	24sem pós
Data	__/__/__	__/__/__	__/__/__	__/__/__	__/__/__	__/__/__	__/__/__	__/__/__	__/__/__
HB									
HT									
PLQ (x103)									
GB									
TGO									
TGP									
BIL. T									
BIL. D									
FA									
GGT									
Amila									
Lactato									
INR									
Col total									
HDL col									
LDL col									
Triglic									
Glicemia									
Albumi na									
Creatini na									

7.2 Pré tto   7.2.1 Fe _____   7.2.2 TIBC _____   7.2.3 ferritina _____

7.3 EDA com gastropatia hipertensiva   7.3.1 ( ) sim   7.3.2 ( ) não   7.3.3 ( ) NA

7.4 EDA – varizes de esôfago   7.4.1 ( ) sim   7.4.2 ( ) não   7.4.3 ( ) NA

7.5 USG – hipertensão portal   7.5.1 ( ) sim   7.5.2 ( ) não   7.5.3 ( ) NA.

8. TRATAMENTO HCV

8.1

8.1.1 ( ) IFN isolado 8.1.2 ( ) IFV+ riba 8.1.3 data inicio: ____/____/____

8.1.4 ( ) não tratou 8.1.5 término: ____/____/____

8.2 Tempo tratamento: ____ semanas

8.3 Término tto: 8.3.1 ( ) completou 8.3.2 ( ) suspendeu efeitos colaterais
8.3.3 ( ) abandonou

8.4 Efeitos colaterais: 8.4.1 ( ) anemia 8.4.2 ( ) plaquetopenia
8.4.3 ( ) neutropenia 8.4.4 ( ) alt PQU 8.4.5 ( ) hepatotoxicidade
8.4.6 ( ) acidose metabólica 8.4.7 ( ) pancreatite
8.4.8 ( ) síndrome flu-like grave 8.4.9 ( ) hipotireoidismo
8.4.10 ( ) hipertireoidismo.

8.5. Resposta ao tratamento:

8.5.1 Viroológica final

8.5.1.1 ( ) sim 8.5.1.2 ( ) não 8.5.1.3 ( ) NA

8.5.2 Viroológica sustentada 8.5.2.1 ( ) sim 8.5.2.2 ( ) não 8.5.2.3 ( ) NA

8.5.3 Bioquímica (TGP N) 8.5.3.1 ( ) sim 8.5.3.2 ( ) não 8.5.3.3 ( ) NA

9 .BIÓPSIA HEPÁTICA CONTROLE

9.1. DATA: ____/____/____ Número: _____ ( ) NR

9.2. número de espaços porta: ( ) <5 ( ) 5-10 ( ) >10 ( ) NA

Classificação de Knodell

9.3. Estadiamento: ( ) ausente ( ) fibrose leve ( ) fibrose moderada
( ) fibrose grave ( ) cirrose ( ) NA

9.4. Score: ( )

9.4.1 ( ) normal

9.4.2 ( ) mínima atividade -HAI 1-3

-
- 9.4.3 ( ) leve- HAI 4-8   9.4.4 ( ) moderada –HAI 9-12
9.4.5 ( ) grave HAI 13-18   9.4.6 ( ) NA
- 9.5. Esteatose   9.6.1 ( ) sim   9.6.2 ( ) não
- 9.7. Coloração ferro:
- 9.7.1 ( ) hepatócitos   9.7.2 ( ) ausência   9.7.3 ( ) finos focal
9.7.4 ( ) finos zonal   9.7.5 ( ) grosseiros zonal
9.7.6 ( ) grosseiros difusos   9.7.7 ( ) NA
- 9.8 Kupffer:
- 9.8.1 ( ) ausência   9.8.2 ( ) finos algumas   9.8.3 ( ) finos maioria
9.8.4 ( ) grosseiros hipertróficos   9.8.5 ( ) grosseiros   9.8.6 ( ) todas
9.8.7 ( ) NA
- 9.9 Portais/septos: 9.9.1 ( ) ausência   9.9.2 ( ) traços finos grânulos
9.9.3 ( ) finos dispersos   9.9.4 ( ) grosseiros   9.9.5 ( ) maciço   9.9.6 ( ) NA
- 9.10 Score total de ferro: 9.10.1 ( ) ausência   9.10.2 ( ) 1-5,9
9.10.3 ( ) 6-10   9.10.4 ( ) 11-15,9   9.10.5 ( ) 16-20
9.10.6 ( ) NA
- 9.11 Grau final:
- 9.11.1 ( ) ausência   9.11.2 ( ) I   9.11.3 ( ) II   9.11.4 ( ) III
9.11.5 ( ) IV   9.11.6 ( ) NA
- 9.12 Células estreladas: _____.

APÊNDICE D

Valores normais e unidades de referência para os exames gerais

EXAMES	VALORES DE REFERÊNCIA		UNIDADES
	MASCULINO	FEMININO	
ALT	10-36	10-44	U/L
GGT	7-32	11-50	U/L
FERRITINA	28-397	6-159	ng/mL
FERRO SÉRICO		35-150	mg/dL
UIBC		112-346	mg/dL
ALBUMINA		3,5-5	g/dL
HB	13,5-17,5	12,0-15,5	g%
GB		4.000-11.000	/mm ³
PLAQUETAS		150.000-450.000	/mm ³

APÊNDICE E

Características clínicas e laboratoriais pré-tratamento dos pacientes co-infectados HIV-HCV (N=26)

Nº	idade	sexo	Cor	IMC (Kg/m ²)	Uso prévio álcool	CR-HIV	IO prévia	Uso ARV	Genótipo HCV
1	35	M	B	19,0	Não	Sexual	Sim	Sim	1a
2	36	M	B	24.6	Sim	UDEV	Não	Sim	1a
3	34	M	N	30.5	Sim	UDEV	Sim	Sim	3
4	36	M	B	24.3	Sim	UDEV	Não	Sim	1a
5	39	F	B	21.1	Não	Sexual	Não	Sim	1a
6	42	M	B	21.2	Sim	UDEV	Não	Sim	1a
7	48	F	B	22,9	Não	Sexual	Não	Sim	2
8	39	M	B	27.9	Não	UDEV	Não	Sim	1a
9	38	M	B	22.3	Sim	UDEV	Não	Não	3
10	45	M	B	27.8	Sim	UDEV	Não	Sim	1b
11	38	M	B	27.3	Sim	UDEV	Não	Sim	1a
12	31	F	B	21.1	Sim	UDEV	Não	Não	1a
13	34	M	B	23.2	Sim	UDEV	Não	Sim	1a 1b
14	42	M	N	30.1	Sim	UDEV	Não	Sim	1b
15	31	M	B	23,2	Sim	UDEV	Não	Sim	1a
16	42	M	B	24.9	Sim	Sexual	Não	Sim	1a
17	22	M	B	18.2	Sim	UDEV	Não	Sim	1a
18	41	M	B	23,6	Sim	UDEV	Não	Não	1a
19	34	M	B	22.8	Não	Sexual	Não	Sim	1b
20	44	M	B	27.7	Sim	UDEV	Sim	Sim	3
21	35	M	B	20	Sim	Sexual	Sim	Sim	1a
22	33	F	B	36.4	Sim	Sexual	Não	Não	1a
23	39	M	N	24.3	Sim	Sexual	Não	Sim	1a
24	36	F	B	22.3	Sim	UDEV	Não	Sim	1a 1b
25	39	F	B	22.3	Sim	UDEV	Não	Sim	3
26	38	F	B	21.1	Sim	UDEV	Não	Sim	1a 1b

M= Masculino; F=Feminino; B=Branco; N=Negro; P=Pardo; CR-HIV=Comportamento de risco para HIV; UDEV=usuário de droga endovenosa; IO= infecção oportunista prévia; ARV= anti-retroviral.

APÊNDICE F

Características laboratoriais pré-tratamento dos pacientes co-infectados HIV-HCV (N=26)

Nº	Linf. CD4 ⁺	RNA HIV (log)	GB	Plaques	ALT	GGT	INR	ALBU- MINA	FERRO	FERRI TINA	UIBC
1	582	0	4300	161	120.7	77	1.2	5.3	314	482	180
2	644	3.9	3600	149	137	NR	1.1	4.3	170	892	136
3	544	3.0	5500	222	204	122	1.2	4.4	146	286	207
4	634	2.9	5400	118	133	58.3	1.2	4.1	106	207	201
5	784	0	4900	240	72	38	0.9	NR	147	46	266
6	1665	0	11500	144	55	15.6	1.3	NR	166	NR	150
7	924	0	8400	321	61	120	NR	4.7	166	111	202
8	457	0	4700	147	226	39	0.93	NR	200	1005	157
9	676	4.6	5500	91	120	NR	1.1	4.1	139	165	157
10	773	0	5800	138	112	628	1.5	3.9	147	1510	170
11	429	3.8	4100	141	66	363	1	4.2	178	849	231
12	562	3.6	6500	293	92	61	1	NR	159	166	216
13	711	0	6500	254	250	305	1	NR	186	780	134
14	613	3.1	4300	167	76	61	1	NR	68	236	206
15	556	2.7	5300	137	446	141	1.1	NR	171	362	298
16	480	3.8	4800	158	669	463	1.1	NR	209	1332	95
17	766	ND	4600	214	33	27	1	4.2	53	460	241
18	822	4.1	5600	211	127	194	1.1	4.1	168	NR	204
19	558	4.8	4000	167	48	101	1	NR	91	617	240
20	913	0	5800	172	69	113	1.1	3.6	159	1099	153
21	491	3.8	5600	210	62	59	1	4.2	137	325	158
22	517	5	4700	158	137	NR	0.9	4.6	63	48.7	247
23	577	0	4300	278	65	109	1	4.2	66	208	147
24	522	ND	4700	129	37	35.1	0.9	NR	108	87.9	148
25	1074	0	10700	243	60	164	1	4	87	362	157
26	601	3.7	6700	150	37	59	1	3.8	39	75	184

Linf CD4⁺ = linfócitos T CD4⁺; log= logaritmo; RNA HIV 0=indetectável (menor que 50 cópias/ml); NR=não realizado; ND=não disponível

APÊNDICE G

**Tratamento realizado para hepatite c e a resposta ao tratamento dos
pacientes co-infectados HIV-HCV (N=26)**

Nº	Terapêutica	Duração Tratamento (Semanas)	HCV RNA 24 ^a SEM	HCV RNA 48 ^a SEM	HCV RNA 72 ^a SEM	RVF	RVS
1	INF+RBV	32	P	*	*	Não	Não
2	INF+RBV	28	P	*	*	Não	Não
3	INF+RBV	32	P	*	*	Não	Não
4	INF+RBV	48	N	P	*	Não	Não
5	INF+RBV	40	N	P	*	Não	Não
6	INF+RBV	48	N	N	N	SIM	SIM
7	INF+RBV	48	N	N	N	SIM	SIM
8	INF+RBV	28	P	*	*	Não	Não
9	INF+RBV	28	P	*	*	Não	Não
10	PEGINF+RBV	24	P	*	*	Não	Não
11	PEGINF+RBV	32	P	*	*	Não	Não
12	INF+RBV	28	P	*	*	Não	Não
13	INF+RBV	36	P	*	*	Não	Não
14	INF+RBV	28	NR	*	P	Não	Não
15	INF	48	N	P	*	Não	Não
16	INF+RBV	32	NR	*	*	Não	Não
17	INF+RBV	16	NR	*	*	Não	Não
18	PEGINF+RBV	16	NR	*	*	Não	Não
19	INF	48	NR	P	NR	Não	Não
20	INF+RBV	24	P	*	*	Não	Não
21	PEGINF+RBV	36	P	*	*	Não	Não
22	INF+RBV	28	P	*	*	Não	Não
23	PEGINF+RBV	48	N	N	N	SIM	SIM
24	INF+RBV	16	NR	*	*	Não	Não
25	INF+RBV	24	N	*	N	SIM	SIM
26	PEGINF+RBV	28	P	*	*	Não	Não

INF=Interferon; RBV=Ribavirina; PEGINF=interferon peguilado;

RVF=Resposta virológica ao final do tratamento; RVS=Resposta virológica sustentada.

APÊNDICE H

Características histológicas da biópsia hepática pré e pós-tratamento da hepatite C (N= 26)

nº	Fibro se1	Fibro se2	PS1	PS2	SMA1	SMA2	HAI 1	HAI 2
1	2	4	35	54	32	43	11	18
2	2	4	31	53	25	41	11	14
3	2	3	31	48	33	41	12	14
4	2	1	30	13	31	16	11	5
5	1	2	8	29	14	30	5	12
6	2	1	29	18	25	22	9	9
7	2	1	30	11	28	16	12	5
8	1	3	14	47	18	39	7	14
9	2	1	29	15	23	10	9	5
10	3	3	44	46	34	36	12	12
11	2	3	38	49	37	38	13	14
12	2	2	32	32	31	33	11	11
13	2	2	32	33	27	26	10	10
14	1	2	14	28	15	24	4	9
15	2	1	33	12	34	7	12	5
16	2	2	30	32	25	28	9	11
17	1	1	14	15	12	16	5	7
18	2	3	31	48	26	38	10	13
19	1	1	16	19	23	23	8	9
20	1	2	17	34	15	30	6	12
21	1	2	16	30	17	27	8	11
22	2	2	29	31	33	34	12	12
23	2	1	30	11	27	14	9	5
24	1	2	10	27	7	23	4	9
25	2	2	31	32	27	29	10	11
26	2	2	27	29	23	25	9	9

1= características da biópsia pré-tratamento; 2= características da biópsia pós-tratamento; PS = picosirius (depósito de colágeno); SMA=células estreladas α -SMA; HAI= índice de atividade histológica.

APÊNDICE I

Características histológicas da biópsia hepática pré e pós-tratamento da hepatite C (N= 26)

nº	FERRO 1	FERRO2	ESTEATOSE1	ESTEATOSE2
1	1	2	1	2
2	1	2	1	2
3	0	1	0	2
4	0	1	1	2
5	0	0	0	0
6	0	1	2	0
7	0	0	2	0
8	0	0	0	0
9	1	0	1	0
10	1	0	0	2
11	1	1	2	3
12	0	0	0	2
13	0	0	2	0
14	0	0	2	0
15	0	0	1	0
16	1	1	2	1
17	0	0	0	0
18	0	3	0	3
19	1	1	0	2
20	3	1	3	0
21	2	0	1	1
22	0	0	0	1
23	2	1	1	0
24	0	1	0	1
25	0	2	2	2
26	1	1	1	2

1= características da biópsia pré-tratamento; 2= características da biópsia pós-tratamento

**APROVAÇÃO DO ESTUDO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – FMRP
E HCFMRP-USP**

[illegible]

ANEXO B

AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DO FÍGADO – HCFMRP- USP

EXAME HISTOPATOLÓGICO DO FÍGADO	
IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE: NOME: _____ SOBRENOME: _____ INFORMAÇÕES DO EXAME: Nº: _____ EXAME HISTOPATOLÓGICO DO FÍGADO: 1. ASPECTO GERAL: 2. ASPECTO MICROSCÓPICO: 3. DIAGNÓSTICO: 4. OBSERVAÇÕES: 5. ASSINATURA DO MÉDICO: _____	
EXAME HISTOPATOLÓGICO DO FÍGADO IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE: NOME: _____ SOBRENOME: _____ INFORMAÇÕES DO EXAME: Nº: _____ EXAME HISTOPATOLÓGICO DO FÍGADO: 1. ASPECTO GERAL: 2. ASPECTO MICROSCÓPICO: 3. DIAGNÓSTICO: 4. OBSERVAÇÕES: 5. ASSINATURA DO MÉDICO: _____	
EXAME HISTOPATOLÓGICO DO FÍGADO IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE: NOME: _____ SOBRENOME: _____ INFORMAÇÕES DO EXAME: Nº: _____ EXAME HISTOPATOLÓGICO DO FÍGADO: 1. ASPECTO GERAL: 2. ASPECTO MICROSCÓPICO: 3. DIAGNÓSTICO: 4. OBSERVAÇÕES: 5. ASSINATURA DO MÉDICO: _____	
EXAME HISTOPATOLÓGICO DO FÍGADO IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE: NOME: _____ SOBRENOME: _____ INFORMAÇÕES DO EXAME: Nº: _____ EXAME HISTOPATOLÓGICO DO FÍGADO: 1. ASPECTO GERAL: 2. ASPECTO MICROSCÓPICO: 3. DIAGNÓSTICO: 4. OBSERVAÇÕES: 5. ASSINATURA DO MÉDICO: _____	
EXAME HISTOPATOLÓGICO DO FÍGADO IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE: NOME: _____ SOBRENOME: _____ INFORMAÇÕES DO EXAME: Nº: _____ EXAME HISTOPATOLÓGICO DO FÍGADO: 1. ASPECTO GERAL: 2. ASPECTO MICROSCÓPICO: 3. DIAGNÓSTICO: 4. OBSERVAÇÕES: 5. ASSINATURA DO MÉDICO: _____	
EXAME HISTOPATOLÓGICO DO FÍGADO IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE: NOME: _____ SOBRENOME: _____ INFORMAÇÕES DO EXAME: Nº: _____ EXAME HISTOPATOLÓGICO DO FÍGADO: 1. ASPECTO GERAL: 2. ASPECTO MICROSCÓPICO: 3. DIAGNÓSTICO: 4. OBSERVAÇÕES: 5. ASSINATURA DO MÉDICO: _____	
EXAME HISTOPATOLÓGICO DO FÍGADO IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE: NOME: _____ SOBRENOME: _____ INFORMAÇÕES DO EXAME: Nº: _____ EXAME HISTOPATOLÓGICO DO FÍGADO: 1. ASPECTO GERAL: 2. ASPECTO MICROSCÓPICO: 3. DIAGNÓSTICO: 4. OBSERVAÇÕES: 5. ASSINATURA DO MÉDICO: _____	
EXAME HISTOPATOLÓGICO DO FÍGADO IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE: NOME: _____ SOBRENOME: _____ INFORMAÇÕES DO EXAME: Nº: _____ EXAME HISTOPATOLÓGICO DO FÍGADO: 1. ASPECTO GERAL: 2. ASPECTO MICROSCÓPICO: 3. DIAGNÓSTICO: 4. OBSERVAÇÕES: 5. ASSINATURA DO MÉDICO: _____	

1. IDENTIFICATION 1.1. NAME 1.2. DATE 1.3. TIME 1.4. LOCATION 1.5. WEATHER 1.6. SEA 1.7. WIND 1.8. TEMPERATURE 1.9. MOON 1.10. STARS 1.11. PLANETS 1.12. OTHER		2. DESCRIPTION 2.1. GENERAL 2.2. DETAILS 2.3. REMARKS 2.4. CONCLUSIONS 2.5. RECOMMENDATIONS 2.6. OTHER		3. ANALYSIS 3.1. GENERAL 3.2. DETAILS 3.3. REMARKS 3.4. CONCLUSIONS 3.5. RECOMMENDATIONS 3.6. OTHER		4. RESULTS 4.1. GENERAL 4.2. DETAILS 4.3. REMARKS 4.4. CONCLUSIONS 4.5. RECOMMENDATIONS 4.6. OTHER		5. DISCUSSION 5.1. GENERAL 5.2. DETAILS 5.3. REMARKS 5.4. CONCLUSIONS 5.5. RECOMMENDATIONS 5.6. OTHER		6. CONCLUSIONS 6.1. GENERAL 6.2. DETAILS 6.3. REMARKS 6.4. CONCLUSIONS 6.5. RECOMMENDATIONS 6.6. OTHER		7. REFERENCES 7.1. GENERAL 7.2. DETAILS 7.3. REMARKS 7.4. CONCLUSIONS 7.5. RECOMMENDATIONS 7.6. OTHER		8. APPENDICES 8.1. GENERAL 8.2. DETAILS 8.3. REMARKS 8.4. CONCLUSIONS 8.5. RECOMMENDATIONS 8.6. OTHER		9. INDEX 9.1. GENERAL 9.2. DETAILS 9.3. REMARKS 9.4. CONCLUSIONS 9.5. RECOMMENDATIONS 9.6. OTHER		10. OTHER 10.1. GENERAL 10.2. DETAILS 10.3. REMARKS 10.4. CONCLUSIONS 10.5. RECOMMENDATIONS 10.6. OTHER		11. NOTES 11.1. GENERAL 11.2. DETAILS 11.3. REMARKS 11.4. CONCLUSIONS 11.5. RECOMMENDATIONS 11.6. OTHER		12. REFERENCES 12.1. GENERAL 12.2. DETAILS 12.3. REMARKS 12.4. CONCLUSIONS 12.5. RECOMMENDATIONS 12.6. OTHER		13. APPENDICES 13.1. GENERAL 13.2. DETAILS 13.3. REMARKS 13.4. CONCLUSIONS 13.5. RECOMMENDATIONS 13.6. OTHER		14. INDEX 14.1. GENERAL 14.2. DETAILS 14.3. REMARKS 14.4. CONCLUSIONS 14.5. RECOMMENDATIONS 14.6. OTHER		15. OTHER 15.1. GENERAL 15.2. DETAILS 15.3. REMARKS 15.4. CONCLUSIONS 15.5. RECOMMENDATIONS 15.6. OTHER		16. NOTES 16.1. GENERAL 16.2. DETAILS 16.3. REMARKS 16.4. CONCLUSIONS 16.5. RECOMMENDATIONS 16.6. OTHER		17. REFERENCES 17.1. GENERAL 17.2. DETAILS 17.3. REMARKS 17.4. CONCLUSIONS 17.5. RECOMMENDATIONS 17.6. OTHER		18. APPENDICES 18.1. GENERAL 18.2. DETAILS 18.3. REMARKS 18.4. CONCLUSIONS 18.5. RECOMMENDATIONS 18.6. OTHER		19. INDEX 19.1. GENERAL 19.2. DETAILS 19.3. REMARKS 19.4. CONCLUSIONS 19.5. RECOMMENDATIONS 19.6. OTHER		20. OTHER 20.1. GENERAL 20.2. DETAILS 20.3. REMARKS 20.4. CONCLUSIONS 20.5. RECOMMENDATIONS 20.6. OTHER		21. NOTES 21.1. GENERAL 21.2. DETAILS 21.3. REMARKS 21.4. CONCLUSIONS 21.5. RECOMMENDATIONS 21.6. OTHER		22. REFERENCES 22.1. GENERAL 22.2. DETAILS 22.3. REMARKS 22.4. CONCLUSIONS 22.5. RECOMMENDATIONS 22.6. OTHER		23. APPENDICES 23.1. GENERAL 23.2. DETAILS 23.3. REMARKS 23.4. CONCLUSIONS 23.5. RECOMMENDATIONS 23.6. OTHER		24. INDEX 24.1. GENERAL 24.2. DETAILS 24.3. REMARKS 24.4. CONCLUSIONS 24.5. RECOMMENDATIONS 24.6. OTHER		25. OTHER 25.1. GENERAL 25.2. DETAILS 25.3. REMARKS 25.4. CONCLUSIONS 25.5. RECOMMENDATIONS 25.6. OTHER		26. NOTES 26.1. GENERAL 26.2. DETAILS 26.3. REMARKS 26.4. CONCLUSIONS 26.5. RECOMMENDATIONS 26.6. OTHER		27. REFERENCES 27.1. GENERAL 27.2. DETAILS 27.3. REMARKS 27.4. CONCLUSIONS 27.5. RECOMMENDATIONS 27.6. OTHER</