Ricardo Teles Schulz

**Valor preditivo de marcadores laboratoriais não invasivos
para o diagnóstico de fibrose hepática na recidiva da hepatite C
crônica pós-transplante de fígado**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Mestre em Ciências

Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias

Orientador: Dr. Edson Abdala

São Paulo
2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Schulz, Ricardo Teles

Valor preditivo de marcadores laboratoriais não invasivos para o diagnóstico de fibrose hepática na recidiva da hepatite C crônica pós-transplante de fígado / Ricardo Teles Schulz. -- São Paulo, 2010.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Orientador: Edson Abdala.

Descritores: 1.Hepatite C 2.Transplante de fígado 3.Marcadores biológicos 4.Cirrose hepática 5.Curva ROC

USP/FM/DBD-512/10

Dedicatória

“Àqueles que me fortalecem e me completam,
meus pais, Jane e Edson,
meus irmãos, Juiliane e Carlos,
minha amada esposa, Julie, e
nossa filha, Letícia,
aguardada com imenso carinho”

Agradecimentos

Meus agradecimentos a Deus, fonte da Vida e da Sabedoria

Aos meus pais, meus modelos indelévels de conduta, para sempre comigo. À minha família, onde sempre encontro carinho e compreensão. À minha avó querida, que sempre me apoiou. Faço dessa conquista um presente.

À minha esposa, Julie, pelo amor com que me preencheu e deu cor à minha vida, e por ajudar a manter-me firme apesar das muitas despedidas e saudades agudas e dolorosas. Motivo maior de meu esforço, minha fonte de felicidade e carinho, prisma que transforma nossa luz em alegria, nossa Letícia.

Ao meu Mestre e Amigo, Dr. Edson Abdala, pela dedicação e paciência que tornaram possível a realização desse sonho. Agradeço pela oportunidade de ter trabalhado e aprendido com alguém íntegro e de inestimável valor.

Aos amigos do ambulatório de transplante, que me receberam de braços abertos, Patrícia, Silvinha, Débora, Ana Flávia, Marjorie e Alice. À Michelle e Luciana, pela satisfação da convivência com pessoas especiais como vocês.

Aos funcionários do Serviço de Transplante de Fígado, em especial as enfermeiras Adriana, Valdeci e Gláucia, aos auxiliares Rosilda, Márcia, Daniele, Tamara, M^a Patrícia, M^a Feitosa, Jezio, M^a das Graças, aos funcionários da secretaria do ambulatório Isabel, Roseli, Rita, Leonardo, aos funcionários da coordenação Roseli, Carmen e especialmente Marco, pelo auxílio e prestatividade, e às secretárias Dorotéia e Silvana, sempre dispostas a ajudar quando necessário.

Aos amigos e professores do Hospital do Servidor, em especial ao Wellington, pelas inúmeras ocasiões em que me ajudou incondicionalmente, devo minha amizade sincera e vitalícia, e à Ju, com saudades da época de residência. À Prof. Dra. Betty, fonte perene de inspiração para trilhar a hepatologia, e ao Dr. Renato, pelo incentivo e compreensão. À Janaína, pela sugestão do tema do trabalho e à Daniela, que apresentou-me ao Dr. Edson, agradeço o apoio nas fases mais delicadas do início dos trabalhos.

Ao João Miraglia, pela prestatividade e competência na análise estatística, e à Maristela, pelas valiosas sugestões.

Aos colegas Dr Evandro e Dr. Rodrigo Schuler, pela cooperação e contribuição fundamental.

A Roseli e Vânia da pós-graduação, pelo auxílio e infinita paciência nas orientações.

Aos colegas que compuseram minha banca de qualificação, pelas valiosas críticas que aperfeiçoaram o trabalho, Prof. Dr Barone, Prof. Dr Eduardo e Prof^a. Dr^a. Fátima.

Aos pacientes que participaram desse estudo fornecendo informações valiosas, e em favor dos quais dedica-se integralmente os resultados do avanço do saber científico.

Essa tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento dessa publicação:

Referências: adaptação de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Júlia de A. L. Freddi, Maria Fazanelli Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2^a ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

Lista de tabelas

Lista de figuras

Resumo

Summary

1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVO.....	10
3	MÉTODO.....	12
3.1	Ética	13
3.2	Seleção dos casos	13
3.3	Dados epidemiológicos e clínicos	14
3.4	Dados laboratoriais	15
3.5	Marcadores indiretos de fibrose hepática	16
3.6	Análise histológica	17
3.7	Definições	17
3.8	Tratamento Estatístico	18
3.8.1	Desfecho	18
3.8.2	Variáveis Analisadas:	18
3.8.3	Análise Estatística	19
4	RESULTADO.....	22
4.1	Casuística	23
4.2	Análise de 118 biópsias derivadas de 45 pacientes.....	24
4.2.1	Avaliação da acurácia diagnóstica para fibrose clinicamente significante dos marcadores indiretos laboratoriais analisados	27
4.2.2	Análise de variáveis associadas a fibrose clinicamente significante em 118 casos	36
4.3	Análise restrita a 45 biópsias de 45 pacientes	37
4.4	Resumo dos desempenhos diagnósticos dos marcadores indiretos laboratoriais avaliados em 118 e 45 casos	46
5	DISCUSSÃO	47
6	CONCLUSÃO.....	63
7	ANEXOS	66
8	REFERÊNCIAS.....	89

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Descrição das características do receptor, do doador e virológicas nos 45 pacientes incluídos.....	24
Tabela 2- Descrição das características clínicas e laboratoriais de 118 casos	27
Tabela 3 - Acurácia diagnóstica do APRI para prever fibrose clinicamente significativa (METAVIR ≥ 2) em 118 casos, com ponto de corte ≥ 2.62	28
Tabela 4 - Acurácia diagnóstica do índice idade-plaqueta para prever fibrose clinicamente significativa (METAVIR ≥ 2) em 118 casos, com ponto de corte ≥ 7	30
Tabela 5 - Acurácia diagnóstica do escore de Bonacini para prever fibrose clinicamente significativa (METAVIR ≥ 2) em 118 casos, com ponto de corte ≥ 8	31
Tabela 6 - Acurácia diagnóstica do escore de Pohl para prever fibrose clinicamente significativa em 118 casos (METAVIR ≥ 2).....	33
Tabela 7 - Acurácia diagnóstica da razão AST/ALT para prever fibrose clinicamente significativa (METAVIR ≥ 2) em 118 casos, com ponto de corte ≥ 0.89	34
Tabela 8 – Comparação das variáveis clínicas e laboratoriais entre os 118 casos conforme presença de fibrose clinicamente significativa pelo escore METAVIR.....	36
Tabela 9 - Acurácia diagnóstica do APRI para prever fibrose clinicamente significativa (METAVIR ≥ 2) em 45 casos, com ponto de corte $\geq 1,27$	38
Tabela 10 - Acurácia diagnóstica do índice idade-plaqueta para prever fibrose clinicamente significativa (METAVIR ≥ 2) em 45 casos, com ponto de corte ≥ 7	40
Tabela 11 - Acurácia diagnóstica do escore de Bonacini para prever fibrose clinicamente significativa (METAVIR ≥ 2) em 45 casos, com ponto de corte ≥ 8	41

Tabela 12 - Acurácia diagnóstica do escore de Pohl para prever fibrose clinicamente significativa em 45 casos (METAVIR ≥ 2).....	43
Tabela 13 - Acurácia diagnóstica da razão AST/ALT para prever fibrose clinicamente significativa (METAVIR ≥ 2) em 45 casos, com ponto de corte ≥ 0.89	44
Tabela 14 - Acurácia diagnóstica dos marcadores avaliados para prever fibrose clinicamente significativa (METAVIR ≥ 2) em 118 e 45 casos.....	46

Lista de Figuras

Figura 1 –	Fluxograma de avaliação e inclusão de pacientes, no período de janeiro de 2002 a março de 2008	23
Figura 2 –	Fluxograma de avaliação e inclusão de casos, no período de janeiro de 2002 a março de 2008	25
Figura 3 –	Distribuição de 118 casos entre os 45 pacientes incluídos.....	25
Figura 4 –	Distribuição de estágio das biópsias hepáticas segundo METAVIR entre 118 casos avaliados	26
Figura 5 –	Curva ROC (<i>Receiver operating characteristic</i>) do APRI, representando graficamente o seu desempenho diagnóstico em prever fibrose significativa em 118 casos. Área abaixo da curva ROC=0,67 (IC95%: 0,56 até 0,78)	28
Figura 6 –	Curva ROC (<i>Receiver operating characteristic</i>) do índice idade-plaqueta, representando graficamente o seu desempenho diagnóstico em prever fibrose significativa em 118 casos. Área abaixo da curva ROC=0,61 (IC95%: 0,50 até 0,71).....	29
Figura 7 –	Curva ROC (<i>Receiver operating characteristic</i>) do escore de Bonacini representando graficamente o seu desempenho diagnóstico em prever fibrose significativa em 118 casos. Área abaixo da curva ROC=0,68 (IC95%: 0,57 até 0,79)	31
Figura 8 –	Curva ROC (<i>Receiver operating characteristic</i>) do escore de Pohl. para análise gráfica do seu desempenho diagnóstico em prever fibrose significativa em 118 casos. Área abaixo da curva ROC=0,61 (IC95%: 0,53 até 0,69)	32
Figura 9 –	Curva ROC (<i>Receiver operating characteristic</i>) da razão de AST sobre ALT, representando graficamente o seu desempenho diagnóstico em prever fibrose significativa em 118 casos. Área abaixo da curva ROC=0,68 (IC95%: 0,57 até 0,78).....	34
Figura 10 –	Curvas ROC sobrepostas dos marcadores indiretos analisados em 118 casos	35

Figura 11 – Curva ROC (<i>Receiver operating characteristic</i>) do APRI, representando graficamente o seu desempenho diagnóstico em prever fibrose significativa em 45 casos. Área abaixo da curva ROC=0,77 (IC95%: 0,56 até 0,78)	38
Figura 12 – Curva ROC (<i>Receiver operating characteristic</i>) do índice idade-plaqueta, representando graficamente o seu desempenho diagnóstico em prever fibrose significativa em 45 casos. Área abaixo da curva ROC=0,73 (IC95%: 0,58 até 0,88).....	39
Figura 13 – Curva ROC (<i>Receiver operating characteristic</i>) do escore de Bonacini representando graficamente o seu desempenho diagnóstico em prever fibrose significativa em 45 casos. Área abaixo da curva ROC=0,76 (IC95%: 0,61 até 0,91)	41
Figura 14 – Curva ROC (<i>Receiver operating characteristic</i>) do escore de Pohl. para análise gráfica do seu desempenho diagnóstico em prever fibrose significativa em 45 casos. Área abaixo da curva ROC=0,59 (IC95%: 0,47 até 0,71)	42
Figura 15 – Curva ROC (<i>Receiver operating characteristic</i>) da razão de AST sobre ALT, representando graficamente o seu desempenho diagnóstico em prever fibrose significativa em 45 casos. Área abaixo da curva ROC=0,63 (IC95%: 0,47 até 0,80).....	44
Figura 16 – Curvas ROC sobrepostas dos marcadores indiretos analisados para os 45 pacientes	45

Resumo

Schulz RT. *Valor preditivo de marcadores laboratoriais não invasivos para o diagnóstico de fibrose hepática na recidiva da hepatite C crônica pós-transplante de fígado* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2010. 99p.

INTRODUÇÃO E OBJETIVO: Recidiva da hepatite C crônica com progressão acelerada, embora imprevisível, da fibrose é responsável por piora no prognóstico após o transplante de fígado (Tx). Biópsia hepática protocolar é considerada o padrão ouro para estadiamento da fibrose na recidiva da hepatite C pós-Tx. Para superar as limitações da biópsia, principalmente custo e complicações, marcadores simples e não invasivos de fibrose hepática têm sido propostos para pacientes imunocompetentes, porém com escassos estudos disponíveis no contexto pós-Tx. O objetivo desse estudo é avaliar o desempenho diagnóstico dos marcadores não-invasivos para estadiar fibrose hepática em pacientes pós-Tx. **MÉTODOS:** Pacientes consecutivos receptores de Tx com recidiva da hepatite C (n=45) que foram submetidos a 118 biópsias hepáticas foram incluídos. Variáveis laboratoriais dentro de trinta dias de cada biópsia foram consideradas. Índice da razão AST-plaqueta (APRI), razão AST/ALT, Escore discriminativo de Bonacini (EDB), Escore de Pohl e índice idade-plaqueta foram calculados para cada biópsia. Fibrose significativa foi definida como estágio METAVIR ≥ 2 . **RESULTADO:** A área sob a curva ROC (receiver operating characteristic) do Escore discriminativo de Bonacini para prever fibrose significativa foi 0,68, superior aos outros testes avaliados. Utilizando-se o melhor ponto de corte, um valor de Escore discriminativo de Bonacini ≥ 8 foi 42% sensível e 95% específico, com razão de verossimilhança positiva e negativa de 7,98 e 0,62, respectivamente. Análise multivariada identificou razão AST/ALT como preditor independente de fibrose significativa (OR=4.2; CI 95%=1.5-11.4; p -valor=0.005, ponto de corte $\geq 0,89$). Análise adicional considerando apenas uma biópsia por paciente confirmou o desempenho superior do Escore discriminativo de Bonacini em relação aos outros testes avaliados, com uma área sob a curva de 0,76. **CONCLUSÃO:** Escore discriminativo de Bonacini foi o marcador laboratorial não invasivo com melhor desempenho diagnóstico para prever fibrose hepática significativa em pacientes com recidiva de hepatite C crônica pós-Tx.

Descritores: 1. Hepatite C 2. Transplante de fígado 3. Marcadores biológicos 4. Cirrose hepática

Summary

Schulz RT. *Predictive value of simple non-invasive liver fibrosis tests in liver transplant recipients with recurrent hepatitis C* [dissertation]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2010. 99p.

BACKGROUND AND AIM: Recurrent hepatitis C with accelerated, although unpredictable, fibrosis progression accounts for a poor prognosis after liver transplantation (LT). Per protocol liver biopsy is considered the gold standard for fibrosis staging in recurrent hepatitis C after LT to overcome the limitations of liver biopsy, mainly cost and complications, simple non-invasive liver fibrosis tests have been proposed for immunocompetent patients, but few data are available in the post-transplant setting. The aim of this study was to evaluate diagnostic performance of noninvasive tests to stage liver fibrosis in LT setting. **METHOD:** Consecutive LT patients with recurrent hepatitis C (n=45) who have undergone 118 liver biopsies were included. Laboratory variables at the time of biopsies were recorded. AST to platelet ratio index (APRI), AST/ALT ratio, Bonacini discriminant score (BDS), Pohl score and age-platelet index were calculated at the time of biopsies. Significant fibrosis was defined as METAVIR stage ≥ 2 . **RESULT:** The area under the receiver operating characteristic (ROC) curve (AUC) of Bonacini discriminant score for predicting significant fibrosis was 0,68, better than the other non-invasive liver fibrosis tests. Using the best cutoff value, Bonacini discriminant score value ≥ 8 was 42% sensitive and 95% specific, with positive and negative likelihood ratio of 7,98 and 0,62, respectively. Multivariate analysis identified AST/ALT ratio as an independent predictor of significant fibrosis (OR=4.2; CI 95%=1.5-11.4; p -value=0.005, cutoff point $\geq 0,89$). Additional analysis considering only one biopsy per patient confirmed the superior performance of Bonacini discriminant score compared to the other non-invasive liver fibrosis tests, with an AUC of 0,76. **CONCLUSION:** Bonacini discriminant score was the non-invasive liver fibrosis test with the best performance for significant liver transplant patients with recurrent hepatitis C.

Descriptors: 1. Hepatitis C 2. Liver transplantation 3. Biological Markers 4. Liver Cirrhosis

1 INTRODUÇÃO

A doença hepática associada à infecção pelo vírus da hepatite C (VHC) tornou-se a principal indicação para o transplante de fígado (Tx) no mundo.¹ A recidiva da infecção após o transplante, caracterizada pela presença de viremia, ocorre universalmente.² Recidiva histológica, como hepatite crônica, ocorre em aproximadamente metade dos pacientes no primeiro ano pós-Tx,³⁻⁵ ou até mesmo mais precocemente, podendo ocorrer em 40% dos pacientes antes dos primeiros seis meses.⁶ Estudo realizado em nosso meio apresenta porcentagens de recidiva histológica de 24%, 43% e 85% respectivamente em 1, 2 e 5 anos pós-Tx.⁷ As características histopatológicas assemelham-se ao período pré-Tx, encontrando-se inicialmente achados de hepatite aguda, com inflamação lobular, balonização, necrose e apoptose de hepatócitos e esteatose, e posteriormente achados de hepatite crônica, com inflamação portal, necrose hepatocitária periportal e fibrose portal.⁷

Sabe-se, atualmente, que a história natural da recidiva da hepatite C não se apresenta benigna e indolente como estudos mais antigos sugeriam, e tem-se mostrado um curso acelerado,⁸⁻¹⁰ culminando em cirrose em 20% dos pacientes em 5 anos, e em até 50% dos pacientes dentro de 10 anos do Tx.^{11,12} Evidenciou-se que a recidiva da hepatite C apresentou evolução mais rapidamente progressiva no final dos anos noventa, em comparação aos pacientes transplantados no início daquela década. A taxa média de

progressão da fibrose está entre 0,3 e 0,6 estágio ao ano pós-Tx, comparada a 0,1 a 0,2 estágio ao ano em pacientes imunocompetentes com VHC.¹³ A recidiva da hepatite C resulta, assim, em risco aumentado para óbito ou re-Tx por insuficiência hepática.^{14,15} Não existe, entretanto, uma evolução uniforme e homogênea da fibrose hepática nos pacientes com hepatite C recidivada pós-Tx, havendo inclusive pacientes nos quais a fibrose evolui de forma mais lenta (“fibrosadores lentos”) ou mesmo não evolui.⁷ Como fator de proteção contra a evolução da fibrose em estudo verificando especialmente as variáveis histopatológicas, encontrou-se que esteatose hepática à biópsia de um mês e um ano pós-Tx mostrou-se mais intensa nos “fibrosadores lentos” se comparada aos “fibrosadores rápidos”.⁷

Diversos estudos demonstram que não há relação direta entre alteração de enzimas hepáticas e evolução da lesão histológica na recidiva do VHC pós-Tx.¹⁴ Desta maneira, a monitorização da recidiva tem sido realizada por biópsias programadas. Atualmente, biópsias seriadas protocolares pós-Tx são realizadas a depender da rotina da instituição. O principal objetivo dessa vigilância é determinar o momento para indicação de tratamento específico.¹³

Os pacientes receptores de transplante por hepatite C do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) recebem atendimento em um ambulatório específico do Serviço de Transplante de Fígado Adulto, que estabelece a rotina da conduta em relação às biópsias hepáticas e posterior tratamento da recidiva da hepatite C.^{16,17} Protocolo deste ambulatório recomenda realizar biópsia semestralmente no

primeiro ano pós-Tx, anualmente entre o primeiro e o quinto ano, e após cinco anos de Tx, a cada triênio, e/ou em caso de elevação de enzimas hepáticas. O tratamento é indicado se à análise histopatológica houver fibrose METAVIR F2 ou mais e/ou atividade inflamatória peri-portal A3 ou mais.

A biópsia hepática, embora permaneça como padrão-ouro para a determinação da fibrose e da avaliação da presença e gravidade da hepatite associada à recidiva do VHC,^{18,19} apresenta custo elevado e um risco pequeno, porém definido, de complicações inerentes ao procedimento.^{20,21} As complicações significantes, definidas como as que requerem admissão hospitalar ou estadia prolongada no hospital, ocorrem em 1-5% dos pacientes, com uma taxa de mortalidade entre 1:1.000 e 1:10.000.²²⁻²⁵ Existe também a possibilidade de erro amostral e discrepâncias intra e inter-observador.²⁶⁻³¹ Quando se abordam pacientes em um cenário pós-Tx, nos quais múltiplas e repetidas biópsias hepáticas são frequentemente necessárias, o risco potencial de complicações multiplica-se. Além disso, alguns pacientes relutam em se submeter ao procedimento, o que pode limitar a capacidade de monitorizar a progressão da doença hepática e os efeitos do tratamento proposto.²²⁻²⁵

Devido a esses fatores houve estímulo para o estudo de outras formas de se avaliar fibrose hepática, denominados genericamente de marcadores não-invasivos. Os marcadores mais estudados clinicamente podem ser classificados em laboratoriais e não-laboratoriais. Estes últimos apresentam custo operacional elevado e disponibilidade ainda limitada, em virtude do emprego de tecnologia que permite estimar o grau de fibrose

hepática, por exemplo por elastografia transitória ou FibroScan® (Echosens, Paris, França).³² O FibroScan® efetua disparos indolores de vibração de pequena amplitude e baixa frequência (50 Hz), transmitidas através de um transdutor de ultrassom posicionado na pele, em topografia de lobo direito do fígado, gerando ondas propagadas no parênquima hepático, cuja velocidade está diretamente relacionada à elasticidade do tecido.³³ A amostragem correspondente de tecido hepático analisada equivale a aproximadamente um cilindro de 1cm de largura por 4cm de profundidade, com um volume no mínimo cem vezes maior do que um fragmento de biópsia hepática.³⁴ Encontrou-se correlação direta entre a medida da elasticidade hepática e a medida do gradiente de pressão venosa hepática em uma população pós-Tx.³² A aferição da elasticidade hepática, no entanto, possui algumas limitações, principalmente em pacientes obesos e naqueles com espaço intercostal estreito, e é impossível nos pacientes com ascite, além do elevado custo operacional.³³ Outro fator que pode interferir na elastografia é a sua suscetibilidade às exacerbações em pacientes com hepatite crônica ou mesmo em pacientes com hepatite aguda viral sem evidência de hepatopatia crônica, nos quais há elevação da elasticidade hepática sem relação com aumento da fibrose.³⁵

Os marcadores laboratoriais, mais simples e de custo mais baixo em relação aos não-laboratoriais, podem ser divididos em indiretos ou diretos. Os diretos, também denominados biomarcadores, utilizam a avaliação direta de citocinas que participam do processo de fibrogênese (fator de necrose tumoral, por exemplo), assim como de componentes da matriz extracelular

no soro, por exemplo ácido hialurônico, colágeno IV, metaloproteinases e inibidores das metaloproteinases.³⁶ Sugeriu-se a predição de evolução acelerada da fibrose pós-Tx pela dosagem do ácido hialurônico nos primeiros seis meses.³⁷ Esses biomarcadores podem ser utilizados isoladamente ou em combinação com outros marcadores diretos (por exemplo, Fibrospect[®], que combina dosagem de ácido hialurônico, alfa-2-macroglobulina e Inibidores teciduais das metaloproteinases da matriz do tipo-1) ou indiretos (por exemplo, Fibrotest[®], que utiliza bilirrubinas, gamaglutamiltransferase, apolipoproteína A1, alfa-2-macroglobulina e haptoglobina para compor o teste). Apesar de simples, os marcadores diretos apresentam disponibilidade ainda limitada e acurácia diagnóstica similar aos marcadores laboratoriais indiretos.³⁸⁻⁴⁰

Marcadores laboratoriais indiretos não invasivos de fibrose hepática derivados de testes bioquímicos e hematológicos mensurados no plasma ou soro têm sido propostos para uso na prática clínica para pacientes não transplantados.⁴¹⁻⁴⁴ Esses marcadores, derivados matematicamente a partir de parâmetros utilizados na prática clínica rotineira, atraíram interesse por serem métodos de baixo custo que intencionam predizer o grau de fibrose hepática, sem agregar exames adicionais ou utilizar tecnologia específica complementar. Evidenciou-se que o nível da aspartato aminotransferase (AST) e a contagem de plaquetas foram os mais importantes preditores para fibrose significativa (estádio METAVIR maior ou igual a F2) e cirrose, e, amplificando os efeitos opostos da fibrose hepática sobre cada marcador, desenvolveu-se o índice da razão AST sobre contagem de plaquetas,

conhecido como APRI (*AST to platelet ratio index*).^{45,46} Esse índice, simples e prontamente disponível, pode identificar pacientes com hepatite C crônica que apresentam cirrose e fibrose significativa com alto grau de acurácia,⁴⁵ e sua utilização tem sido expandida para outros contextos, como, por exemplo, em pacientes com hepatite C crônica em hemodiálise,⁴⁷ hepatopatia alcoólica⁴⁶ e hepatite B crônica,⁴⁸ com resultados promissores. Outros índices e escores que utilizam parâmetros laboratoriais foram descritos, como a razão AST/ALT, o escore discriminante de cirrose (escore de Bonacini), o índice idade-plaqueta, a contagem de plaqueta *per se*, o índice de fibrose de Forns e o escore de Pohl, embora com resultados discrepantes quando avaliados em diferentes populações.^{42,43,49-58} A razão AST/ALT tem sido utilizada como parâmetro para estimar o estágio de fibrose, inicialmente com resultados promissores, porém que não se confirmaram em estudos posteriores, com baixa sensibilidade quando utilizada isoladamente.⁴⁹⁻⁵¹ Forns *et al.* introduziram um índice de fibrose em um estudo restrito a pacientes com hepatite C, utilizando quatro variáveis (idade, contagem de plaquetas, gamaglutamil transferase e nível de colesterol), com bom desempenho para excluir fibrose mínima (METAVIR F0-1), embora com limitado desempenho diagnóstico para fibrose mais avançada.⁴⁵ Pohl *et al.*, também estudando uma população com hepatite C crônica, combinaram a medida das aminotransferases, sob a forma da razão AST/ALT, à contagem de plaquetas, obtendo para os pacientes sem história de abuso de álcool correlação para a detecção de estágios avançados de fibrose (METAVIR F3-4), com valor preditivo positivo acima de 90%.⁴³ Bonacini *et al.* também

utilizaram um escore para prever o estágio de fibrose, porém acrescentaram tempo de protrombina à contagem de plaquetas e relação ALT/AST, atingindo uma especificidade de 98% e sensibilidade de 46%, mas sem relatarem os valores preditivos.⁴² Poynard *et al.* identificaram como variáveis independentes preditoras da presença de fibrose a contagem de plaquetas e a idade, em pacientes infectados com o VHC.⁴⁴

A utilização de marcadores laboratoriais indiretos tem sido alvo de escassos estudos na população pós-Tx com recidiva do VHC.^{59, 60, 67-70} Devido ao comportamento agressivo da evolução e progressão da fibrose, são necessários estudos adicionais para melhor avaliar o desempenho dos marcadores indiretos nestes pacientes.

De maneira geral, o interesse pela monitorização da progressão da fibrose utilizando marcadores simples e não invasivos advém da possibilidade de racionalização dos protocolos de biópsias, reservando-se a realização dessas para casos selecionados, nos quais há predição de fibrose significativa, ou quando houver necessidade de estabelecimento de diagnóstico diferencial ou exclusão de outras causas de lesão hepática. Por outro lado, no contexto do Tx, há o potencial benefício adicional de permitir a monitorização da progressão da fibrose a intervalos mais curtos, possibilitando a detecção desta progressão mais precocemente. Desse modo, a informação obtida a partir do resultado da aplicação dos marcadores indiretos permitiria selecionar os pacientes para biópsia hepática de maneira antecipada.⁶¹ Consequentemente, a utilização desses marcadores poderia promover um início mais precoce da terapia antiviral.

A recidiva da hepatite C constitui, portanto, causa frequente de morbidade no contexto do Tx e, sendo a gravidade e a progressão da doença altamente variáveis, não há até o momento nenhum marcador isolado ou combinação de variáveis preditoras da sua progressão.¹ A utilidade e a importância clínica desses marcadores permanece pouco investigada até o momento.^{59, 60} Devido às limitações e aos riscos inerentes à realização de biópsia hepática, à alta taxa de reinfecção pelo VHC pós-Tx, às particularidades da evolução da hepatite C nessa população e à relevância da determinação da fibrose hepática para fins de decisão terapêutica, é importante investigar o papel de possíveis marcadores laboratoriais indiretos para o diagnóstico não invasivo de fibrose hepática em pacientes submetidos ao Tx.

2 OBJETIVO

Avaliar a acurácia diagnóstica de marcadores laboratoriais não invasivos indiretos para a predição do estadiamento histológico de fibrose hepática em uma coorte de pacientes receptores de transplante de fígado com recidiva da hepatite C crônica.

3 MÉTODOS

3.1 Ética

Esse estudo foi aprovado pela Comissão para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

3.2 Seleção dos casos

Estudo retrospectivo, incluindo pacientes adultos consecutivos em acompanhamento no Ambulatório do Serviço de Transplante de Fígado Adulto do HCFMUSP, submetidos a Tx no período de janeiro de 2002 a março de 2008 por cirrose devido à hepatite C, com no mínimo uma biópsia hepática percutânea e apresentando diagnóstico de recidiva histológica de hepatite C crônica. A indicação para realização da biópsia hepática seguiu os critérios do protocolo do Ambulatório do Serviço de Transplante de Fígado Adulto do HCFMUSP, que recomenda realizar biópsia hepática semestralmente no primeiro ano pós-Tx, anualmente entre o primeiro e o quinto ano, e, após cinco anos de Tx, a cada triênio, e/ou em caso de elevação de enzimas hepáticas. Critérios de exclusão: abuso de álcool pós-Tx (consumo de etanol > 50g/dia), coinfeção com vírus da hepatite B (VHB)

e/ou vírus da imunodeficiência humana (HIV) e amostra insuficiente de tecido hepático para estadiamento da fibrose à biópsia.

Consideraram-se para fins de análise inicial os dados de cada espécime de biópsia como correspondente a um caso individual. Dessa forma, um paciente pôde contribuir com uma ou mais biópsias (espécimes), correspondendo respectivamente a um ou mais casos. Quando havia duas ou mais biópsias de um mesmo paciente em um intervalo inferior a trinta dias, apenas a primeira biópsia desta série foi incluída. Biópsias realizadas há menos de trinta dias do Tx também foram excluídas.

À análise inicial seguiu-se análise adicional restrita, em que foi considerada apenas uma biópsia por paciente. Para os pacientes com mais de uma biópsia, selecionou-se para análise a biópsia com maior intervalo de tempo pós-Tx, e, naqueles submetidos a tratamento, a amostra pré-terapia antiviral.

3.3 Dados epidemiológicos e clínicos

As informações demográficas e variáveis clínicas referentes aos pacientes em acompanhamento ambulatorial, aos doadores e às condições do Tx foram extraídas, pelo investigador, dos prontuários médicos, das fichas de doadores da O.P.O. (Organização de Procura de Órgãos) e das fichas de transplante do serviço, respectivamente.

Os seguintes dados foram extraídos por paciente: gênero, idade do doador (anos), idade do receptor (anos), genótipo do VHC, intervalo de tempo pós-Tx da primeira biópsia com recidiva de hepatite C (meses), imunossupressão utilizada, índice de massa corpórea (kg/m^2) e indicação do Tx (VHC; VHC e hepatocarcinoma; VHC e etilismo; VHC, etilismo e hepatocarcinoma).

Os seguintes dados foram coletados por caso (biópsia): idade (anos), intervalo de tempo pós-Tx (meses) e IMC (kg/m^2).

3.4 Dados laboratoriais

Os dados laboratoriais ou derivados destes foram extraídos dos prontuários médicos e do sistema informatizado da Divisão de Laboratório Central do HCFMUSP.

Níveis séricos de alanina aminotransferase (ALT) e AST foram expressos como razão do limite superior do normal (LSN), e fosfatase alcalina (FA), gamaglutamiltransferase (GGT), bilirrubina total (BT), creatinina, glicemia em jejum, contagem de plaquetas, sódio (Na), RNI (razão normatizada internacional) e tempo de protrombina foram expressos como valores absolutos. Apenas testes laboratoriais realizados dentro de 30 dias da data da biópsia hepática foram utilizados, com exceção do genótipo do VHC. Se mais de um conjunto de testes laboratoriais estivesse disponível, os resultados com data de coleta mais próxima da realização da biópsia foram utilizados.

3.5 Marcadores indiretos de fibrose hepática

Os seguintes marcadores foram avaliados:

- Índice da razão AST-plaqueta (APRI, *AST to Platelet Ratio Index*), definido como:

$$[(AST/LSN) / \text{contagem de plaquetas } (10^9/L)] \times 100.^{45}$$

- Razão AST/ALT.
- Escore discriminante de Bonacini (EDB), derivado da contagem de plaquetas, razão ALT/AST e RNI, categorizados de acordo com limites pré-determinados:

Contagem de plaquetas ($10^9/L$): $>340 = 0$; $280-339 = 1$; $220-279 = 2$;

$160-219 = 3$; $100-159 = 4$; $40-99 = 5$; $<40 = 6$;

ALT/AST: $>1.7 = 0$; $1.2-1.7 = 1$; $0.6-1.19 = 2$; $<0.6 = 3$;

RNI : $<1.1 = 0$; $1.1-1.4 = 1$; $>1.4 = 2$.

A soma dos resultados acima corresponde ao EDB.⁴²

- Índice idade-plaqueta⁴⁴, calculado pela soma dos resultados abaixo:

Idade (anos): $<30 = 0$; $30-39 = 1$; $40-49 = 2$; $50-59 = 3$; $60-69 = 4$;

$\geq 70 = 5$;

Contagem de plaquetas ($10^9/L$): $\geq 225 = 0$; $200-224 = 1$; $175-199 = 2$;

$150-174 = 3$; $125-149 = 4$; $<125 = 5$.

- Escore de Pohl, sendo considerado escore positivo se $AST/ALT \geq 1$ e contagem de plaquetas $<150 (10^9/L)$.⁴³

3.6 Análise histológica

Um único patologista experiente, sem informações clínico-laboratoriais, avaliou todas as lâminas dos casos incluídos no estudo, sendo que os espécimes, previamente fixados em formol a 10%, foram emblocados em parafina e corados pelos métodos de hematoxilina e eosina e colorações especiais para avaliação de fibrose - tricrômico de Masson para avaliação de deposição de colágeno tipo I e reticulina para avaliação de deposição de colágeno tipo III. A amostra, obtida através de biópsia hepática percutânea realizada com agulha *Tru-Cut 14-gauge*, foi considerada suficiente para análise se apresentasse espécime de tamanho $\geq 15\text{mm}$ e número de espaços porta ≥ 6 . As características histológicas das biópsias hepáticas foram avaliadas segundo o sistema de escore do grupo METAVIR para fibrose.^{62,63} A fibrose foi estadiada, segundo o METAVIR, em uma escala de F0 a F4, como o seguinte: F0 = ausência de fibrose, F1 = fibrose portal sem septo de fibrose, F2 = poucos septos, F3 = numerosos septos, sem cirrose, e F4 = cirrose.

3.7 Definições

3.7.1. *Infecção pelo VHC pré-transplante*: presença de sorologia positiva (ELISA - *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) e viremia no período pré-Tx, detectada por ensaio de PCR (*polymerase chain reaction*) positivo ($>50\text{ IU/mL}$) para o VHC.

3.7.2. *Recidiva da infecção pelo VHC*: presença de viremia no período pós-Tx, detectada por ensaio de PCR positivo (>50 IU/mL) para o VHC.

3.7.3. *Recidiva histológica pelo VHC*: presença de características histopatológicas típicas de hepatite crônica pelo VHC à biópsia hepática no período pós-Tx (fibrose, inflamação portal, atividade inflamatória periportal e lobular), em paciente com recidiva da infecção pelo VHC.

3.7.4. *Fibrose clinicamente significativa*: presença de estádios METAVIR F2, F3 ou F4.

3.7.5. *Fibrose avançada*: presença de estádios METAVIR F3 ou F4.

3.7.6. *Cirrose*: presença de estágio METAVIR F4.

3.8 Tratamento Estatístico

3.8.1 Desfecho

O seguinte desfecho foi analisado: fibrose clinicamente significativa.

3.8.2 Variáveis Analisadas:

As seguintes variáveis, por caso, foram incluídas para análise:

- idade do receptor (anos),
- índice de massa corpórea (IMC, kg/m²),

- intervalo de tempo entre a biópsia e o Tx (meses),
- contagem de plaquetas (x1000),
- bilirrubina total (mg/dL),
- sódio sérico (mEq/L),
- glicemia em jejum (mg/dL),
- atividade da protrombina (segundos acima do normal e RNI - razão normalizada internacional),
- alanina aminotransferase (UI/L x LSN),
- aspartato aminotransferase (UI/L x LSN),
- fosfatase alcalina (UI/L),
- gamaglutamiltransferase (UI/L),
- creatinina (mg/dL).

3.8.3 Análise Estatística

A distribuição das variáveis contínuas foi avaliada visualmente pela inspeção de gráficos de caixa, e estatisticamente através do teste de skweness-kurtosis. Uma distribuição normal foi rejeitada quando a inspeção do gráfico de caixa identificou assimetria e/ou observações com valores extremos, e/ou o teste de skweness-kurtosis resultou em um valor de $p < 0.05$. As variáveis contínuas foram comparadas entre os grupos de pacientes com escore de fibrose METAVIR ≥ 2 e < 2 através do teste t para duas amostras bicaudal, quando suas distribuições foram identificadas como normais, e pelo teste da soma dos postos de Wilcoxon quando sua normalidade foi rejeitada.

As variáveis categóricas foram comparadas entre esses dois grupos de pacientes através do teste do qui-quadrado. Valores de $p < 0.05$ foram considerados como estatisticamente significantes.

Fibrose clinicamente significativa (METAVIR ≥ 2) foi a referência para a construção de gráficos (curvas) ROC (*receiver operating characteristics* – curva de características operacionais) para APRI, índice idade plaqueta, EDB, escore de Pohl e razão AST/ALT. As áreas abaixo de cada curva ROC e seus respectivos intervalos de confiança de 95% foram calculados conforme método não-paramétrico proposto por DeLong, DeLong e Clarke-Pearson.⁶⁴ As áreas abaixo das curvas ROC dos escores contínuos foram comparadas através do método não-paramétrico também proposto por DeLong, DeLong e Clarke-Pearson.

Com base nas análises das curvas ROC, um ponto de corte para os escores contínuos foi definido para a obtenção da maior sensibilidade e especificidade possíveis. A sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo (VPP) e negativo (VPN) e as razões de verossimilhança positiva e negativa, juntamente com seus respectivos intervalos de confiança de 95%, foram obtidos para todos os escores e baseando-se no ponto de corte obtido como descrito anteriormente para os escores contínuos.

Regressão logística foi utilizada para tentar identificar um modelo adicional aos escores avaliados que pudesse prever fibrose hepática pós-transplante clinicamente significativa.

As variáveis independentes incluídas no modelo inicial foram: idade, gênero, tempo pós-transplante, IMC, BT, creatinina, FA, GGT, glicemia em

jejum, contagem de plaquetas, Na, atividade de protrombina (RNI e segundos acima do limite superior), AST/ALT. Todas as variáveis contínuas foram incluídas no modelo sem nenhuma outra transformação. Termos de interação não foram incluídos no modelo inicial.

A escolha do modelo final foi realizada através de um algoritmo passo-a-passo de eliminação retrógrada. Em cada estágio, a variável com a menor significância estatística, definida pelo valor- p obtido através do teste de Wald, sendo que $p > 0.1$, era eliminada do modelo. O procedimento de eliminação de variáveis era descontinuado no estágio em que todas as variáveis apresentavam um valor de $p < 0.1$.

Para ajustar para a correlação intraclasse das múltiplas biópsias provenientes de um mesmo paciente, a análise de regressão logística utilizou erros-padrão robustos de Huber-White.^{65,66} Foi realizada análise adicional restrita considerando-se apenas uma biópsia por paciente. A biópsia considerada foi aquela realizada com maior tempo pós-Tx. Entretanto, no caso de paciente submetido a tratamento antiviral pós-Tx, foi escolhida a biópsia imediatamente anterior ao início do tratamento.

Todas as análises foram realizadas com o programa de análises estatísticas stata 10 (StataCorp. 2007. *Stata Statistical Software: Release 10*. College Station, TX: StataCorp LP.)

4 RESULTADOS

4.1 Casuística

Foram submetidos a Tx 223 pacientes adultos no período de janeiro de 2002 a março de 2008. Desses, 178 foram excluídos (Figura 1).

VHB: vírus da hepatite B; HAI: hepatite auto-imune; CBP: cirrose biliar primária; CEP: colangite esclerosante primária

Figura 1 – Fluxograma de avaliação e inclusão de pacientes, no período de janeiro de 2002 a março de 2008

A caracterização dos 45 pacientes transplantados incluídos está descrita na Tabela 1.

Tabela 1 - Descrição das características do receptor, do doador e virológicas nos 45 pacientes incluídos

Variáveis contínuas	Min	p50	Max
Idade receptor	26,1	51,9	66,9
Idade doador	15	48	72
Tempo pós-Tx primeira bx (meses)	1,5	8,5	42,1
IMC	19	25	38
Plaquetas pré-Tx (x1000)	18	64	282
Variáveis ordenadas	(%)		
Gênero (masculino)	68,9		
Genótipo 1	62,2		
Imunossupressão			
Tac	66,7		
CyS	2,2		
Tac+ Aza	2,2		
Tac+MMF	22,2		
Tac+MYF	6,7		
Indicação Tx			
VHC	51,1		
VHC+CHC	37,8		
VHC+EtOH	8,9		
VHC+CHC+EtOH	2,2		

Tx:transplante de fígado; bx:biópsia hepática; Tac:tacrolimus; CyS:ciclosporina; Aza:azatioprina; MMF:micofenolato mofetil; MYF:micofenolato sódico; IMC:índice de massa corpórea; CHC:hepatocarcinoma; EtOH:abuso de bebida alcoólica

4.2 Análise de 118 biópsias derivadas de 45 pacientes

Os 45 pacientes incluídos no estudo resultaram em 225 biópsias que foram avaliadas, sendo então 118 incluídas para análise como casos independentes (Figura 2).

Figura 2 – Fluxograma de avaliação e inclusão de casos, no período de janeiro de 2002 a março de 2008

A proporção de pacientes de acordo com o número de biópsias consta na Figura 3.

Figura 3 – Distribuição de 118 casos entre os 45 pacientes incluídos

A distribuição do estágio de fibrose segundo METAVIR está demonstrada na Figura 4

Figura 4 – Distribuição de estágio das biópsias hepáticas segundo METAVIR entre 118 casos avaliados

Houve predomínio do gênero masculino, com 71,2% dos casos. A distribuição das demais características analisadas em relação ao total de casos incluídos segue na Tabela 2.

Tabela 2- Descrição das características clínicas e laboratoriais de 118 casos

Característica	Mín	p25	p50	p75	Máx
Idade	26,1	42,1	53,35	59,1	68,3
Tempo pós-transplante (meses)	1,5	7,5	12,75	26,8	59
IMC	18	22	25	28	38
BT	0,28	0,63	0,875	1,25	55,8
Creatinina	0,58	0,98	1,17	1,43	6,32
FA	48	83	116	187	1027
GGT	15	77	183,5	378	2851
Glicemia	22	91	103	125	395
Plaquetas (x1000)	18	80	114,5	192	476
Na	131	138	140	141	147
INR	0,95	1	1,1	1,2	5,6
TP	0	0	1,1	2,3	53,3
AST	0,43	1,26	1,96	3,27	48,4
ALT	0,29	1,7	2,695	4,62	14

IMC:índice de massa corpórea; AST/ALT:razão de aspartato aminotransferase sobre alanina aminotransferase; FA:fosfatase alcalina; GGT:gamaglutamil transferase; BT:bilirrubina total; Na:sódio sérico; INR:razão normalizada internacional; TP: tempo (segundos) acima do limite superior de normalidade do tempo de protrombina.

4.2.1 Avaliação da acurácia diagnóstica para fibrose clinicamente significante dos marcadores indiretos laboratoriais analisados

4.2.1.1 APRI

A curva ROC do APRI como preditor de fibrose significativa é descrita na Figura 5. O ponto de corte foi definido em 2,62, obtendo-se as maiores sensibilidade e especificidade possíveis, e o desempenho do teste está demonstrado na Tabela 3.

Figura 5 – Curva ROC (*Receiver operating characteristic*) do APRI, representando graficamente o seu desempenho diagnóstico em prever fibrose significativa em 118 casos. Área abaixo da curva ROC=0,67 (IC95%: 0,56 até 0,78)

Tabela 3 - Acurácia diagnóstica do APRI para prever fibrose clinicamente significativa (METAVIR ≥ 2) em 118 casos, com ponto de corte ≥ 2.62

Característica do teste	Desempenho	IC 95%	
Sensibilidade	0,59	0,42	0,74
Especificidade	0,78	0,67	0,87
Razão de verossimilhança positiva	2,65	1,62	4,34
Razão de verossimilhança negativa	0,53	0,36	0,78
VPP	0,59	0,42	0,74
VPN	0,78	0,67	0,87

VPP:valor preditivo positivo, VPN:valor preditivo negativo

4.2.1.2 Índice idade-plaqueta

A Figura 6 e a Tabela 4 representam o desempenho do índice idade-plaqueta para prever fibrose significativa, utilizando ponto de corte em 7 para as maiores sensibilidade e especificidade possíveis.

Figura 6 – Curva ROC (*Receiver operating characteristic*) do índice idade-plaqueta, representando graficamente o seu desempenho diagnóstico em prever fibrose significativa em 118 casos. Área abaixo da curva ROC=0,61 (IC95%: 0,50 até 0,71).

Tabela 4 - Acurácia diagnóstica do índice idade-plaqueta para predizer fibrose clinicamente significativa (METAVIR ≥ 2) em 118 casos, com ponto de corte ≥ 7

Característica do teste	Desempenho	IC 95%	
Sensibilidade	0,59	0,42	0,74
Especificidade	0,57	0,45	0,68
Razão de verossimilhança positiva	1,37	0,95	1,97
Razão de verossimilhança negativa	0,73	0,48	1,10
VPP	0,42	0,29	0,56
VPN	0,72	0,59	0,83

VPP=valor preditivo positivo, VPN=valor preditivo negativo

4.2.1.3 Escore de Bonacini

O desempenho do escore de Bonacini para predizer fibrose significativa é descrito na Figura 7 e na Tabela 5, com 8 como ponto de corte obtendo-se as maiores sensibilidade e especificidade possíveis..

Figura 7 – Curva ROC (*Receiver operating characteristic*) do escore de Bonacini representando graficamente o seu desempenho diagnóstico em prever fibrose significativa em 118 casos. Área abaixo da curva ROC=0,68 (IC95%: 0,57 até 0,79)

Tabela 5 - Acurácia diagnóstica do escore de Bonacini para prever fibrose clinicamente significativa (METAVIR ≥ 2) em 118 casos, com ponto de corte ≥ 8

Característica do teste	Desempenho	IC 95%	
Sensibilidade	0,42	0,26	0,58
Especificidade	0,95	0,87	0,99
Razão de verossimilhança positiva	7,98	2,87	22,20
Razão de verossimilhança negativa	0,62	0,48	0,80
VPP	0,81	0,58	0,95
VPN	0,75	0,66	0,84

VPP=valor preditivo positivo, VPN=valor preditivo negativo

4.2.1.4 Escore de Pohl

A Figura 8 demonstra a curva ROC referente ao desempenho do escore de Pohl para prever fibrose significativa, e sua respectiva acurácia é descrita na Tabela 6.

Figura 8 – Curva ROC (*Receiver operating characteristic*) do escore de Pohl. para análise gráfica do seu desempenho diagnóstico em prever fibrose significativa em 118 casos. Área abaixo da curva ROC=0,61 (IC95%: 0,53 até 0,69)

Tabela 6 - Acurácia diagnóstica do escore de Pohl para predizer fibrose clinicamente significativa em 118 casos (METAVIR ≥ 2)

Característica do teste	Desempenho	IC 95%	
Sensibilidade	0,32	0,18	0,48
Especificidade	0,90	0,81	0,95
Razão de verossimilhança positiva	3,05	1,38	6,76
Razão de verossimilhança negativa	0,76	0,61	0,95
VPP	0,62	0,38	0,82
VPN	0,71	0,61	0,80

VPP=valor preditivo positivo, VPN=valor preditivo negativo

4.2.1.5 Razão AST/ALT

O desempenho da razão de AST sobre ALT para predizer fibrose significativa é descrito na Figura 9 e na Tabela 7, com ponto de corte em 0,89 para se obterem as maiores sensibilidade e especificidade possíveis..

Figura 9 – Curva ROC (*Receiver operating characteristic*) da razão de AST sobre ALT, representando graficamente o seu desempenho diagnóstico em prever fibrose significativa em 118 casos. Área abaixo da curva ROC=0,68 (IC95%: 0,57 até 0,78)

Tabela 7 - Acurácia diagnóstica da razão AST/ALT para prever fibrose clinicamente significativa (METAVIR ≥ 2) em 118 casos, com ponto de corte ≥ 0.89

Característica do teste	Desempenho	IC 95%	
Sensibilidade	0,46	0,31	0,63
Especificidade	0,82	0,71	0,90
Razão de verossimilhança positiva	2,55	1,43	4,54
Razão de verossimilhança negativa	0,66	0,48	0,89
VPP	0,58	0,39	0,75
VPN	0,74	0,64	0,83

VPP=valor preditivo positivo, VPN=valor preditivo negativo

4.2.1.6 Análise comparativa das curvas ROC dos marcadores indiretos laboratoriais em 118 casos

A análise comparativa das curvas ROC dos marcadores analisados não demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os índices ($p=0.55$; figura.10).

Figura 10 – Curvas ROC sobrepostas dos marcadores indiretos analisados em 118 casos

4.2.2 Análise de variáveis associadas a fibrose clinicamente significativa em 118 casos

Os 118 casos foram comparados conforme a presença ou não de fibrose clinicamente significativa (METAVIR $\geq$ 2), encontrando-se as variáveis contagem de plaquetas e AST como estatisticamente significativos em análise univariada (Tabela 8).

Tabela 8 – Comparação das variáveis clínicas e laboratoriais entre os 118 casos conforme presença de fibrose clinicamente significativa pelo escore METAVIR

Fibrose	METAVIR $\geq$ 2 (n=4)					METAVIR <2 (n=77)					Valor-P*
	Mín	p25	p50	p75	Máx	Mín	p25	p50	p75	Máx	
Idade	26,8	40,9	52,9	61,5	68,3	26,1	43	53,7	58,7	67,7	0,91
Tempo pós-transplante (meses)	1,5	7,4	12,3	29,5	59	2	7,9	14,3	26,8	51,3	0,8
IMC	19	22	24	28	33	18	23	25	28	38	0,21
BT	0,28	0,55	0,8	1,2	55,8	0,33	0,66	0,9	1,25	17,4	0,31
Creatinina	0,61	0,92	1,11	1,42	6,32	0,58	1	1,19	1,43	2,2	0,48
FA	51	91	118	172	1027	48	82	115	194	649	0,65
GGT	21	84	183	473	1268	15	71	188	341	2851	0,66
Glicemia	22	88	103	123	181	74	93	103	126	395	0,19
Plaquetas (x1000)	36	79	97	122	476	18	85	126	199	356	0,046**
Na	131	138	139	141	145	132	138	140	142	147	0,42
INR	0,95	1	1,19	1,2	5,6	0,95	1	1,1	1,2	2,22	0,14
TP	0	0	1,6	2,6	53,3	0	0	0,5	2,4	77	0,23
AST	0,78	1,6	2,84	4,27	48,4	0,43	1,26	1,59	2,92	7,07	0,01**
ALT	0,68	1,73	2,76	5,65	10,1	0,29	1,7	2,65	3,65	14	0,54

*Teste da soma dos postos de Wilcoxon bicaudal.

** $p < 0,05$

IMC: índice de massa corpórea; AST/ALT: razão de aspartato aminotransferase sobre alanina aminotransferase; FA: fosfatase alcalina; GGT: gamaglutamil transferase; BT: bilirrubina total; Na: sódio sérico; INR: razão normalizada internacional; TP: tempo (segundos) acima do limite superior de normalidade do tempo de protrombina.

Houve predomínio do gênero masculino tanto no grupo sem fibrose clinicamente significativa (65,85%) como no grupo com fibrose clinicamente significativa (74%), sem diferença estatisticamente significativa ($p=0,35$, teste do Qui-Quadrado).

A única variável incluída no modelo final de regressão logística foi *AST/ALT*, com um coeficiente igual a 1.92 (IC 95%= 0.63 até 3.2; valor- $p=0.004$).

Utilizou-se o ponto de corte encontrado para o escore *AST/ALT* de 0.89, para categorizar a variável *AST/ALT* e reestimar o modelo final. Observou-se que o *odds* de fibrose hepática clinicamente significativa entre os pacientes com $AST/ALT \geq 0.89$ foi 4.2 vezes maior do que o *odds* entre os pacientes com $AST/ALT < 0.89$ (OR=4.2; IC 95%=1.5 até 11.4; valor- $p=0.005$).

4.3 Análise restrita a 45 biópsias de 45 pacientes

4.3.1 Avaliação da acurácia diagnóstica para fibrose clinicamente significativa dos marcadores indiretos laboratoriais analisados

4.3.1.1 APRI

A curva ROC do APRI como preditor de fibrose significativa é descrita na Figura 11. O ponto de corte foi definido em 1,27, obtendo-se as maiores sensibilidade e especificidade possíveis, e o desempenho do teste está demonstrado na Tabela 9.

Figura 11 – Curva ROC (*Receiver operating characteristic*) do APRI, representando graficamente o seu desempenho diagnóstico em prever fibrose significativa em 45 casos. Área abaixo da curva ROC=0,77 (IC95%: 0,56 até 0,78)

Tabela 9 - Acurácia diagnóstica do APRI para prever fibrose clinicamente significativa (METAVIR ≥ 2) em 45 casos, com ponto de corte $\geq 1,27$

Característica do teste	Desempenho	IC 95%	
Sensibilidade	0,70	0,46	0,88
Especificidade	0,60	0,39	0,79
Razão de verossimilhança positiva	1,75	1,00	3,06
Razão de verossimilhança negativa	0,50	0,24	1,05
VPP	0,58	0,37	0,78
VPN	0,71	0,48	0,89

VPP=valor preditivo positivo, VPN=valor preditivo negativo

4.3.1.2 Índice idade-plaqueta

A Figura 12 e a Tabela 10 representam o desempenho do índice idade-plaqueta para prever fibrose significativa, utilizando ponto de corte em 7 para as maiores sensibilidade e especificidade possíveis.

Figura 12 – Curva ROC (*Receiver operating characteristic*) do índice idade-plaqueta, representando graficamente o seu desempenho diagnóstico em prever fibrose significativa em 45 casos. Área abaixo da curva ROC=0,73 (IC95%: 0,58 até 0,88)

Tabela 10 - Acurácia diagnóstica do índice idade-plaqueta para predizer fibrose clinicamente significativa (METAVIR ≥ 2) em 45 casos, com ponto de corte ≥ 7

Característica do teste	Desempenho	IC 95%	
Sensibilidade	0,70	0,46	0,88
Especificidade	0,72	0,51	0,88
Razão de verossimilhança positiva	2,50	1,25	4,99
Razão de verossimilhança negativa	0,42	0,20	0,85
VPP	0,67	0,43	0,85
VPN	0,75	0,53	0,90

VPP=valor preditivo positivo, VPN=valor preditivo negativo

4.3.1.3 Escore de Bonacini

O desempenho do escore de Bonacini para predizer fibrose significativa é descrito na Figura 13 e na Tabela 11, com 8 como ponto de corte obtendo-se as maiores sensibilidade e especificidade possíveis..

Figura 13 – Curva ROC (*Receiver operating characteristic*) do escore de Bonacini representando graficamente o seu desempenho diagnóstico em prever fibrose significativa em 45 casos. Área abaixo da curva ROC=0,76 (IC95%: 0,61 até 0,91)

Tabela 11 - Acurácia diagnóstica do escore de Bonacini para prever fibrose clinicamente significativa (METAVIR ≥ 2) em 45 casos, com ponto de corte ≥ 8

Característica do teste	Desempenho	IC 95%	
Sensibilidade	0,45	0,23	0,69
Especificidade	1,00	0,86	1,00
Razão de verossimilhança positiva	-	-	-
Razão de verossimilhança negativa	0,55	0,37	0,82
VPP	1,00	0,66	1,00
VPN	0,69	0,52	0,84

VPP=valor preditivo positivo, VPN=valor preditivo negativo

4.3.1.4 Escore de Pohl

A figura 14 demonstra a curva ROC referente ao desempenho do escore de Pohl para prever fibrose significativa, e sua respectiva acurácia é descrita na Tabela 12.

Figura 14 – Curva ROC (*Receiver operating characteristic*) do escore de Pohl. para análise gráfica do seu desempenho diagnóstico em prever fibrose significativa em 45 casos. Área abaixo da curva ROC=0,59 (IC95%: 0,47 até 0,71)

Tabela 12 - Acurácia diagnóstica do escore de Pohl para predizer fibrose clinicamente significativa em 45 casos (METAVIR ≥ 2)

Característica do teste	Desempenho	IC 95%	
Sensibilidade	0,30	0,12	0,54
Especificidade	0,88	0,69	0,98
Razão de verossimilhança positiva	2,50	0,71	8,77
Razão de verossimilhança negativa	0,80	0,58	1,10
VPP	0,67	0,30	0,93
VPN	0,61	0,44	0,77

VPP=valor preditivo positivo, VPN=valor preditivo negativo

4.3.1.5 Razão AST/ALT

O desempenho da razão de AST sobre ALT para predizer fibrose significativa é descrito na Figura 15 e na Tabela 13, com ponto de corte em 0,89 para se obter as maiores sensibilidade e especificidade possíveis..

Figura 15 – Curva ROC (*Receiver operating characteristic*) da razão de AST sobre ALT, representando graficamente o seu desempenho diagnóstico em prever fibrose significativa em 45 casos. Área abaixo da curva ROC=0,63 (IC95%: 0,47 até 0,80)

Tabela 13 - Acurácia diagnóstica da razão AST/ALT para prever fibrose clinicamente significativa (METAVIR ≥ 2) em 45 casos, com ponto de corte ≥ 0.89

Característica do teste	Desempenho	IC 95%	
Sensibilidade	0,45	0,23	0,69
Especificidade	0,72	0,51	0,88
Razão de verossimilhança positiva	1,61	0,73	3,55
Razão de verossimilhança negativa	0,76	0,48	1,22
VPP	0,56	0,30	0,80
VPN	0,62	0,42	0,79

VPP=valor preditivo positivo, VPN=valor preditivo negativo

4.3.1.6 Análise comparativa das curvas ROC dos marcadores indiretos laboratoriais em 45 casos

Considerando-se somente uma biópsia por paciente, totalizando 45 biópsias, a análise comparativa das áreas das curvas ROC dos marcadores analisados não demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os índices analisados ($p=0.47$; Figura 16).

Figura 16 – Curvas ROC sobrepostas dos marcadores indiretos analisados para os 45 pacientes

4.4 Resumo dos desempenhos diagnósticos dos marcadores indiretos laboratoriais avaliados em 118 e 45 casos

Os desempenhos diagnósticos dos marcadores indiretos laboratoriais para prever fibrose clinicamente significativa, em 118 e 45 casos, encontram-se na Tabela 14.

Tabela 14 - Acurácia diagnóstica dos marcadores avaliados para prever fibrose clinicamente significativa (METAVIR ≥ 2) em 118 e 45 casos

Marcador	APRI		Idade-plaqueta		EDB		Pohl		AST/ALT	
	Bx analisadas		Bx analisadas		Bx analisadas		Bx analisadas		Bx analisadas	
	118	45	118	45	118	45	118	45	118	45
S	0,59	0,70	0,59	0,70	0,42	0,45	0,32	0,30	0,46	0,45
E	0,78	0,60	0,57	0,72	0,95	1,0	0,90	0,88	0,82	0,72
RVP	2,65	1,75	1,37	2,5	7,98	-	3,05	2,5	2,55	1,61
RVN	0,53	0,50	0,73	0,42	0,62	0,55	0,76	0,8	0,66	0,76
VPP	0,59	0,58	0,42	0,67	0,81	1,0	0,62	0,67	0,58	0,56
VPN	0,78	0,71	0,72	0,75	0,75	0,69	0,71	0,61	0,74	0,62

S=sensibilidade, E=especificidade, RVP=razão de verossimilhança positiva, RVN=razão de verossimilhança negativa, VPP=valor preditivo positivo, VPN=valor preditivo negativo, APRI=AST to platelet ratio index, EDB=escore discriminante de Bonacini, Bx=biópsias

5 DISCUSSÃO

A cirrose associada à infecção pelo VHC é a principal indicação para Tx adulto na maioria dos centros em todo o mundo.¹ O VHC apresenta comportamento agressivo no cenário pós-Tx em comparação com o pré-Tx, observando-se reinfecção precoce, detectada já durante a reperfusão do enxerto.⁶ Alta carga viral pode ser detectada nas primeiras horas após o Tx, sendo portanto considerada de ocorrência universal nos pacientes transplantados pelo VHC em replicação viral.²

Após a reinfecção, a recidiva histológica da hepatite crônica pelo VHC ocorre na maioria dos pacientes, e consiste na principal causa de perda do enxerto devido à progressão da fibrose hepática, resultando em perda da função hepática e novamente em doença hepática terminal.³⁻⁵ Estudo realizado em nosso meio com ênfase nos achados histopatológicos verificou elevadas taxas de recidiva da hepatite crônica pelo VHC após cinco anos do Tx, relatando mais de 85% dos pacientes com diagnóstico histológico de recidiva nesse período.⁷ Entretanto, a evolução clínica e a progressão da fibrose hepática após a reinfecção não ocorre de maneira uniforme para todos os pacientes, ainda que haja uma taxa estimada de progressão da fibrose três vezes superior nos pós-Tx, em média, se comparada ao pré-Tx.¹³ Assim, alguns pacientes podem exibir cirrose ou fibrose significativa em apenas poucos meses após a realização do Tx.⁶

O curso acelerado da infecção pelo VHC pós-Tx, com a maioria dos pacientes desenvolvendo recidiva da hepatite C, constitui um desafio à monitorização adequada da progressão da fibrose. Embora variáveis implicadas na evolução mais rápida da fibrose hepática tenham sido apontadas, nenhum fator de risco isolado apresentou impacto clínico comprovado.^{3,4} Dessa forma, a detecção de fibrose significativa reveste-se de importância clínica, não somente pela informação acerca do prognóstico da hepatopatia, mas também por permitir a indicação do início da terapia antiviral para esses pacientes, com resultados satisfatórios, embora não homogêneos, de resposta virológica sustentada em recentes estudos. Há taxas elevadas de suspensão do tratamento devido aos efeitos colaterais, mais comuns e mais acentuados, no pós-Tx.^{2,3} Recomenda-se a terapia antiviral somente em centros com experiência no manejo destes pacientes.

Nesse sentido, a biópsia hepática pós-Tx fornece informações sobre a presença de fibrose, sua gravidade e progressão, além de auxiliar no diagnóstico diferencial de outras causas de elevação de enzimas hepáticas, por exemplo rejeição celular aguda (RCA), ainda que o diagnóstico diferencial histopatológico entre hepatite C e RCA e somente hepatite C possa ser desafiante.^{18,19} Considera-se, portanto, a biópsia como o método padrão-ouro para determinação do estágio da fibrose hepática, do mesmo modo que no contexto pré-Tx. Porém, para o oportuno diagnóstico da recidiva histológica do VHC e o adequado estadiamento da fibrose, preconiza-se a realização de biópsias hepáticas de modo protocolar no pós-Tx.¹³ Na prática clínica, traduz-se em indicação de biópsia hepática frequente, baseando-se

apenas no critério temporal em relação à realização do Tx, mesmo que o paciente apresente enzimas hepáticas séricas com níveis dentro da normalidade. Métodos indiretos, realizados com frequência ainda maior, poderiam auxiliar na detecção mais precoce de fibrose significativa.

Apesar de ser alvo de vários estudos na população imunocompetente, o papel dos marcadores laboratoriais indiretos de fibrose hepática carece de investigação na população pós-Tx, com poucos estudos publicados.^{59,60,67-70}

O desempenho desses marcadores para avaliar a fibrose pós-Tx não está estabelecido. Avaliamos, portanto, o desempenho diagnóstico de escores laboratoriais indiretos em pacientes com recidiva do VHC pós-Tx, utilizando variáveis que podem ser facilmente obtidas a partir de parâmetros laboratoriais realizados na rotina clínica, portanto sem acrescentar custos. Não foram avaliados marcadores diretos de fibrose hepática por apresentarem variáveis que não constam do painel laboratorial da rotina do ambulatório de Transplante de Fígado do HCFMUSP. Analisamos escores já descritos para a população pré-Tx, assim como efetuamos análise de variáveis para tentar identificar aquelas com significância estatística para predição de fibrose clinicamente significativa.

Foram incluídos no estudo os pacientes que estavam em acompanhamento ambulatorial pós-Tx e que tiveram indicação de Tx devido à hepatite C, sendo excluídos os pacientes com outras causas isoladas de hepatopatia como hepatite B, hepatite auto-imune, cirrose biliar primária e álcool, embora não tenham sido excluídos pacientes com hepatocarcinoma ou alcoolistas que também apresentavam hepatite C pré-Tx. Dessa forma,

obtivemos 45 pacientes, com possibilidade de análise de 118 biópsias. Biópsias realizadas há menos de trinta dias do Tx foram excluídas, por apresentarem comumente, nesse período, alterações relacionadas a lesão de preservação.⁷¹

Uma vez que encontramos fibrose significativa em 34,7% das biópsias realizadas em nosso estudo, fizeram-se necessárias aproximadamente sete biópsias hepáticas sem fibrose significativa para se identificar cerca de três casos com fibrose significativa. Esse achado também pode ser encontrado na literatura, e é compatível com o resultado demonstrado por Toniutto *et al*, que observaram em seu estudo que aproximadamente 2/3 das biópsias hepáticas protocolares pós-Tx mostraram fibrose incipiente ou mesmo ausência de fibrose.⁶⁰ Benlloch *et al*, em estudo prospectivo, observaram que aproximadamente 1 em cada 4 biópsias hepáticas poderia ter sido evitada pela aplicação de índice indireto de predição de fibrose hepática pós-Tx.⁶⁸ Dessa forma, um número considerável de biópsias é realizado sem que haja evidência de progressão de fibrose hepática. Por outro lado, em nosso estudo observamos que aproximadamente 10% das biópsias revelaram a presença de fibrose avançada, ou seja, presença de numerosos septos de fibrose ou mesmo cirrose, suscitando a observação de que o intervalo arbitrário utilizado para a indicação protocolar das biópsias hepáticas possa não ser suficiente para a detecção precoce da fibrose em um grupo de pacientes, nos quais o tratamento antiviral pode ter sido postergado inadvertidamente. O impacto clínico a longo prazo tanto da realização de múltiplas biópsias hepáticas com resultados com pouca expressão

terapêutica, quanto da detecção tardia de fibrose avançada e consequentemente início mais tardio do tratamento antiviral pós-Tx, necessitam ser avaliados em estudos adicionais. Pode-se especular que a taxa de complicações pós-biópsia hepática pode ser ainda superior na população pós-Tx se comparada ao contexto pré-Tx, por exemplo em virtude da imunossupressão, possivelmente levando a complicações infecciosas mais frequentes ou de maior gravidade do que em imunocompetentes. Devido à natureza retrospectiva do estudo, não pudemos mensurar a taxa de complicações pós-biópsia. Esses elementos específicos da população pós-Tx tornam a busca pela monitorização não-invasiva de fibrose do enxerto de importância atual e com potencial de auxílio na tomada de conduta durante a evolução da hepatite C pós-Tx.

Métodos indiretos laboratoriais para predição da fibrose hepática tornaram-se atraentes devido à característica de ausência de invasibilidade, baixo custo e possibilidade de repetição seriada dos testes, havendo vários estudos que intencionam avaliar o seu desempenho diagnóstico na população imunocompetente.^{41,44} A acurácia desses métodos em prever o estágio da fibrose e o curso clínico ainda é incerta na população pós-Tx, e há escassos estudos abordando especificamente os pacientes com hepatite C pós-Tx. O teste indireto ideal deve possuir as seguintes características: simplicidade, fácil execução e disponibilidade, baixo custo, segurança, reprodutibilidade e capacidade de diferenciar os pacientes com fibrose significativa ou com fibrose avançada.⁶¹ A escolha dos escores avaliados nesse estudo reflete algumas das características do teste ideal,

principalmente a possibilidade de utilização dos recursos rotineiros disponíveis a cada consulta do paciente ao ambulatório de transplante, visando à monitorização seriada da evolução da fibrose, sem acrescentar exames dispendiosos como os marcadores não-laboratoriais, ou insumos pouco disponíveis em nosso meio, como os biomarcadores. Em um cenário de rápida mudança de estágio de fibrose, seja pela evolução natural da recidiva ou induzida pelo tratamento antiviral, a interpretação do valor diagnóstico de testes rotineira e prontamente disponíveis para prever o estadiamento da fibrose apresenta potencial pouco explorado no pós-Tx.

Um estudo disponível que aborda o papel dos marcadores indiretos laboratoriais na detecção de fibrose hepática nos pacientes com recidiva histológica do VHC pós-Tx avaliou 102 biópsias realizadas em 51 pacientes.⁶⁰ Os autores analisaram os seguintes escores: razão AST/ALT, APRI, índice idade-plaqueta, índice de Forns e escore de Bonacini. Esses testes foram comparados em relação à sua capacidade de detectar fibrose significativa (escore de Ishak acima de 2 no estudo), e foram encontradas áreas sob a curva ROC de 0,749 para razão AST/ALT, 0,801 para de APRI, 0,659 para índice idade-plaqueta, 0,723 para índice de Forns e 0,785 para escore de Bonacini, todos significantes estatisticamente para áreas sob a curva ROC de 0,5.⁶⁰ Embora Toniutto *et al* tenham encontrado melhor desempenho em pacientes do gênero feminino, não realizamos a construção da curva ROC estratificada por gênero por não termos detectado diferença estatística entre os grupos com e sem fibrose clinicamente significativa à análise desta variável ($p=0,35$). Toniutto *et al* calcularam as

propriedades do teste (sensibilidade, especificidade e valores preditivos positivo e negativo) somente para APRI, com um ponto de corte escolhido de 1,40, relatando respectivamente valores de 0,76 (IC 0,58-0,89), 0,77 (IC 0,72-0,80), 0,46 (IC 0,35-0,53) e 0,93 (IC 0,87-0,97).⁶⁰ Harada *et al*, em estudo prospectivo em pacientes pós-Tx, observaram que o APRI apresentou valor preditivo negativo de 0,76 e positivo de 0,63, com área sob a curva ROC de 0,70, superior à dosagem de marcadores diretos avaliados (ácidos hialurônicos e colágeno tipo IV), mas inferior à elastografia.⁶⁷ Kamphues *et al*, avaliando o mesmo escore, encontraram valores preditivos negativo e positivo de 0,8, com área sob a curva ROC de 0,68.⁷⁰

Os métodos indiretos de predição de fibrose baseam-se na alteração que a progressão da fibrose hepática exerce sobre as variáveis de cada teste, refletindo alterações na função/metabolismo hepático, mas não diretamente o processo de fibrogênese hepática, por exemplo a elevação da AST sérico devido ao duplo mecanismo de redução da sua depuração e de liberação de AST dos hepatócitos devido ao dano mitocondrial associado à hepatopatia; e a redução da contagem de plaquetas pelo seu sequestro e destruição devido ao hiperesplenismo secundário à hipertensão portal.^{52,56}

O paciente transplantado, contudo, apresenta influências específicas que podem afetar o desempenho diagnóstico dos testes laboratoriais, tornando a interpretação dos escores mais complexa. Encontramos um valor mediano de contagem de plaquetas nos pacientes pós-Tx de aproximadamente 114.000, que, embora superior ao valor mediano de 64.000 plaquetas dos pacientes no pré-Tx, está ainda abaixo do limite

inferior da normalidade. Não houve, portanto, normalização da contagem de plaquetas após o Tx. Múltiplos outros fatores presumíveis, além da hipertensão portal, poderiam influenciar o número de plaquetas, os quais poderiam apresentar maior repercussão no pós-Tx, quando uma reversão ao menos parcial da hipertensão portal seria esperada. Poderiam ser aventados os efeitos supressivos sobre a trombopoiese devido à ação direta do VHC ou da terapia antiviral, níveis reduzidos ou atividade diminuída da trombopoietina ou a presença de anticorpos anti-plaquetas.⁷² O uso de imunossupressores, principalmente as drogas antimetabólicas micofenolato mofetil ou sódico e azatioprina, em nosso estudo presentes em mais de 30% dos pacientes, apresentam efeitos supressivos sobre a medula óssea bem conhecidos. Cross *et al*, avaliando escore indireto de fibrose nos pós-Tx, utilizaram micofenolato mofetil ou azatioprina em cerca de 27% dos pacientes, em combinação a outros imunossupressores.⁶⁹ Devemos considerar que a trombocitopenia induzida pelos imunossupressores poderia ocasionar interferência na interpretação de escores que incluam a contagem de plaquetas como variável, contribuindo para um pior desempenho diagnóstico desses testes no contexto pós-Tx. Apesar dessas considerações, encontrou-se a contagem de plaquetas como variável estatisticamente significativa em análise univariada ($p=0,046$) para a presença de fibrose clinicamente significante.

Outras variáveis próprias do período pós-Tx também poderiam contribuir para um diferente comportamento dos marcadores indiretos em relação ao pré-Tx, principalmente associadas a outras causas concomitantes

de elevação de enzimas hepáticas, componentes comuns à maioria dos escores utilizados. A RCA, por exemplo, pode apresentar-se com elevação das enzimas hepáticas, um dilema diagnóstico nem sempre facilmente solucionado, mesmo diante de dados histopatológicos, e pode haver ainda superposição com quadro histopatológico de recidiva da hepatite C. Deve-se, portanto, como regra, ter cautela na interpretação dos marcadores em situações em que haja suspeição de outro componente que não a própria evolução da hepatite C para a alteração dos escores.

Em nosso estudo optamos por considerar para análise a idade do receptor com mediana de 51 anos entre os pacientes, com valor próximo da idade do doador, com mediana de 48 anos. Estudo prévio descreve que o uso das respectivas idades para cálculo dos escores, do doador ou do receptor, apresenta resultados semelhantes.⁶⁰

Uma limitação presente nos estudos realizados em população submetida a Tx é a relativa baixa disponibilidade do número de pacientes, se comparada aos estudos realizados em população com a hepatopatia pré-Tx. Embora 107 casos tenham sido excluídos, acreditamos que não houve prejuízo à representatividade da amostra, pois em sua maioria (102 casos) representavam casos em que não seriam aplicados os testes (ausência de recidiva) ou nos quais já havia análise histológica recente, com menos de trinta dias. De todo modo, em nosso estudo a unidade para análise inicial foram os fragmentos histológicos (casos), e, portanto, um paciente pôde originar uma ou mais biópsias, o que poderia gerar viés de amostragem. Contudo, observamos que a maioria, mais de 73% dos pacientes, contribuiu

com até 3 biópsias, e apenas 11% dos pacientes com 5 biópsias cada e somente um paciente (2,2%) com seis biópsias, e realizamos ajuste estatístico para a análise de regressão logística para as múltiplas biópsias provenientes de um mesmo paciente. Nesse sentido, Toniutto *et al* relatam a obtenção de 102 biópsias provenientes de 51 pacientes, sendo que 21 pacientes (41%) contribuíram com uma biópsia, 15 pacientes (29,4%) com duas biópsias, 8 pacientes (15,6%) com três e 7 pacientes (13,7%) com quatro biópsias.⁶⁰ Diferentemente, Harada *et al* analisaram 56 espécimes provenientes de 56 pacientes.⁶⁷ Com intuito de se evitar definitivamente a interferência pela correlação entre as múltiplas biópsias de um mesmo paciente, à análise inicial das 118 biópsias acrescentamos análise restrita considerando-se apenas uma biópsia a cada paciente, totalizando 45 biópsias, para a construção de novas curvas ROC e cálculo de pontos de corte e respectivos desempenhos diagnósticos de cada escore.

Nos diversos escores analisados, de modo geral obtivemos melhores VPN do que VPP, tendo como única exceção o escore discriminante de Bonacini (EDB), cujo VPP foi superior ao VPN, embora não tenha sido encontrada diferença estatisticamente significativa entre os escores na comparação entre suas áreas sob as respectivas curvas ROC, indicativas do desempenho diagnóstico, tanto na análise de 118 biópsias quanto de 45 biópsias. Os dados relatados por Toniutto *et al* não incluíram análise estatística comparativa entre as curvas ROC dos testes, porém descreveram melhor performance para o APRI (área sob a curva de 0,80), superior à encontrada em nosso estudo analisando-se as 118 biópsias, mas com valor

próximo ao encontrado pela análise das 45 biópsias individuais, na qual o APRI apresentou área de 0,77.

Comparativamente, analisando-se valores absolutos, o teste com maior VPN foi o APRI, para ponto de corte de 2,62, com desempenho de 0,78 (IC95%: 0,67 até 0,87) considerando-se as 118 biópsias, valor próximo ao encontrado por Harada *et al*, com VPN de 0,76.⁶⁷ Isso traduz que, em nossa amostra, se ao calcularmos o APRI obtivermos um valor inferior a 2,62, podemos excluir fibrose clinicamente significativa com 78% de chance de acerto. O VPN do APRI, ao se analisar apenas as biópsias individuais dos 45 pacientes, apresentou redução para 0,71 (IC95%: 0,48 até 0,89). No entanto, o APRI apresentou reduzido VPP, com valor de 0,59 (IC95%: 0,42 até 0,74). Desta forma, o APRI permitiu predizer, em nosso estudo, a ausência de fibrose significativa mais acuradamente do que a sua presença.

O teste com maior VPP encontrado (0,81, IC95%: 0,58 até 0,95) foi o EDB, com ponto de corte de 8, em que pacientes com EDB de 8 ou mais apresentaram fibrose significativa com 81% de certeza. Esse achado foi reforçado, e ainda com melhor performance, na análise que incluiu uma única biópsia por paciente, no qual o EDB permaneceu com o maior VPP entre os testes avaliados. Nessa situação demonstramos uma chance de 100% de fibrose significativa quando EBD foi maior ou igual a 8 em nossa amostra.

Considerando-se os valores preditivos de todos os testes analisados, apesar dos intervalos de confiança com interseção, observamos que o EDB apresentou-se como o escore que mais se aproximou do equilíbrio

entre os valores preditivos positivo e negativo. Entretanto, a característica retrospectiva do nosso estudo indica a necessidade de validação dos escores em posterior estudo prospectivo para melhor aplicação na prática clínica na população pós-Tx. Não encontramos outro estudo realizado em população pós-Tx que tenha analisado o EDB com suas características diagnósticas de valores preditivos e razões de verossimilhança. Na população imunocompetente, o EDB apresentou, com ponto de corte maior ou igual a 8, para o diagnóstico de fibrose avançada ou cirrose em pacientes com hepatite C, especificidade de 98%, embora com 46% de sensibilidade, no estudo inicial, semelhante ao detectado em nosso estudo.⁴²

O VPP do EDB encontrado em nosso estudo, superior ao VPN, permitiu prever a presença de fibrose significativa mais acuradamente do que a sua ausência, ou seja, o EDB foi mais efetivo para identificar pacientes pós-Tx com doença hepática avançada do que pacientes com hepatopatia incipiente. Para incorporação ao contexto do pós-Tx, a utilização de um teste não-invasivo com alto valor preditivo positivo potencialmente reforçaria a indicação da biópsia hepática antecipada em relação ao protocolo, pois elevaria a probabilidade de fibrose significativa e a biópsia hepática provavelmente apresentaria impacto na conduta clínica e indicação terapêutica no caso.

Devido à influência da prevalência, ou probabilidade pré-teste, da fibrose significativa sobre os valores preditivos, as razões de verossimilhança positiva e negativa para todos os escores avaliados foram calculadas, incorporando a sensibilidade e a especificidade dos testes, para estimar

objetivamente quanto o resultado do teste irá alterar a chance do paciente apresentar fibrose significativa. Desse modo, dentre todos os testes avaliados, novamente o EDB apresentou melhor desempenho, com valor de RVP de 7,98 na análise de 118 biópsias. Na prática clínica, o EDB parece representar potencial para auxiliar na decisão de indicar biópsia hepática antecipada em relação à biópsia protocolar, em pacientes com recidiva da hepatite C, pois detectaria pacientes com maior probabilidade de apresentar fibrose significativa.

Embora não tenhamos observado um teste ideal, com acurácia suficiente para indicar ou descartar biópsia hepática na maioria das situações, alguns marcadores, em especial o EDB, demonstraram-se como ferramentas potenciais de seguimento dos pacientes submetidos ao Tx por hepatopatia crônica pelo VHC.

À análise de regressão logística, a única variável encontrada estatisticamente significativa foi a razão AST/ALT ($p=0.004$), possibilitando utilizar o ponto de corte encontrado pela análise da curva ROC da razão AST/ALT de 0,89. Assim, obtivemos *odds ratio* de 4,2 vezes maior para fibrose METAVIR ≥ 2 nos pacientes com AST/ALT ≥ 0.89 ($p=0.005$). Este resultado permite-nos inferir utilidade da razão AST/ALT para possível antecipação da realização da biópsia hepática protocolar nos pacientes com valor de razão maior ou igual que 0,89. Uma vez que a razão AST/ALT não avalia valores absolutos individuais, torna-se vulnerável pela possibilidade de não refletir alterações simultâneas concordantes de ambos os parâmetros, por exemplo aumento ou redução simultânea de AST e ALT. Estudos adicionais são

necessários para validar a utilização da razão e avaliar o perfil de resultados histológicos do protocolo de biópsias que incorporaria essa medida indireta de fibrose.

A aferição do desempenho dos escores no pós-Tx é realizada para discriminar pacientes com fibrose clinicamente significativa, correspondente à fibrose F2 ou mais no sistema METAVIR, levando-se em consideração a indicação do tratamento antiviral para esse grupo de pacientes. Em nosso estudo, a avaliação dos escores não considerou, devido à limitação do número de casos, cada estágio de fibrose individualmente na análise de performance diagnóstica, o que pode ter sido um fator influenciador da acurácia dos testes. Os marcadores indiretos demonstraram, quando utilizados na população imunocompetente, que sua acurácia é superior se utilizados para detecção de extremos estágios de fibrose, seja cirrose ou ausência de fibrose, sendo reduzida para a detecção de estágios intermediários. Em nosso estudo, encontramos baixa prevalência de pacientes com cirrose (cerca de 1,7%) e sem fibrose à biópsia (cerca de 6%), o que pode contribuir para limitação do desempenho dos escores avaliados. Entretanto, a distribuição dos estágios de fibrose encontrada reflete a população com recidiva do VHC pós-Tx, uma vez que foram avaliadas as biópsias protocolares que são indicadas para este grupo de pacientes.

Utilizamos as medidas individualmente para avaliar os respectivos desempenhos diagnósticos, porém a utilização dos escores em sequência ou simultaneamente poderia produzir resultados diferenciados, cuja avaliação inexiste na literatura atual, demandando estudos adicionais, na

tentativa de superar as limitações do desempenho diagnóstico do uso isolado dos marcadores indiretos.

O acompanhamento clínico dos pacientes com recidiva do VHC pós-Tx exige equipe experiente no que se refere ao momento de indicação de tratamento antiviral, pois há com frequência características particulares desta população que podem interferir com o resultado do tratamento, como maiores taxas de descontinuação pelos efeitos colaterais. Devido à progressão acelerada da fibrose hepática no pós-Tx, biópsias hepáticas em períodos arbitrários são recomendadas para detecção e avaliação dessa progressão e indicação oportuna do tratamento antiviral. A determinação da aplicabilidade dos métodos indiretos laboratoriais em relação às biópsias protocolares depende, principalmente, do desempenho diagnóstico dessas medidas, e da sua facilidade de utilização na prática clínica, uma vez que fórmulas complexas, com extenso número de variáveis, são propensas a maior resistência para sua utilização na rotina ambulatorial.

Os dados do estudo agregam informações úteis e capazes de auxiliar principalmente na indicação precoce de biópsia hepática e, conseqüentemente, na instituição oportuna do tratamento antiviral e interferência na evolução clínica dos pacientes com recidiva do VHC pós-Tx.

6 CONCLUSÕES

1. Os marcadores índice da razão AST-plaqueta (APRI), razão AST/ALT, índice idade-plaqueta e escore de Pohl demonstraram melhores valores preditivos negativos do que valores preditivos positivos para fibrose clinicamente significativa (METAVIR ≥ 2) em pacientes com recidiva da hepatite C crônica pós-transplante de fígado.
2. O escore discriminante de Bonacini demonstrou melhor valor preditivo positivo do que valor preditivo negativo para fibrose clinicamente significativa (METAVIR ≥ 2) em pacientes com recidiva da hepatite C crônica pós-transplante de fígado.
3. Não se encontrou diferença estatisticamente significativa entre os desempenhos diagnósticos globais dos escores analisados na comparação entre as respectivas curvas ROC.
4. O escore discriminante de Bonacini apresentou alto valor preditivo positivo e razão de verossimilhança positiva para detecção de fibrose clinicamente significativa (METAVIR ≥ 2). Estudos de validação do método devem ser realizados para determinar evidência de utilidade do escore na prática clínica, com intuito de antecipar a realização de biópsia hepática protocolar ou indicar terapia antiviral quando a realização da biópsia não for possível ou for considerada de alto risco de complicação.

-
5. A chance de fibrose clinicamente significativa (METAVIR $\geq$ 2) foi 4,2 vezes maior em indivíduos com razão AST/ALT $\geq$ 0.89. Estudos prospectivos são necessários para validar seu desempenho.

7 ANEXOS

7. ANEXOS

Anexo A: Descrição das características dos 118 casos incluídos no estudo

PACIENTE	CASO (BX)	IDADE_ anos	TEMPO_PÓS-TX_meses	Fibrose_ METAVIR	Fibrose_ METAVIR ≥ 2	Fibrose_ METAVIR ≥ 3	Fibrose_ METAVIR 4	METAVIR (1=F signif; 2=F avanç; 3= Cirr; 0 - Nenhuma Das anteriores)	IMC	ALT (LSN)	AST (LSN)	BT	CREATININA	FOSF ALC	GGT	GLICEMIA	PLAQUETAS (x1000)	Na	INR	TP (s acima do normal)	GÊNERO (1=masc/2=fem)	APRI	AST/ALT	ESCORE POHL	ALT/AST	ESCORE BONACINI (EDB)	ÍNDICE IDADE-PLAQUETA
EAA	1	41,8	2,0	1	0	0	0	0	20	5,89	4,56	1,1	1,5	181	353	97	77	134	1,24	2,7	1	5,92	0,60	0	1,67	7	7
	2	42,5	11,1	0	0	0	0	0	20	5,18	4,00	1,2	1,5	111	209	87	80	138	1,54	6	1	5,00	0,60	0	1,68	8	7
	3	43,0	16,7	1	0	0	0	0	18	5,57	4,88	1,2	1,7	106	492	80	72	139	1,27	3,2	1	6,78	0,68	0	1,48	7	7
	4	44,1	30,3	1	0	0	0	0	19	3,05	2,91	1	1,3	88	341	92	87	137	1,26	3	1	3,35	0,74	0	1,35	7	7
	5	46,5	59,0	3	1	1	0	2	20	0,97	0,78	0,37	1,42	51	22	78	104	142	1,2	1,1	1	0,75	0,81	0	1,24	6	7
MDOP	6	58,5	5,7	2	1	0	0	1	21	6,31	7,87	1,2	0,9	102	184	127	96	139	1,19	2,2	2	8,19	1,04	1	0,96	8	8
	7	58,8	9,9	3	1	1	0	2	22	9,31	9,93	0,9	0,7	130	153	68	89	139	1,3	3,4	2	11,16	0,89	0	1,12	8	8
TSB	8	51,8	22,2	3	1	1	0	2	19	1,08	2,17	2,4	1,1	242	585	125	78	138	1,28	3,5	2	2,78	1,67	1	0,60	8	8
	9	52,1	26,4	3	1	1	0	2	21	5,08	5,87	0,6	0,8	292	773	76	91	141	1,26	3	2	6,45	0,96	0	1,04	8	8
	10	52,9	35,1	3	1	1	0	2	21	8,33	48,40	0,8	0,9	95	183	90	50	139	1,15	1,8	2	96,80	4,84	1	0,21	9	8
	11	53,7	45,1	4	1	1	1	3	21	3,94	7,33	1	0,98	171	386	103	88	140	1,2	1,8	2	8,33	1,80	1	0,55	9	8
RNF	12	57,4	9,9	1	0	0	0	0	23	2,45	2,21	1,7	1	201	408	99	356	141	1,14	1,8	1	0,62	0,69	0	1,44	1	3
	13	57,8	14,7	1	0	0	0	0	22	4,16	3,03	1,9	1	200	540	103	289	136	1,04	0,5	1	1,05	0,56	0	1,78	1	3
	14	58,0	17,3	1	0	0	0	0	22	1,30	1,35	1,9	1	115	196	115	285	138	1,2	2,5	1	0,47	0,81	0	1,24	3	3
	15	60,0	40,5	1	0	0	0	0	23	7,84	5,05	1,6	1,11	115	136	90	285	139	0,95	0	1	1,77	0,64	0	1,55	2	4
CRF	16	58,3	3,5	1	0	0	0	0	22	1,17	1,17	1,2	1,1	261	457	119	69	134	1,12	1,4	2	1,69	0,83	0	1,20	7	8
	17	58,7	8,5	0	0	0	0	0	20	2,11	2,47	1	0,8	253	1061	190	18	142	1,58	7,3	2	13,70	0,97	0	1,03	10	8
	18	60,7	31,9	1	0	0	0	0	24	1,11	1,23	0,6	1	109	140	113	60	142	1	0	2	2,06	0,93	0	1,08	7	9
	19	61,5	42,5	2	1	0	0	1	25	2,68	1,60	0,75	0,85	83	181	109	61	141	1	0	2	2,62	0,58	0	1,73	5	9
DZ	20	54,7	14,3	0	0	0	0	0	24	0,80	0,85	1,4	2	70	38	96	60	136	1,4	5	1	1,42	0,83	0	1,21	7	8
	21	55,9	28,8	0	0	0	0	0	26	0,73	0,76	1,1	1,8	62	24	101	79	142	1,34	4	1	0,97	0,81	0	1,23	7	8
	22	56,2	32,0	1	0	0	0	0	26	4,22	1,84	1	1,9	89	227	103	65	140	1,19	1,2	1	2,83	0,44	0	2,29	6	8

Continua

PACIENTE	CASO (BX)	IDADE_ anos	TEMPO_PÓS- TX_meses	Fibrose_ METAVIR	Fibrose_ METAVIR ≥ 2	Fibrose_ METAVIR ≥ 3	Fibrose_ METAVIR 4	METAVIR (1=F signif; 2=F avanç; 3- Cirr; 0 - Nenhuma Das anteriores)	IMC	ALT (LSN)	AST (LSN)	BT	CREATININA	FOSF ALC	GGT	GLICEMIA	PLAQUETAS (x1000)	Na	INR	TP (s acima do normal)	GÊNERO (1=masc/2=fem)	APRI	AST/ALT	ESCORE POHL	ALT/AST	ESCORE BONACINI (EDB)	ÍNDICE IDADE- PLAQUETA
	23	56,9	40,1	1	0	0	0	0	25	2,78	1,49	1,25	1,55	122	346	96	79	143	1,1	1,5	1	1,88	0,53	0	1,87	6	8
	24	57,3	44,8	1	0	0	0	0	25	1,57	1,11	0,77	1,67	64	71	102	96	145	1,3	2,4	1	1,15	0,71	0	1,41	7	8
	25	57,4	46,4	2	1	0	0	1	25	1,89	1,05	1,03	1,83	71	66	93	83	139	1,2	1,3	1	1,27	0,56	0	1,79	6	8
JFB	26	51,5	3,2	1	0	0	0	0	22	3,00	3,24	1,6	2,2	377	1490	395	136	133	1,22	2,8	1	2,38	0,83	0	1,20	6	7
	27	51,7	5,2	1	0	0	0	0	23	5,73	3,44	3,1	1,3	194	1105	184	133	132	1,34	4,2	1	2,59	0,46	0	2,15	5	7
	28	51,8	6,6	1	0	0	0	0	22	1,70	2,62	7,3	1,4	649	2851	222	133	132	1,43	5,4	1	1,97	1,19	1	0,84	8	7
	29	54,8	41,8	4	1	1	1	3	24	0,68	2,95	20,7	6,32	142	21	22	79	138	5,6	53,3	1	3,73	4,36	1	0,23	10	8
MIB	30	51,9	16,6	1	0	0	0	0	33	2,39	2,50	0,9	1,2	231	172	94	350	139	1,04	0,5	2	0,71	0,87	0	1,15	2	3
	31	53,1	31,8	2	1	0	0	1	32	2,77	2,00	0,8	1,01	124	104	110	364	139	0,95	0	2	0,55	0,70	0	1,43	1	3
JCV	32	51,7	4,6	1	0	0	0	0	26	2,34	1,26	0,8	1,2	76	103	144	64	137	1,11	1,4	1	1,98	0,42	0	2,40	6	8
	33	52,2	11,2	1	0	0	0	0	27	2,34	1,53	0,8	1,3	118	370	125	147	140	1,2	2,3	1	1,04	0,50	0	1,98	5	7
ERP	34	45,9	42,1	1	0	0	0	0	26	2,76	1,19	0,45	1,24	59	24	110	199	143	0,95	0	1	0,60	0,43	0	2,32	3	4
AMCS	35	53,7	25,8	1	0	0	0	0	33	1,42	1,07	0,55	0,79	358	146	171	206	143	0,95	0	2	0,52	0,73	0	1,38	4	4
	36	54,8	39,0	1	0	0	0	0	32	2,16	1,47	0,64	0,84	360	167	245	252	140	0,95	0	2	0,58	0,66	0	1,52	3	3
	37	55,9	51,3	1	0	0	0	0	33	0,97	0,83	0,51	0,71	381	188	175	270	141	0,95	0	2	0,31	0,83	0	1,20	3	3
ROC	38	51,5	23,3	0	0	0	0	0	25	1,89	1,41	0,7	1,51	82	137	108	103	142	1	0,2	1	1,36	0,74	0	1,35	5	8
VM	39	59,3	26,8	1	0	0	0	0	28	0,73	0,97	0,63	1,21	56	42	143	89	137	0,95	0	1	1,09	1,33	1	0,75	7	8
PNO	40	42,1	5,6	2	1	0	0	1	20	0,70	1,15	0,7	1,7	105	104	139	97	137	1,6	6,8	1	1,18	1,26	1	0,79	9	7
	41	42,5	10,3	1	0	0	0	0	20	0,95	4,06	17,4	2	84	188	187	78	136	2,22	13,4	1	5,20	3,29	1	0,30	10	7
	42	42,5	10,8	2	1	0	0	1	20	0,84	2,32	55,8	3,3	343	473	85	78	131	1,87	9,7	1	2,98	2,14	1	0,47	10	7
RPS	43	56,9	9,2	1	0	0	0	0	27	3,00	3,10	0,7	1,06	169	97	123	130	143	0,97	0	2	2,38	1,00	1	1,00	6	7
LCM	44	63,0	19,9	1	0	0	0	0	20	1,43	0,92	1,19	1,67	317	1137	163	333	138	1,1	0	1	0,28	0,64	0	1,56	3	4
	45	63,2	22,0	2	1	0	0	1	19	1,43	1,03	0,61	1,4	251	378	113	223	138	0,95	0	1	0,46	0,72	0	1,39	3	5
	46	64,9	42,1	1	0	0	0	0	19	2,65	2,32	0,44	1,34	313	174	99	335	143	1,1	0	1	0,69	0,88	0	1,14	4	4
RFCF	47	54,2	15,4	1	0	0	0	0	26	2,89	1,65	0,86	1,18	110	262	99	148	141	1	0,1	1	1,11	0,57	0	1,75	4	7
	48	54,5	19,4	1	0	0	0	0	26	2,43	1,43	1,84	1,18	106	647	98	168	140	0,95	0	1	0,85	0,59	0	1,70	4	6
	49	54,7	21,1	1	0	0	0	0	26	3,38	1,84	1,25	1,18	123	669	117	194	140	0,95	0	1	0,95	0,54	0	1,84	3	5

Continua

PACIENTE	CASO (BX)	IDADE_ anos	TEMPO_PÓS- TX_meses	Fibrose_ METAVIR	Fibrose_ METAVIR ≥ 2	Fibrose_ METAVIR ≥ 3	Fibrose_ METAVIR 4	METAVIR (1=F signif; 2=F avanç; 3- Cirr; 0 - Nenhuma Das anteriores)	IMC	ALT (LSN)	AST (LSN)	BT	CREATININA	FOSF ALC	GGT	GLICEMIA	PLAQUETAS (x1000)	Na	INR	TP (s acima do normal)	GÊNERO (1=masc/2=fem)	APRI	AST/ALT	ESCORE POHL	ALT/AST	ESCORE BONACINI (EDB)	ÍNDICE IDADE- PLAQUETA
JPS	50	38,4	4,6	2	1	0	0	1	24	6,30	6,32	0,7	1,55	89	77	95	103	143	1,13	2,2	1	6,14	0,84	0	1,18	7	6
	51	38,9	11,2	3	1	1	0	2	28	5,35	4,27	0,9	1,16	100	272	108	116	140	1	0	1	3,68	0,80	0	1,25	5	6
	52	40,3	27,0	1	0	0	0	0	28	2,00	1,59	0,47	1,2	67	69	105	181	140	0,95	0	1	0,88	0,80	0	1,25	4	4
	53	40,5	29,5	1	0	0	0	0	31	3,65	2,92	0,54	1,2	72	58	126	146	141	1	0	1	2,00	0,80	0	1,25	5	6
	54	40,9	34,5	2	1	0	0	1	31	5,11	3,27	1,09	1,42	64	105	104	122	143	1	0	1	2,68	0,64	0	1,56	5	7
EAO	55	66,1	5,4	2	1	0	0	1	21	6,76	6,11	0,8	1,47	121	489	86	36	137	1,08	0,2	1	16,97	0,90	0	1,11	8	9
WGS	56	26,1	5,1	1	0	0	0	0	25	2,16	1,62	1	1,07	155	56	91	142	142	1,2	2,5	1	1,14	0,75	0	1,33	6	4
	57	26,4	8,4	1	0	0	0	0	25	3,22	3,35	1,3	1,1	211	275	94	109	139	1,1	1,3	1	3,07	1,04	1	0,96	7	5
	58	26,8	12,5	2	1	0	0	1	24	7,59	13,38	3,89	0,77	258	490	82	115	140	1,2	1,8	1	11,63	1,76	1	0,57	8	5
	59	27,3	18,5	2	1	0	0	1	23	3,46	3,16	1,1	1,11	115	86	96	58	139	1,2	2,9	1	5,45	0,91	0	1,09	8	5
	60	27,9	26,0	2	1	0	0	1	24	5,68	3,00	0,9	1,31	115	46	82	57	141	1,2	1,9	1	5,26	0,53	0	1,89	6	5
MAR	61	36,6	5,6	1	0	0	0	0	29	2,54	1,54	3,5	1,11	84	242	84	51	140	1,2	2,2	1	3,02	0,61	0	1,65	7	6
	62	36,6	6,5	1	0	0	0	0	28	2,54	1,65	2,5	1,07	87	171	80	66	140	1,1	1	1	2,50	0,65	0	1,54	7	6
	63	36,7	7,9	1	0	0	0	0	29	8,41	5,22	1,86	0,86	121	232	74	67	141	1,3	3,4	1	7,79	0,62	0	1,61	7	6
MC	64	32,5	2,5	1	0	0	0	0	24	5,95	3,30	0,8	1,48	71	225	136	103	137	1,2	2,1	1	3,20	0,55	0	1,80	5	6
	65	32,6	3,5	1	0	0	0	0	23	6,38	3,70	1,1	1,24	72	507	105	92	138	1,4	4,1	1	4,02	0,58	0	1,72	6	6
	66	32,8	5,7	2	1	0	0	1	22	1,73	2,86	1,9	0,81	173	942	100	86	140	1,1	1,6	1	3,33	1,66	1	0,60	8	6
	67	32,9	7,4	3	1	1	0	2	22	2,30	3,19	6,8	1,02	201	277	84	64	132	1,2	2,3	1	4,98	1,39	1	0,72	8	6
	68	33,2	10,3	2	1	0	0	1	23	1,73	3,81	2,29	0,83	172	310	110	82	139	1,3	4,1	1	4,65	2,20	1	0,45	9	6
JFI	69	55,9	10,2	1	0	0	0	0	30	3,86	2,62	0,83	0,63	200	338	165	243	141	1	0,2	1	1,08	0,68	0	1,47	3	3
	70	56,2	13,0	1	0	0	0	0	32	4,22	4,03	1,36	1,62	212	797	159	216	137	0,95	0	1	1,86	0,96	0	1,05	5	4
	71	57,6	29,5	2	1	0	0	1	33	2,03	1,14	0,42	1,47	127	102	126	153	138	1	0,3	1	0,74	0,56	0	1,79	4	6
OL	72	65,6	8,8	1	0	0	0	0	25	10,78	3,97	1,13	0,85	262	1767	107	126	139	0,95	0	1	3,15	0,37	0	2,71	4	8
	73	66,1	14,5	2	1	0	0	1	25	1,89	1,24	0,52	1,96	156	716	132	130	136	0,95	0	1	0,96	0,66	0	1,52	5	8
MMN	74	61,9	8,3	1	0	0	0	0	24	2,74	1,47	1,23	1,77	108	326	91	64	140	1,2	1,4	2	2,29	0,52	0	1,93	6	9
	75	62,1	11,0	1	0	0	0	0	26	2,71	1,40	1,1	1,43	79	163	88	46	145	1,2	0,5	2	3,04	0,50	0	2,00	6	9
	76	63,2	24,8	2	1	0	0	1	23	2,06	2,10	0,63	1	117	237	131	46	143	1,2	2,6	2	4,57	0,98	0	1,02	8	9

Continua

PACIENTE	CASO (BX)	IDADE_ anos	TEMPO_PÓS- TX_meses	Fibrose_ METAVIR	Fibrose_ METAVIR ≥ 2	Fibrose_ METAVIR ≥ 3	Fibrose_ METAVIR 4	METAVIR (1=F signif; 2=F avanç; 3- Cirr; 0 - Nenhuma Das anteriores)	IMC	ALT (LSN)	AST (LSN)	BT	CREATININA	FOSF ALC	GGT	GLICEMIA	PLAQUETAS (x1000)	Na	INR	TP (s acima do normal)	GÊNERO (1=masc/2=fem)	APRI	AST/ALT	ESCORE POHL	ALT/AST	ESCORE BONACINI (EDB)	ÍNDICE IDADE- PLAQUETA
JMO	77	37,8	2,8	1	0	0	0	0	25	4,65	1,95	0,82	1,1	59	66	93	85	137	1,1	1,1	1	2,29	0,42	0	2,39	6	6
	78	38,1	6,9	1	0	0	0	0	27	4,62	2,51	0,79	1,01	66	67	82	98	140	1,2	1	1	2,56	0,54	0	1,84	6	6
	79	40,3	33,7	2	1	0	0	1	30	1,08	0,89	1,24	1,21	56	27	91	116	135	1,2	0	1	0,77	0,83	0	1,21	6	7
FJBS	80	41,9	12,3	2	1	0	0	1	23	1,65	1,11	0,33	0,96	68	76	113	150	141	0,95	0	1	0,74	0,67	0	1,49	5	5
	81	43,5	31,0	1	0	0	0	0	23	3,29	1,45	0,48	1,05	61	38	103	143	146	1	0,3	1	1,01	0,53	0	1,89	4	6
JCGS	82	59,1	8,5	1	0	0	0	0	24	1,46	0,70	0,47	0,85	92	58	98	242	140	0,95	0	1	0,29	0,48	0	2,08	2	3
	83	59,3	11,5	1	0	0	0	0	23	3,54	1,54	1,11	0,86	64	68	91	196	142	1,1	0	1	0,79	0,44	0	2,30	4	5
	84	59,8	17,6	1	0	0	0	0	22	3,24	1,46	0,58	0,89	74	45	100	229	140	0,95	0	1	0,64	0,45	0	2,22	2	3
	85	60,6	26,8	1	0	0	0	0	23	2,54	2,22	0,61	0,93	185	193	113	272	141	0,95	0	1	0,81	0,87	0	1,15	4	4
	86	61,2	34,2	1	0	0	0	0	21	2,27	1,51	0,38	0,85	144	77	106	292	140	1	0	1	0,52	0,67	0	1,50	2	4
EF	87	65,8	8,3	3	1	1	0	2	23	10,10	6,23	1	1,16	1027	1268	123	72	143	1,2	1,6	2	8,66	0,60	0	1,67	7	9
	88	66,1	12,3	0	0	0	0	0	22	1,58	1,17	0,54	1,11	247	201	93	72	143	1,2	77	2	1,62	0,71	0	1,40	7	9
	89	67,2	25,3	1	0	0	0	0	25	0,29	0,43	0,73	1,03	201	104	116	119	147	1,1	71,5	2	0,36	1,44	1	0,69	7	9
	90	67,7	31,5	1	0	0	0	0	27	0,77	0,67	0,74	1,19	153	75	91	107	142	1,2	66,9	2	0,62	0,83	0	1,20	6	9
JRGM	91	63,2	25,2	1	0	0	0	0	25	0,65	0,78	1,61	1	85	43	92	192	135	1	0,2	1	0,41	1,21	0	0,83	5	6
RCM	92	37,2	7,5	1	0	0	0	0	31	2,97	1,80	0,64	0,77	90	134	78	122	135	1,2	1,4	2	1,48	0,59	0	1,70	6	6
	93	38,9	27,9	1	0	0	0	0	30	0,81	0,97	0,66	0,58	143	42	94	108	140	0,95	0	2	0,90	1,16	1	0,86	6	6
	94	39,1	30,7	2	1	0	0	1	30	2,77	2,80	0,4	0,61	164	77	99	126	141	1,1	0	2	2,22	0,98	0	1,02	7	5
VCVN	95	35,8	14,5	1	0	0	0	0	38	1,03	1,30	1,22	1,45	105	92	96	205	140	1	0	2	0,63	1,22	0	0,82	5	2
ASA	96	51,3	29,1	1	0	0	0	0	21	2,92	1,51	1,83	0,84	48	15	84	73	140	1,3	0	1	2,07	0,52	0	1,93	6	8
MVSR	97	56,8	18,9	1	0	0	0	0	35	2,65	2,00	0,71	0,87	187	265	163	228	142	1	0,3	2	0,88	0,73	0	1,37	3	3
AAAN	98	51,4	18,5	1	0	0	0	0	25	2,65	1,43	0,72	1,08	143	99	88	180	141	1	0	1	0,80	0,54	0	1,85	3	5
	99	51,6	21,4	1	0	0	0	0	25	3,35	1,49	0,77	1,24	128	94	137	175	141	1	0	1	0,85	0,44	0	2,25	3	5
	93	38,9	27,9	1	0	0	0	0	30	0,81	0,97	0,66	0,58	143	42	94	108	140	0,95	0	2	0,90	1,16	1	0,86	6	6
	94	39,1	30,7	2	1	0	0	1	30	2,77	2,80	0,4	0,61	164	77	99	126	141	1,1	0	2	2,22	0,98	0	1,02	7	5
VCVN	95	35,8	14,5	1	0	0	0	0	38	1,03	1,30	1,22	1,45	105	92	96	205	140	1	0	2	0,63	1,22	0	0,82	5	2
ASA	96	51,3	29,1	1	0	0	0	0	21	2,92	1,51	1,83	0,84	48	15	84	73	140	1,3	0	1	2,07	0,52	0	1,93	6	8

Continua

Conclusão Anexo A

PACIENTE	CASO (BX)	IDADE_ anos	TEMPO_PÓS- TX_meses	Fibrose_ METAVIR	Fibrose_ METAVIR ≥ 2	Fibrose_ METAVIR ≥ 3	Fibrose_ METAVIR 4	METAVIR (1=F signif; 2=F avanç; 3- Cirr; 0 - Nenhuma Das anteriores)	IMC	ALT (LSN)	AST (LSN)	BT	CREATININA	FOSF ALC	GGT	GLICEMIA	PLAQUETAS (x1000)	Na	INR	TP (s acima do normal)	GÊNERO (1=masc/2=fem)	APRI	AST/ALT	ESCORE POHL	ALT/AST	ESCORE BONACINI (EDB)	ÍNDICE IDADE- PLAQUETA
MVSR	97	56,8	18,9	1	0	0	0	0	35	2,65	2,00	0,71	0,87	187	265	163	228	142	1	0,3	2	0,88	0,73	0	1,37	3	3
AAAN	98	51,4	18,5	1	0	0	0	0	25	2,65	1,43	0,72	1,08	143	99	88	180	141	1	0	1	0,80	0,54	0	1,85	3	5
	99	51,6	21,4	1	0	0	0	0	25	3,35	1,49	0,77	1,24	128	94	137	175	141	1	0	1	0,85	0,44	0	2,25	3	5
AMP	100	46,0	10,0	1	0	0	0	0	29	1,54	0,89	0,5	1,53	70	39	107	120	143	1	0,5	1	0,74	0,58	0	1,73	4	7
	101	46,5	16,3	1	0	0	0	0	32	6,16	4,38	0,63	1,37	132	229	109	168	136	1	0,4	1	2,61	0,71	0	1,41	4	5
JLSB	102	66,9	1,5	2	1	0	0	1	33	5,86	1,97	0,45	1,43	241	961	106	307	136	1,1	1,3	1	0,64	0,34	0	2,97	2	4
	103	67,2	4,9	2	1	0	0	1	28	1,97	1,05	0,55	1,66	91	121	139	476	136	1	0	1	0,22	0,53	0	1,87	0	4
	104	67,4	7,2	2	1	0	0	1	28	2,76	1,76	0,55	1,38	67	84	157	413	140	1,1	0,7	1	0,43	0,64	0	1,57	2	4
	105	68,3	17,2	3	1	1	0	2	30	1,03	0,81	0,36	1,05	64	27	126	382	145	1	0,5	1	0,21	0,79	0	1,27	1	4
GSR	106	62,9	12,2	0	0	0	0	0	21	0,97	0,81	0,84	1,33	55	19	102	102	144	1,2	1,9	1	0,79	0,83	0	1,20	6	9
JF	107	42,7	4,4	2	1	0	0	1	24	3,78	2,81	0,7	0,98	91	163	181	119	143	1,2	2,8	1	2,36	0,74	0	1,35	6	7
	108	43,0	7,8	2	1	0	0	1	24	4,70	4,41	0,89	0,84	118	298	111	114	140	1,1	1,5	1	3,86	0,94	0	1,07	7	7
MEB	109	48,8	4,8	1	0	0	0	0	32	3,42	6,00	1,85	1,34	148	919	135	228	140	1	0	2	2,63	1,70	0	0,59	5	2
ILB	110	53,6	7,8	2	1	0	0	1	27	1,13	1,83	0,5	1,14	207	519	88	95	139	1	0	2	1,93	1,57	1	0,64	7	8
	111	53,7	9,1	1	0	0	0	0	28	1,84	2,63	0,33	1,37	146	322	90	105	138	1,1	1,1	2	2,51	1,39	1	0,72	7	8
	112	53,8	10,5	2	1	0	0	1	28	2,39	3,23	0,28	1,1	115	392	91	99	144	1,1	1,4	2	3,27	1,31	1	0,76	8	8
GB	113	51,5	10,3	2	1	0	0	1	26	5,65	2,84	1,27	0,92	87	53	94	93	137	1,2	1,7	1	3,05	0,50	0	1,99	6	8
GJR	114	62,5	3,0	1	0	0	0	0	27	11,29	7,07	6,14	1,12	212	1152	269	101	134	1,3	3,6	2	7,00	0,61	0	1,65	6	9
	115	62,7	5,4	2	1	0	0	1	30	6,13	4,10	5,3	1,22	153	648	78	102	132	1,3	3,3	2	4,02	0,65	0	1,54	6	9
RB	116	52,5	6,3	1	0	0	0	0	25	1,78	1,14	0,75	1,27	93	66	103	199	140	1,1	0,6	1	0,57	0,64	0	1,57	5	5
SLR	117	36,4	5,5	1	0	0	0	0	30	2,92	1,35	0,77	2,08	83	190	110	118	136	1,1	0,5	1	1,15	0,46	0	2,16	5	6
	118	36,6	7,2	1	0	0	0	0	30	5,49	3,57	1,18	1,63	83	298	133	120	139	1	0,4	1	2,97	0,65	0	1,54	5	6
ILB	110	53,6	7,8	2	1	0	0	1	27	1,13	1,83	0,5	1,14	207	519	88	95	139	1	0	2	1,93	1,57	1	0,64	7	8

Anexo B: Descrição das características dos 45 pacientes incluídos no estudo

PACIENTE	Gênero (1=masc/ 2=fem)	Genótipo	Plaquetas pré-Tx	Idade Receptor (anos)	IMC	Imunos- supressão Tac =1, CyS=2	Imunos- supressão Aza =1, MMF=2, Myf=3	Indicação Tx - somente VHC=1, CHC=2, EtOH=3, CHC+EtOH=4
EAA	1	1a/1b	45	41,8	20	1	1	3
MDOP	2	1b	128	58,5	21	1		1
TSB	2	1b	68	51,8	19	1		1
RNF	1	3a	160	57,4	23	1		2
CRF	2	3a	34	58,3	22	1	2	1
DZ	1	3a	41	54,7	24	1	2	1
JFB	1	1	75	51,5	22	1	2	1
MIB	2	1a	237	51,9	33	1		1
JCV	1	1b	127	51,7	26	1		3
ERP	1	3a	83	45,9	26	1		1
AMCS	2	1b	60	53,7	33	1		1
ROC	1	1	18	51,5	25	1		2
VM	1	1	50	59,3	28	2		1
PNO	1	2	49	42,1	20	1	2	3
RPS	2	1	53	56,9	27	1		2
LCM	1	1b	111	63,0	20	1	3	2
RFCF	1	3a	71	54,2	26	1		1
JPS	1	1a	68	38,4	24	1		2
EAO	1	3a	20	66,1	21	1	2	2
WGS	1	1a	90	26,1	25	1		1
MAR	1	3a	39	36,6	29	1	3	1
MC	1	1b	39	32,5	24	1		1
JFI	1	1b	152	55,9	30	1	3	1
OL	1	3a	92	65,6	25	1		2
MMN	2	1a	34	61,9	24	1		1
JMO	1	1b	62	37,8	25	1		2
FJBS	1	1a	86	41,9	23	1		3
JCGS	1	3a	125	59,1	24	1		2
EF	2	1b	65	65,8	23	1		1
JRGM	1	3a	64	63,2	25	1	2	1
RCM	2	1a	96	37,2	31	1	2	1
VCVN	2	1b	127	35,8	38	1	2	2
ASA	1	3a	33	51,3	21	1		1
MVSR	2	1	54	56,8	35	1	2	2
AAAN	1	1a	47	51,4	25	1		1
AMP	1	3a	36	46,0	29	1		2
JLSB	1	1b	282	66,9	33	1		2
GSR	1	3a	37	62,9	21	1		4
JF	2	1a	25	42,7	24	1		1
MEB	2	1	137	48,8	32	1	2	2
ILB	1	3a	38	53,6	27	1		2
GB	2	3a	41	51,5	26	1		1
GJR	1	1b	52	62,5	27	1		2
RB	1	3a	108	52,5	25	1		2
SLR	1	1b	77	36,4	30	1		1

Anexo C: Descrição dos pontos de corte do APRI para os 118 casos de acordo com sensibilidades e especificidades

Ponto de Corte	Sensibilidade	Especificidade	Corretamente classificado
(>=0.21)	1,00	0,00	0,35
(>=0.22)	0,98	0,00	0,34
(>=0.28)	0,95	0,00	0,33
(>=0.29)	0,95	0,01	0,34
(>=0.31)	0,95	0,03	0,35
(>=0.36)	0,95	0,04	0,36
(>=0.41)	0,95	0,05	0,36
(>=0.43)	0,95	0,06	0,37
(>=0.46)	0,93	0,06	0,36
(>=0.47)	0,90	0,06	0,36
(>=0.52)	0,90	0,08	0,36
(>=0.55)	0,90	0,10	0,38
(>=0.57)	0,88	0,10	0,37
(>=0.58)	0,88	0,12	0,38
(>=0.6)	0,88	0,13	0,39
(>=0.62)	0,88	0,14	0,40
(>=0.63)	0,88	0,17	0,42
(>=0.64)	0,88	0,18	0,42
(>=0.69)	0,85	0,19	0,42
(>=0.71)	0,85	0,21	0,43
(>=0.74)	0,85	0,22	0,44
(>=0.75)	0,80	0,23	0,43
(>=0.77)	0,78	0,23	0,42
(>=0.79)	0,76	0,23	0,42
(>=0.8)	0,76	0,26	0,43
(>=0.81)	0,76	0,27	0,44
(>=0.85)	0,76	0,29	0,45
(>=0.88)	0,76	0,31	0,47
(>=0.9)	0,76	0,34	0,48
(>=0.95)	0,76	0,35	0,49
(>=0.96)	0,76	0,36	0,50
(>=0.97)	0,73	0,36	0,49
(>=1.01)	0,73	0,38	0,50
(>=1.04)	0,73	0,39	0,51
(>=1.05)	0,73	0,40	0,52
(>=1.08)	0,73	0,42	0,53

Continua...

Continuação Anexo C

Ponto de Corte	Sensibilidade	Especificidade	Corretamente classificado	
(>=1.09)	0,73	0,43	0,53	
(>=1.11)	0,73	0,44	0,54	
(>=1.14)	0,73	0,45	0,55	
(>=1.15)	0,73	0,47	0,56	
(>=1.18)	0,73	0,49	0,58	
(>=1.27)	0,71	0,49	0,57	
(>=1.36)	0,68	0,49	0,56	
(>=1.42)	0,68	0,51	0,57	
(>=1.48)	0,68	0,52	0,58	
(>=1.62)	0,68	0,53	0,58	
(>=1.69)	0,68	0,55	0,59	
(>=1.77)	0,68	0,56	0,60	
(>=1.86)	0,68	0,57	0,61	
(>=1.88)	0,68	0,58	0,62	
(>=1.93)	0,68	0,60	0,63	
(>=1.97)	0,66	0,60	0,62	
(>=1.98)	0,66	0,61	0,63	
(>=2)	0,66	0,62	0,64	
(>=2.06)	0,66	0,64	0,64	
(>=2.07)	0,66	0,65	0,65	
(>=2.22)	0,66	0,66	0,66	
(>=2.29)	0,63	0,66	0,65	
(>=2.36)	0,63	0,69	0,67	
(>=2.38)	0,61	0,69	0,66	
(>=2.5)	0,61	0,71	0,68	
(>=2.51)	0,61	0,73	0,69	
(>=2.56)	0,61	0,74	0,69	
(>=2.59)	0,61	0,75	0,70	
(>=2.61)	0,61	0,77	0,71	
(>=2.62)	0,61	0,78	0,72	Ponto de corte escolhido
(>=2.63)	0,59	0,78	0,71	
(>=2.68)	0,59	0,79	0,72	
(>=2.78)	0,56	0,79	0,71	
(>=2.83)	0,54	0,79	0,70	
(>=2.97)	0,54	0,81	0,71	
(>=2.98)	0,54	0,82	0,72	
(>=3.02)	0,51	0,82	0,71	
(>=3.04)	0,51	0,83	0,72	
(>=3.05)	0,51	0,84	0,73	
(>=3.07)	0,49	0,84	0,72	Continua...

Conclusão Anexo C

Ponto de Corte	Sensibilidade	Especificidade	Corretamente classificado
(≥ 3.15)	0,49	0,86	0,73
(≥ 3.2)	0,49	0,87	0,74
(≥ 3.27)	0,49	0,88	0,75
(≥ 3.33)	0,46	0,88	0,74
(≥ 3.35)	0,44	0,88	0,73
(≥ 3.68)	0,44	0,90	0,74
(≥ 3.73)	0,41	0,90	0,73
(≥ 3.86)	0,39	0,90	0,72
(≥ 4.02)	0,37	0,90	0,71
(≥ 4.57)	0,34	0,91	0,71
(≥ 4.65)	0,32	0,91	0,70
(≥ 4.98)	0,29	0,91	0,69
(≥ 5)	0,27	0,91	0,69
(≥ 5.2)	0,27	0,92	0,69
(≥ 5.26)	0,27	0,94	0,70
(≥ 5.45)	0,24	0,94	0,69
(≥ 5.92)	0,22	0,94	0,69
(≥ 6.14)	0,22	0,95	0,69
(≥ 6.45)	0,20	0,95	0,69
(≥ 6.78)	0,17	0,95	0,68
(≥ 7)	0,17	0,96	0,69
(≥ 7.79)	0,17	0,97	0,69
(≥ 8.19)	0,17	0,99	0,70
(≥ 8.33)	0,15	0,99	0,69
(≥ 8.66)	0,12	0,99	0,69
(≥ 11.16)	0,10	0,99	0,68
(≥ 11.63)	0,07	0,99	0,67
(≥ 13.7)	0,05	0,99	0,66
(≥ 16.97)	0,05	1,00	0,67
(≥ 96.8)	0,02	1,00	0,66
(≥ 96.8)	0,00	1,00	0,65

Anexo D: Descrição dos pontos de corte do índice idade-plaqueta para os 118 casos de acordo com sensibilidades e especificidades

Ponto de Corte	Sensibilidade	Especificidade	Corretamente classificado
(≥ 2)	1,00	0,00	0,35
(≥ 3)	1,00	0,03	0,36
(≥ 4)	0,98	0,16	0,44
(≥ 5)	0,88	0,29	0,49
(≥ 6)	0,73	0,38	0,50
(≥ 7)	0,59	0,57	0,58
(≥ 8)	0,41	0,73	0,62
(≥ 9)	0,12	0,90	0,63
(> 9)	0,00	1,00	0,65

Ponto de corte escolhido

**Anexo E: Descrição dos pontos de corte do Escore de Bonacini
para os 118 casos de acordo com sensibilidades e especificidades**

Ponto de Corte	Sensibilidade	Especificidade	Corretamente classificado
(≥ 1)	0,98	0,00	0,34
(≥ 2)	0,93	0,03	0,34
(≥ 3)	0,88	0,09	0,36
(≥ 4)	0,85	0,22	0,44
(≥ 5)	0,83	0,36	0,53
(≥ 6)	0,71	0,52	0,58
(≥ 7)	0,54	0,74	0,67
(≥ 8)	0,41	0,95	0,76
(≥ 9)	0,15	0,97	0,69
(≥ 10)	0,05	0,97	0,65
(> 10)	0,00	1,00	0,65

Ponto de corte escolhido

Anexo F: Descrição dos pontos de corte da razão AST/ALT para os 118 casos de acordo com sensibilidades e especificidades

Ponto de Corte	Sensibilidade	Especificidade	Corretamente classificado
(>= .34)	1,00	0,00	0,35
(>= .37)	0,98	0,00	0,34
(>= .42)	0,98	0,01	0,35
(>= .43)	0,98	0,04	0,36
(>= .44)	0,98	0,05	0,37
(>= .45)	0,98	0,09	0,40
(>= .46)	0,98	0,10	0,41
(>= .48)	0,98	0,13	0,42
(>= .5)	0,98	0,14	0,43
(>= .52)	0,95	0,17	0,44
(>= .53)	0,95	0,19	0,46
(>= .54)	0,90	0,22	0,46
(>= .55)	0,90	0,26	0,48
(>= .56)	0,90	0,27	0,49
(>= .57)	0,85	0,29	0,48
(>= .58)	0,85	0,30	0,49
(>= .59)	0,83	0,32	0,50
(>= .6)	0,83	0,35	0,52
(>= .61)	0,80	0,38	0,53
(>= .62)	0,80	0,40	0,54
(>= .64)	0,80	0,42	0,55
(>= .65)	0,76	0,45	0,56
(>= .66)	0,73	0,48	0,57
(>= .67)	0,71	0,49	0,57
(>= .68)	0,68	0,51	0,57
(>= .69)	0,68	0,53	0,58
(>= .7)	0,68	0,55	0,59
(>= .71)	0,66	0,55	0,58
(>= .72)	0,66	0,58	0,61
(>= .73)	0,63	0,58	0,60
(>= .74)	0,63	0,61	0,62
(>= .75)	0,61	0,64	0,63
(>= .79)	0,61	0,65	0,64
(>= .8)	0,59	0,65	0,63
(>= .81)	0,56	0,68	0,64
(>= .83)	0,54	0,70	0,64
(>= .84)	0,51	0,78	0,69

Continua...

Conclusão Anexo F

Ponto de Corte	Sensibilidade	Especificidade	Corretamente classificado	
($\geq$.87)	0,49	0,78	0,68	
($\geq$.88)	0,49	0,81	0,69	
($\geq$.89)	0,49	0,82	0,70	Ponto de corte escolhido
($\geq$.9)	0,46	0,82	0,69	
($\geq$.91)	0,44	0,82	0,69	
($\geq$.93)	0,41	0,82	0,68	
($\geq$.94)	0,41	0,83	0,69	
($\geq$.96)	0,39	0,83	0,68	
($\geq$.97)	0,37	0,84	0,68	
($\geq$.98)	0,37	0,86	0,69	
($\geq$ 1)	0,32	0,86	0,67	
($\geq$ 1.04)	0,32	0,87	0,68	
($\geq$ 1.16)	0,29	0,88	0,68	
($\geq$ 1.19)	0,29	0,90	0,69	
($\geq$ 1.21)	0,29	0,91	0,69	
($\geq$ 1.22)	0,29	0,92	0,70	
($\geq$ 1.26)	0,29	0,94	0,71	
($\geq$ 1.31)	0,27	0,94	0,70	
($\geq$ 1.33)	0,24	0,94	0,69	
($\geq$ 1.39)	0,24	0,95	0,70	
($\geq$ 1.44)	0,22	0,96	0,70	
($\geq$ 1.57)	0,22	0,97	0,71	
($\geq$ 1.66)	0,20	0,97	0,70	
($\geq$ 1.67)	0,17	0,97	0,69	
($\geq$ 1.7)	0,15	0,97	0,69	
($\geq$ 1.76)	0,15	0,99	0,69	
($\geq$ 1.8)	0,12	0,99	0,69	
($\geq$ 2.14)	0,10	0,99	0,68	
($\geq$ 2.2)	0,07	0,99	0,67	
($\geq$ 3.29)	0,05	0,99	0,66	
($\geq$ 4.36)	0,05	1,00	0,67	
($\geq$ 4.84)	0,02	1,00	0,66	
($>$ 4.84)	0,00	1,00	0,65	

Anexo G: Descrição dos pontos de corte do APRI para os 45 pacientes de acordo com sensibilidades e especificidades

Ponto de Corte	Sensibilidade	Especificidade	Corretamente classificado	
(>= .21)	100,00%	0,00%	44,44%	
(>= .31)	95,00%	0,00%	42,22%	
(>= .41)	95,00%	4,00%	44,44%	
(>= .52)	95,00%	8,00%	46,67%	
(>= .55)	95,00%	12,00%	48,89%	
(>= .57)	90,00%	12,00%	46,67%	
(>= .6)	90,00%	16,00%	48,89%	
(>= .62)	90,00%	20,00%	51,11%	
(>= .63)	90,00%	24,00%	53,33%	
(>= .69)	90,00%	28,00%	55,56%	
(>= .74)	90,00%	32,00%	57,78%	
(>= .75)	85,00%	32,00%	55,56%	
(>= .79)	80,00%	32,00%	53,33%	
(>= .85)	80,00%	36,00%	55,56%	
(>= .88)	80,00%	40,00%	57,78%	
(>= .9)	80,00%	44,00%	60,00%	
(>= .95)	80,00%	48,00%	62,22%	
(>= .96)	80,00%	52,00%	64,44%	
(>= 1.04)	75,00%	52,00%	62,22%	
(>= 1.09)	75,00%	56,00%	64,44%	
(>= 1.27)	75,00%	60,00%	66,67%	Ponto de corte escolhido
(>= 1.36)	70,00%	60,00%	64,44%	
(>= 1.77)	70,00%	64,00%	66,67%	
(>= 1.86)	70,00%	68,00%	68,89%	
(>= 2.07)	70,00%	72,00%	71,11%	
(>= 2.38)	70,00%	76,00%	73,33%	
(>= 2.56)	70,00%	80,00%	75,56%	
(>= 2.61)	70,00%	84,00%	77,78%	
(>= 2.62)	70,00%	88,00%	80,00%	
(>= 2.63)	65,00%	88,00%	77,78%	
(>= 2.97)	65,00%	92,00%	80,00%	
(>= 2.98)	65,00%	96,00%	82,22%	
(>= 3.05)	60,00%	96,00%	80,00%	
(>= 3.27)	55,00%	96,00%	77,78%	
(>= 3.68)	50,00%	96,00%	75,56%	
(>= 3.73)	45,00%	96,00%	73,33%	
(>= 3.86)	40,00%	96,00%	71,11%	
(>= 4.02)	35,00%	96,00%	68,89%	
(>= 4.57)	30,00%	96,00%	66,67%	
(>= 4.65)	25,00%	96,00%	64,44%	
(>= 7.79)	20,00%	96,00%	62,22%	
(>= 8.33)	20,00%	100,00%	64,44%	
(>= 11.16)	15,00%	100,00%	62,22%	
(>= 11.63)	10,00%	100,00%	60,00%	
(>= 16.97)	5,00%	100,00%	57,78%	
(> 16.97)	0,00%	100,00%	55,56%	

Anexo H: Descrição dos pontos de corte do índice idade-plaqueta para os 45 pacientes de acordo com sensibilidades e especificidades

Ponto de Corte	Sensibilidade	Especificidade	Corretamente classificado
(≥ 2)	100,00%	0,00%	44,44%
(≥ 3)	100,00%	8,00%	48,89%
(≥ 4)	95,00%	16,00%	51,11%
(≥ 5)	90,00%	36,00%	60,00%
(≥ 6)	80,00%	52,00%	64,44%
(≥ 7)	70,00%	72,00%	71,11%
(≥ 8)	55,00%	80,00%	68,89%
(≥ 9)	20,00%	92,00%	60,00%
(> 9)	0,00%	100,00%	55,56%

Ponto de corte escolhido

Anexo I: Descrição dos pontos de corte do Escore de Bonacini para os 45 pacientes de acordo com sensibilidades e especificidades

Ponto de Corte	Sensibilidade	Especificidade	Corretamente classificado	
(>= 1)	100,00%	0,00%	44,44%	
(>= 2)	90,00%	0,00%	40,00%	
(>= 3)	90,00%	8,00%	44,44%	
(>= 4)	90,00%	28,00%	55,56%	
(>= 5)	90,00%	36,00%	60,00%	
(>= 6)	70,00%	68,00%	68,89%	
(>= 7)	50,00%	92,00%	73,33%	
(>= 8)	45,00%	100,00%	75,56%	Ponto de corte escolhido
(>= 9)	20,00%	100,00%	64,44%	
(>= 10)	10,00%	100,00%	60,00%	
(> 10)	0,00%	100,00%	55,56%	

Anexo J: Descrição dos pontos de corte da razão AST/ALT para os 45 pacientes de acordo com sensibilidades e especificidades

Ponto de Corte	Sensibilidade	Especificidade	Corretamente classificado	
(>= .43)	100,00%	0,00%	44,44%	
(>= .44)	100,00%	4,00%	46,67%	
(>= .5)	100,00%	8,00%	48,89%	
(>= .52)	95,00%	12,00%	48,89%	
(>= .54)	95,00%	16,00%	51,11%	
(>= .56)	95,00%	24,00%	55,56%	
(>= .58)	90,00%	24,00%	53,33%	
(>= .62)	85,00%	24,00%	51,11%	
(>= .64)	85,00%	28,00%	53,33%	
(>= .65)	85,00%	36,00%	57,78%	
(>= .66)	80,00%	40,00%	57,78%	
(>= .67)	75,00%	40,00%	55,56%	
(>= .7)	70,00%	44,00%	55,56%	
(>= .71)	65,00%	44,00%	53,33%	
(>= .73)	65,00%	48,00%	55,56%	
(>= .74)	65,00%	52,00%	57,78%	
(>= .79)	65,00%	56,00%	60,00%	
(>= .8)	60,00%	56,00%	57,78%	
(>= .81)	55,00%	56,00%	55,56%	
(>= .83)	50,00%	56,00%	53,33%	
(>= .88)	50,00%	68,00%	60,00%	
(>= .89)	50,00%	72,00%	62,22%	Ponto de corte escolhido
(>= .9)	45,00%	72,00%	60,00%	
(>= .94)	40,00%	72,00%	57,78%	
(>= .96)	35,00%	72,00%	55,56%	
(>= .98)	35,00%	76,00%	57,78%	
(>= 1)	30,00%	76,00%	55,56%	
(>= 1.16)	30,00%	80,00%	57,78%	
(>= 1.21)	30,00%	84,00%	60,00%	
(>= 1.22)	30,00%	88,00%	62,22%	
(>= 1.31)	30,00%	92,00%	64,44%	
(>= 1.33)	25,00%	92,00%	62,22%	
(>= 1.7)	25,00%	96,00%	64,44%	
(>= 1.76)	25,00%	100,00%	66,67%	
(>= 1.8)	20,00%	100,00%	64,44%	
(>= 2.14)	15,00%	100,00%	62,22%	
(>= 2.2)	10,00%	100,00%	60,00%	
(>= 4.36)	5,00%	100,00%	57,78%	Continua...

Conclusão Anexo J

Ponto de Corte	Sensibilidade	Especificidade	Corretamente classificado
(> 4.36)	0,00%	100,00%	55,56%
(>= .43)	100,00%	0,00%	44,44%
(>= .44)	100,00%	4,00%	46,67%
(>= .5)	100,00%	8,00%	48,89%
(>= .52)	95,00%	12,00%	48,89%
(>= .54)	95,00%	16,00%	51,11%
(>= .56)	95,00%	24,00%	55,56%
(>= .58)	90,00%	24,00%	53,33%
(>= .62)	85,00%	24,00%	51,11%
(>= .64)	85,00%	28,00%	53,33%
(>= .65)	85,00%	36,00%	57,78%
(>= .66)	80,00%	40,00%	57,78%
(>= .67)	75,00%	40,00%	55,56%
(>= .7)	70,00%	44,00%	55,56%
(>= .71)	65,00%	44,00%	53,33%
(>= .73)	65,00%	48,00%	55,56%
(>= .74)	65,00%	52,00%	57,78%
(>= .79)	65,00%	56,00%	60,00%
(>= .8)	60,00%	56,00%	57,78%
(>= .81)	55,00%	56,00%	55,56%
(>= .83)	50,00%	56,00%	53,33%
(>= .88)	50,00%	68,00%	60,00%
(>= .89)	50,00%	72,00%	62,22%
(>= .9)	45,00%	72,00%	60,00%
(>= .94)	40,00%	72,00%	57,78%
(>= .96)	35,00%	72,00%	55,56%
(>= .98)	35,00%	76,00%	57,78%
(>= 1)	30,00%	76,00%	55,56%
(>= 1.16)	30,00%	80,00%	57,78%
(>= 1.21)	30,00%	84,00%	60,00%
(>= 1.22)	30,00%	88,00%	62,22%
(>= 1.31)	30,00%	92,00%	64,44%
(>= 1.33)	25,00%	92,00%	62,22%

Anexo K: Interpretação de curvas ROC⁶⁶

As curvas ROC são úteis para visibilizar o desempenho de testes diagnósticos. Esses gráficos são comumente utilizados em processos de tomada de decisão médica, e consistem de uma técnica que pode ser utilizada para visibilizar, organizar e selecionar testes diagnósticos baseando-se no seu desempenho diagnóstico. As curvas ROC foram utilizadas primeiramente na teoria de detecção de sinal para ilustrar a diferença entre taxas de acerto e de alarmes falsos em sistemas de detecção (por exemplo, em radares). A análise ROC foi estendida para visibilização de análise para sistemas de diagnose. Os gráficos ROC são bidimensionais, nos quais a taxa de verdadeiros-positivos está representada no eixo Y (vertical) e a taxa de falsos-positivos está representada no eixo X (horizontal). O ponto (0, 1) representa a classificação perfeita. Um gráfico ROC ilustra os intercâmbios relativos entre os “benefícios” (verdadeiros-positivos) e os “custos” (falsos-positivos). A linha diagonal $y=x$ representa a estratégia de adivinhar ao acaso um resultado do teste. Informalmente, um ponto no espaço ROC é melhor que outro ponto se estiver localizado mais acima e à esquerda (taxa de verdadeiros-positivos é mais alta, taxa de falsos-positivos é mais baixa, ou ambos). Testes com resultados ocorrendo no lado esquerdo do gráfico ROC, próximos ao eixo X, podem ser interpretados como “conservadores”: eles realizam classificações positivas apenas com fortes evidências, portanto efetuam poucos erros falsos-positivos, mas frequentemente têm baixas taxas de verdadeiros-positivos

também. Testes com resultados ocorrendo no lado direito do gráfico ROC podem ser interpretados como “liberais”: eles realizam classificações positivas com fracas evidências, portanto efetuam a classificação correta de quase todos os positivos, mas frequentemente têm altas taxas de falsos-positivos. Portanto, as curvas ROC são a ilustração bidimensional do desempenho de um teste diagnóstico. Para que se proceda à comparação de testes diagnósticos, pode-se reduzir o desempenho ROC para um valor simples que representa o desempenho de cada teste de acordo com o seu gráfico ROC. Calcula-se, então, a área abaixo da curva ROC, cujo valor estará sempre situado entre 0 e 1, uma vez que consiste na porção da área de uma unidade quadrada. Entretanto, como a estratégia de escolher ao acaso um resultado do teste produz a linha diagonal entre (0,0) e (1,1), com área igual a 0,5, nenhum teste diagnóstico deveria apresentar uma área abaixo da curva ROC menor que 0,5. Assim, a área abaixo da curva ROC na prática é utilizada frequentemente como uma medida geral de desempenho de um teste diagnóstico, mesmo que um determinado teste com alto valor de área tenha um desempenho inferior em uma região específica do espaço ROC que outro teste de área menor, dependendo da conformação de cada curva.

Anexo L: Características do teste diagnóstico avaliado calculadas pela comparação com teste padrão-ouro ⁷³

Característica do teste	Sinônimo	Questão abordada	Fórmula [†]
Sensibilidade	Taxa de verdadeiros-positivos	Qual é o desempenho desse teste em corretamente identificar indivíduos com a doença?	$a/a+c$
Especificidade	Taxa de verdadeiros-negativos	Qual é o desempenho desse teste em corretamente excluir indivíduos sem a doença?	$d/b+d$
Valor preditivo positivo	Probabilidade pós-teste de um teste positivo	Qual a probabilidade de um teste positivo diagnosticar a doença?	$a/a+b$
Valor preditivo negativo	Probabilidade pós-teste de um teste negativo	Qual a probabilidade de um teste negativo excluir a doença?	$d/c+d$
Acurácia	Verdadeiros-positivos e negativos como proporção de todos os resultados	Qual proporção de todos os testes tem obtido o resultado correto?	$a+d/a+b+c+d$
Razão de verossimilhança de um teste positivo	-	Quantas vezes é mais provável o teste ser positivo em um indivíduo com a doença do que em um indivíduo sadio?	$\text{Sensibilidade}/1\text{-especificidade}$
Razão de verossimilhança de um teste negativo	-	Quantas vezes é mais provável o teste ser negativo em um indivíduo sem a doença do que em um indivíduo doente?	$1\text{-sensibilidade}/\text{especificidade}$

[†]Segundo tabela de contingência “dois por dois” para cálculo das características do teste diagnóstico em comparação com teste padrão-ouro, em que a=verdadeiros positivos, d=verdadeiros negativos, b=falsos positivos e c=falsos negativos.

Anexo M: Aprovação da CAPPesq

APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 30/01/2008, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **1236/07**, intitulado: "**VALOR PREDITIVO DE MARCADORES NÃO INVASIVOS LABORATORIAIS PARA O DIAGNÓSTICO DE FIBROSE HEPÁTICA NA RECIDIVA DA HEPATITE C CRÔNICA PÓS-TRANSPLANTE DE FÍGADO.**" apresentado pelo Departamento de **MOLÉSTIAS INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10/10/1996, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador (a) Responsável: **Edson Abdala**

Pesquisador (a) Executante: **Ricardo Teles Schulz**

CAPPesq, 11 de Fevereiro de 2008

Prof. Dr. Eduardo Massad
**Presidente da Comissão de
Ética para Análise de Projetos
de Pesquisa**

8 REFERÊNCIAS

1. Petrovic LM. Early Recurrence of Hepatitis C Virus Infection After Liver Transplantation. *Liver Transpl.* 2006;12:S32-7.
2. Teixeira R, Menezes EG, Schiano TD. Therapeutic management of recurrent hepatitis C after liver transplantation. *Liver Int.* 2007;27:302-12.
3. Berenguer M, Lopez-Labrador FX, Wright TL. Hepatitis C and liver transplantation. *J Hepatol.* 2001;35:666-78.
4. Féray C, Caccamo L, Alexander GJ, Ducot B, Gugenheim J, Casanovas T, Loinaz C, Gigou M, Burra P, Barkholt L, Esteban R, Bizollon T, Lerut J, Minello-Franza A, Bernard PH, Nachbaur K, Botta-Fridlund D, Bismuth H, Schalm SW, Samuel D. HCV and liver transplantation: preliminary results of a European collaborative study on factors influencing outcome after liver transplantation for hepatitis C. *Gastroenterology.* 1999;117:619-25.
5. Berenguer M, Ferrell L, Watson J, Prieto M, Kim M, Rayón M, Córdoba J, Herola A, Ascher N, Mir J, Berenguer J, Wright TL. HCV-related fibrosis progression following liver transplantation: increase in recent years. *J Hepatol.* 2000;32:673-84.
6. Campos SV, Bonazzi PR, Abdala E, Gotardo DRM, Silva LS, Honório RS, Mello ES, Figueira ERR, Alves VAF, Bacchella T, Machado MCC. Chronic hepatitis C recurrence after liver transplantation. *Liver Transplant.* 2007;13:S213-4.
7. Honório RS. Avaliação de variáveis potencialmente preditivas de má evolução da recidiva da hepatite C em pacientes submetidos a transplante de fígado, com ênfase nos achados anátomo-patológicos [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2009.

8. Gane EJ, Portmann BC, Naoumov NV, Smith HM, Underhill JA, Donaldson PT, Maertens G, Williams R. Long-term outcome of hepatitis C infection after liver transplantation. *N Engl J Med*. 1996;334:815-20.
9. Forman LM, Lewis JD, Berlin JA, Feldman HI, Lucey MR. The association between hepatitis C infection and survival after orthotopic liver transplantation. *Gastroenterology*. 2002;122:889-96.
10. Chopra KB, Demetris AJ, Blakolmer K, Dvorchik I, Laskus T, Wang LF, Araya VR, Dodson F, Fung JJ, Rakela J, Vargas HE. Progression of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C after orthotopic liver transplantation. *Transplantation*. 2003;76:1487-91.
11. Berenguer M, Crippin J, Gish R, Bass N, Bostrom A, Netto G, Alonzo J, Garcia-Kennedy R, Rayón JM, Wright TL. A model to predict severe HCV-related disease following liver transplantation. *Hepatology*. 2003;38:34-41.
12. Rosen HR, Shackleton CR, Higa L, Gralnek IM, Farmer DA, McDiarmid SV, Holt C, Lewin KJ, Busuttil RW, Martin P. Use of OKT3 is associated with early and severe recurrence of hepatitis C after liver transplantation. *Am J Gastroenterol*. 1997;92:1453-7.
13. Schiano TD, Martin P. Management of HCV Infection and Liver Transplantation. *Int J Med Sci*. 2006;3:79-83.
14. Samuel D, Forns X, Berenguer M, Trautwein C, Burroughs A, Rizzetto M, Trepo C. Report of the monothematic EASL conference on liver transplantation for viral hepatitis. *J Hepatol*. 2006;45:127-143.
15. Berenguer M, Prieto M, Rayón JM, Mora J, Pastor M, Ortiz V, Carrasco D, San Juan F, Burgueño MD, Mir J, Berenguer J. Natural history of clinically compensated hepatitis C virus-related graft cirrhosis after liver transplantation. *Hepatology*. 2000;32:852-8

16. Andraus W, Farias AQ. Fatores determinantes no expressivo aumento de transplantes de fígado em um único centro. *Rev Med.* 2009;88:143-9.
17. D'Albuquerque LAC. [editorial]. *Rev Med.* 2009;88:i-ii.
18. Petrovic LM, Villamil FG, Vierling JM, Makowka L, Gellar SA. Comparison of histopathology in acute allograft rejection and recurrent hepatitis C infection after liver transplantation. *Liver Transpl Surg.* 1997;3:398-406.
19. Sreekumar R, Gonzalez-Koch A, Maor-Kendler Y, Batts K, Moreno-Luna L, Poterucha J, Burgart L, Wiesner R, Kremers W, Rosen C, Charlton MR. Early identification of recipients with progressive histologic recurrence of hepatitis C after liver transplantation. *Hepatology.* 2000;32:1125-30.
20. Cadranel JF, Rufat P, Degos F. Practices of liver biopsy in France: results of a prospective nationwide survey. *Hepatology.* 2000;32:477-81.
21. Bravo AA, Sheth SG, Chopra S. Liver biopsy. *N Engl J Med.* 2001;344:495-500.
22. Thampanitchawong P, Piratvisuth T. Liver biopsy: Complications and risk factors. *World J Gastroenterol.* 1999;5:301-4.
23. Little AF, Ferris JV, Dodd GD 3rd, Baron RL. Image-guided percutaneous hepatic biopsy: Effect of ascites on the complication rate. *Radiology.* 1996;199:79-83.
24. Lindor KD, Bru C, Jorgensen RA, Rakela J, Bordas JM, Gross JB, Rodes J, McGill DB, Reading CC, James EM, Charboneau JW, Ludwig J, Batts KP, Zinsmeister AR. The role of ultrasonography and automatic-needle biopsy in outpatient percutaneous liver biopsy. *Hepatology.* 1996;23:1079-83.

-
25. Froehlich F, Lamy O, Fried M, Gonvers JJ. Practice and complications of liver biopsy. Results of a nationwide survey in Switzerland. *Dig Dis Sci*. 1993;38:1480–4.
 26. Bedossa P, Poynard T, and the Metavir Cooperative Group. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 1994;20:15-20.
 27. Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pyrsopoulos NT, Feng ZZ, Reddy KR, Schiff ER. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol*. 2002;97:2614-18.
 28. Siddique I, El-Naga HA, Madda JP, Memon A, Hasan F. Sampling variability on percutaneous liver biopsy in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Scand J Gastroenterol*. 2003;38:427-32.
 29. Scheuer PJ. Liver biopsy size matters in chronic hepatitis: bigger is better. *Hepatology*. 2003;38:1356-8.
 30. Bedossa P, Dargere D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;38:1449-57.
 31. Westin J, Lagging LM, Wejstal R, Norkans G, Dhillon AP. Interobserver study of liver histology using the Ishak score in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Liver*. 1999;19:183-7.
 32. Carrión JA, Fernández-Varo G, Bruguera M, García-Pagán JC, García-Valdecasas JC, Pérez-Del-Pulgar S, Forns X, Jiménez W, Navasa M. Serum fibrosis markers identify patients with mild and progressive hepatitis C recurrence after liver transplantation. *Gastroenterology*. 2010;138:147-58.

-
33. Castera L, Forns X, Alberti A. Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography. *J Hepatol*. 2008;48:835–47
 34. Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, Yon S, Fournier C, Mal F, Christidis C, Ziol M, Poulet B, Kazemi F, Beaugrand M, Palau R. Transient elastography: a new non-invasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol* 2003;29:1705–13.
 35. Sagir A, Erhardt A, Schmitt M, Haussinger D. Transient elastography is unreliable for detection of cirrhosis in patients with acute liver damage. *Hepatology*. 2007;47:592–5.
 36. Carrion JA, Navasa M, Bosch J, Bruguera M, Gilabert R, Forns X. Transient elastography for diagnosis of advanced fibrosis and portal hypertension in patients with hepatitis C recurrence after liver transplantation. *Liver Transpl*. 2006;12:1791–8.
 37. Pungpapong S, Nunes DP, Krishna M, Nakhleh R, Chambers K, Ghabril M, Dickson RC, Hughes CB, Steers J, Nguyen JH, Keaveny AP. Serum Fibrosis Markers Can Predict Rapid Fibrosis Progression After Liver Transplantation for Hepatitis C. *Liver Transpl*. 2008;14:1294-1302.
 38. Guechot J, Laudat A, Loria A, Serfaty L, Poupon R, Giboudeau J. Diagnostic accuracy of hyaluronan and type III procollagen amino-terminal peptide serum assays as markers of liver fibrosis in chronic viral hepatitis C evaluated by ROC curve analysis. *Clin Chem*. 1996;42:558–63.
 39. Guechot J, Loria A, Serfaty L, Giral P, Giboudeau J, Poupon R. Serum hyaluronan as a marker of liver fibrosis in chronic viral hepatitis C: effect of alpha-interferon therapy. *J Hepatol*. 1995;22:22–6.

40. Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, Becka M, Burt A, Schuppan D, Hubscher S, Roskams T, Pinzani M, Arthur MJ; European Liver Fibrosis Group.. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology*. 2004;127:1704–13.
41. Fontana RJ, Lok AS. Noninvasive monitoring of patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2002;36:S57-S64.
42. Bonacini M, Hadi G, Govindarajan S, Lindsay KL. Utility of a discriminant score for diagnosing advanced fibrosis or cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol*. 1997;92:1302-4.
43. Pohl A, Behling C, Oliver D, Kilani M, Monson P, Hassanein T. Serum aminotransferase levels and platelet counts as predictors of degree of fibrosis in chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol*. 2001;96:3142-6.
44. Poynard T, Bedossa P, METAVIR and CLINIVIR cooperative study groups. Age and platelet count: a simple index for predicting the presence of histological lesions in patients with antibodies to hepatitis C virus. *J Viral Hepat*. 1997;4:199-208.
45. Wai C-T, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, Lok AS-F. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;38:518-26.
46. Calès P, Oberti F, Michalak S, Hubert-Fouchard I, Rousselet M-C, Konaté A, Gallois Y, Ternisien C, Chevaller A, Lunel F. A novel panel of blood markers to assess the degree of liver fibrosis. *Hepatology*. 2005;42:1373-81.

47. Schiavon LL, Schiavon JLN, Carvalho Filho RJ, Sampaio JP, Lanzoni VP, Silva AEB, Ferraz MLG. Simple blood tests as noninvasive markers of liver fibrosis in hemodialysis patients with chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology*. 2007;46:307-14.
48. Sebastiani G, Vario A, Guido M, Alberti A. Sequential algorithms combining non-invasive markers and biopsy for the assessment of liver fibrosis in chronic hepatitis B. *World J Gastroenterol*. 2007;13: 525-31.
49. Williams ALB, Hoofnagle JH. Ratio of serum aspartate to alanine aminotransferases in chronic hepatitis: relationship to cirrhosis. *Gastroenterology*. 1988;95:734-9.
50. Sheth SG, Flamm SL, Gordon FD, Chopra S. AST/ALT ratio predicts cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol*. 1998;93:44-8.
51. Reedy DW, Loo AT, Levine RA. AST/ALT ratio ≥ 1 is not diagnostic of cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci*. 1998;43:2156-9.
52. Park GJH, Lin BPC, Ngu MC, Jones DB, Katelaris PH. Aspartate aminotransferase: alanine aminotransferase ratio in chronic hepatitis C infection: is it a useful predictor of cirrhosis? *J Gastroenterol Hepatol*. 2000;15:386-90.
53. Imperiale TF, Said AT, Cummings OW, Born LJ. Need for validation of clinical decision aids: use of the AST/ALT ratio in predicting cirrhosis in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol*. 2000;95:2328-32.
54. Giannini E, Risso D, Botta F, Chiarbonello B, Fasoli A, Malfatti F, Romagnoli P, Testa E, Ceppa P, Testa R. Validity and clinical utility of the aspartate aminotransferase-alanine aminotransferases ratio in assessing disease severity and prognosis in patients with hepatitis C virus-related chronic liver disease. *Arch Intern Med*. 2003;163:218-24.

-
55. Forns X, Ampurdanes S, Llovet JM, Aponte J, Quinto L, Martinez-Bauer E, Bruguera M, Sanchez-Tapias JM, Rodes J. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology*. 2002;36:986–92.
 56. Ono E, Shiratori Y, Okudaira T, Imamura M, Teratani T, Kanai F, Kato N, Yoshida H, Shiina S, Omata M. Platelet count reflects stage of chronic hepatitis C. *Hepatol Res*. 1999;15:192-200.
 57. Giannini E, Testa R. Noninvasive diagnosis of fibrosis: the truth is rarely pure and never simple [letter]. *Hepatology*. 2003;38:1312-13.
 58. Berg T, Sarrazin C, Hinrichsen H, Buggisch P, Gerlach T, Zachoval R, Zeuzem S. Does noninvasive staging of fibrosis challenge liver biopsy as a gold standard in chronic hepatitis C? [letter]. *Hepatology*. 2004;39:1456-8.
 59. Benlloch S, Berenguer M, Prieto M, Rayón JM, Aguilera V, Berenguer J. Prediction of fibrosis in HCV-infected liver transplant recipients with a simple noninvasive index. *Liver Transpl*. 2005;11:456-62.
 60. Toniutto P, Carlo Fabris C, Bitetto D, Falleti E, Avellini C, Rossi E, Smirne C, Minisini R, Pirisi M. Role of AST to platelet ratio index in the detection of liver fibrosis in patients with recurrent hepatitis C after liver transplantation. *J Gastroenterol Hepatol* 2007;22:1904–8.
 61. Berenguer M. Non-invasive biomarkers of liver fibrosis in liver transplant patients with hepatitis C: Can we avoid liver biopsies? *Dig Liv Di.s* 2009;41:226–8.
 62. Bedosa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology*. 1996;24:289-93.

-
63. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, Denk H, Desmet V, Korb G, MacSween RN. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol.* 1995;22:696-9.
 64. DeLong E R, DM DeLong, Clarke-Pearson D. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating curves: A nonparametric approach. *Biometrics.* 1988;44:837-45.
 65. Huber-White R. Regression standard errors in clustered samples. *Stata Technical Bulletin.* 1993;13:19–23.
 66. Fawcett T. An introduction to ROC analysis. *Pattern Recognition Letters.* 2006;27:861–74.
 67. Harada N, Soejima Y, Taketomi A, Yoshizumi T, Ikegami T, Yamashita Y, Itoh S, Kuroda Y, Maehara Y. Assessment of graft fibrosis by transient elastography in patients with recurrent hepatitis C after living donor liver transplantation. *Transplantation.* 2008;15;85:69-74.
 68. Benlloch S, Heredia L, Barquero C, Rayón JM, Pina R, Aguilera V, Prieto M, Berenguer M. Prospective validation of a noninvasive index for predicting liver fibrosis in hepatitis C virus-infected liver transplant recipients. *Liver Transpl.* 2009;15:1798-807.
 69. Cross TJ, Calvaruso V, Foxton MR, Manousou P, Quaglia A, Grillo F, Dhillon AP, Nolan J, Chang TP, O'Grady J, Heneghan MA, O'Beirne JP, Burroughs AK, Harrison PM. A simple, noninvasive test for the diagnosis of liver fibrosis in patients with hepatitis C recurrence after liver transplantation. *J Viral Hepat.* 2010;17:640-9.
 70. Kamphues C, Lotz K, Röcken C, Berg T, Eurich D, Pratschke J, Neuhaus P, Neumann UP. Chances and limitations of non-invasive tests in the assessment of liver fibrosis in liver transplant patients. *Clin Transplant.* 2010;24:652-9.

-
71. Lee YM, O'Brien CB, Yamashiki N, Behro M, Weppler D, Tzakis AG, Schiff ER. Preservation injury patterns in liver transplantation associated with poor prognosis. *Transplant Proc.* 2003;35:2964-6.
 72. Afdhal N, McHutchison J, Brown R, Jacobson I, Manns M, Poordad F, Weksler B, Esteban R. Thrombocytopenia associated with chronic liver disease. *J Hepatol.* 2008;48:1000-7.
 73. Greenhalgh T How to read a paper. Papers that report diagnostic or screening tests. *BMJ.* 1997;315:540-3.