Rodrigo Schuler Honório

**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 apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Doutor em Ciências

Área de concentração: Patologia

Orientador: Prof. Dr. Venâncio Avancini
Ferreira Alves

São Paulo

2009

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Honório, Rodrigo Schuler

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 / Rodrigo Schuler Honório. -- São Paulo, 2009.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Patologia.

Área de concentração: Patologia.

Orientador: Venâncio Avancini Ferreira Alves.

Descritores: 1.Hepatite C crônica 2.Transplante de fígado 3.Recidiva 4.Fibrose
5.Fígado/anatomia & histologia

USP/FM/SBD-429/09

Dedicatória

À minha esposa, Vlândia, aos meus pais, Joaquim e Rosália, e aos meus filhos, Joaquim e Miguel, pelo apoio e incentivo imprescindíveis para a realização desta tese.

Meus sinceros agradecimentos

Ao **Prof. Dr. Venâncio Avancini Ferreira Alves**, sempre instigador do progresso de seus colegas, orientandos e alunos;

Ao **Dr. Evandro Sobroza de Mello**, motivador e estimulador dessa trajetória;

Ao **Dr. Edson Abdala** e ao **Dr. Ricardo Schulz**, que de forma essencial contribuíram com os dados clínico-laboratoriais;

A todos do “**grupo do fígado**” da Divisão de Anatomia Patológica e da Disciplina de Gastroenterologia Clínica e do **Serviço de Transplante e Cirurgia do Fígado**, particularmente nas pessoas do **Prof. Dr. Telesforo Bacchella**, do **Prof. Dr. Luiz Augusto Carneiro D’Albuquerque** e do **Prof. Dr. Flair José Carrilho**, que através do espírito acadêmico-investigador e da liderança contribuíram de modo decisivo para o bom andamento desta pesquisa;

Ao amigo **George Figueira**, companheiro fraterno na luta pelo conhecimento no exílio voluntário;

A todos os funcionários do Departamento de Patologia e da Pós-graduação da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo que sempre foram extremamente solícitos, dos quais cito a secretária **Liduvina**.

A fundação de amparo à pesquisa do estado de São Paulo (**FAPESP**), pelo auxílio financeiro essencial durante este trabalho (processo 05/58663-9)

A todos aqueles que de alguma maneira colaboraram para a realização desta obra.

Normalização Adotada

Esta tese está de acordo com as seguintes normas em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado 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 Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2ª 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 figuras	
Lista de gráficos	
Lista de tabelas	
Resumo	
Summary	

1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Hepatite pelo vírus C: epidemiologia e história natural.....	1
1.2 Hepatite pelo vírus C e transplante hepático.....	2
1.3 Hepatite pelo vírus C recidivada: gravidade.....	3
1.4 Fatores de risco associados a gravidade da hepatite pelo vírus C recidivada.....	4
1.4.1 Fatores de risco clínico-cirúrgico.....	4
1.4.2 Fatores de risco histopatológicos.....	11
2 OBJETIVOS.....	15
3 MÉTODOS.....	16
3.1 Delineamento e Local do estudo.....	16
3.2 Considerações éticas.....	16
3.3 População de estudo.....	16
3.4 Dados clínicos e laboratoriais.....	17
3.5 Dados histopatológicos.....	18
3.6 Células estreladas hepáticas ativadas (avaliação imuno-histoquímica).....	41
3.7 Análise estatística.....	44
4 RESULTADOS.....	45
4.1 Dados gerais.....	45
4.2 Dados clínicos.....	46
4.3 Rejeição celular aguda.....	49
4.4 Biópsia do doador.....	50
4.5 Explante.....	52
4.6 Biópsia pós-revascularização.....	55
4.7 Primeira biópsia após o transplante.....	58
4.7.1 Células estreladas hepáticas ativadas.....	64
4.8 Primeira biópsia com diagnóstico de hepatite crônica.....	66
4.8.1 Células estreladas hepáticas ativadas.....	72
4.9 Alterações histopatológicas relativas a hepatite crônica.....	74
4.10 Esteatose.....	78
5 DISCUSSÃO.....	81
6 CONCLUSÕES.....	104
7 ANEXOS.....	106
8 REFERÊNCIAS.....	137

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – Avaliação da fibrose em espaço porta.....	22
Figura 02 - Avaliação de infiltrado inflamatório em espaço porta.....	23
Figura 03 - Avaliação de atividade inflamatória de interface/necrose em saca-bocado.....	24
Figura 04 - Avaliação de atividade lobular.....	26
Figura 05 - Avaliação de dano ao ducto biliar e presença de agregado/folículo linfóide.....	28
Figura 06 - Avaliação de reação ductular e edema portal.....	29
Figura 07 - Avaliação de infiltrado inflamatório lobular.....	32
Figura 08 - Avaliação de balonização e apoptose hepatocitárias e de glicogenação nuclear.....	33
Figura 09 - Avaliação da presença de granuloma, da bilirrubinostase e de anisonucleose.....	35
Figura 10 - Avaliação de deposição de pigmentos férrico e lipofuscínico.....	37
Figura 11 - Avaliação de esteatose.....	38
Figura 12 - Avaliação de rejeição celular aguda.....	39
Figura 13 - Avaliação de células estreladas hepáticas por exame imuno-histoquímico com marcação para actina de músculo liso.....	43
Figura 14 - Avaliação de células estreladas hepáticas por exame imuno-histoquímico com marcação para actina de músculo liso.....	44

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 - Distribuição do número de pacientes com diagnóstico histopatológico de hepatite crônica após o transplante durante o período de seguimento.....45
- Gráfico 2 – Evolução do IMC entre o período do transplante (inicial) e o período da última biópsia hepática realizada (final) em receptores de transplante hepático por vírus da hepatite C, segundo a taxa de progressão de fibrose.....47
- Gráfico 3 – Número de pacientes de acordo com o acúmulo de pigmento de lipofuscina em receptores de transplante hepático por vírus da hepatite C, segundo a taxa de progressão de fibrose, na primeira biópsia após o transplante (PAT).....59
- Gráfico 4 – Número de pacientes com siderose de acordo com os tipos de células acometidas em receptores de transplante hepático por vírus da hepatite C, segundo a taxa de progressão de fibrose, na primeira biópsia após o transplante (PAT).....60
- Gráfico 5 - Número de pacientes de acordo com a ocorrência e quantidade de células estreladas hepáticas ativadas na região portal/septal marcadas por exame imuno-histoquímico em receptores de transplante hepático por vírus da hepatite C, segundo a taxa de progressão de fibrose, na primeira biópsia após o transplante (PAT).....65
- Gráfico 6 - Número de pacientes de acordo com a ocorrência e quantidade de células estreladas hepáticas ativadas na região periportal marcadas por exame imuno-histoquímico em receptores de transplante hepático por vírus da hepatite C, segundo a taxa de progressão de fibrose, na primeira biópsia após o transplante (PAT).....65
- Gráfico 7 – Número de pacientes de acordo com padrão do infiltrado inflamatório lobular em receptores de transplante hepático por vírus da hepatite C, segundo a taxa de progressão de fibrose, na primeira biópsia após o transplante com diagnóstico de hepatite crônica (PHC)67
- Gráfico 8 – Número de pacientes de acordo com o acúmulo de pigmento de lipofuscina em receptores de transplante hepático por vírus da hepatite C, segundo a taxa de progressão de fibrose, na primeira biópsia após o transplante com diagnóstico de hepatite crônica (PHC).....68

Gráfico 9 - Número de pacientes de acordo com a ocorrência e quantidade de células estreladas hepáticas ativadas na região portal/septal marcadas por exame imuno-histoquímico em receptores de transplante hepático por vírus da hepatite C, segundo a taxa de progressão de fibrose, na primeira biópsia após o transplante com diagnóstico de hepatite crônica (PHC).....	72
Gráfico 10 - Número de pacientes de acordo com a ocorrência e quantidade de células estreladas hepáticas ativadas na região lobular marcadas por exame imuno-histoquímico em receptores de transplante hepático por vírus da hepatite C, segundo a taxa de progressão de fibrose, na primeira biópsia após o transplante com diagnóstico de hepatite crônica (PHC).....	73
Gráfico 11 – Distribuição do estadiamento em biópsias realizadas a partir de dois anos em receptores de transplante hepático por vírus da hepatite C, segundo a taxa de progressão de fibrose.....	74
Gráfico 12 – Distribuição do grau de atividade periportal em biópsias realizadas a partir de dois anos em receptores de transplante hepático por vírus da hepatite C, segundo a taxa de progressão de fibrose.....	75
Gráfico 13 – Distribuição do grau de atividade lobular focal em biópsias realizadas a partir de dois anos em receptores de transplante hepático por vírus da hepatite C, segundo a taxa de progressão de fibrose.....	75
Gráfico 14 - Percentagem de esteatose no explante, na biópsia do doador e em biópsias do enxerto em diferentes intervalos de tempo após o transplante.....	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados clínicos e demográficos de receptores de transplante hepático por vírus da hepatite C, segundo a taxa de rogressão de fibrose.....	49
Tabela 2 – Prevalência, intensidade, número de episódios e período de ocorrência de rejeição celular aguda em receptores de transplante hepático por vírus da hepatite C, segundo a taxa de progressão de fibrose.....	50
Tabela 3 – Avaliação histopatológica do explante de receptores de transplante hepático por vírus da hepatite C, segundo a taxa de progressão de fibrose.....	51
Tabela 4 – Avaliação histopatológica da biópsia do doador de receptores de transplante hepático por vírus da hepatite C, segundo a taxa de progressão de fibrose.....	53
Tabela 5 – Avaliação histopatológica da biópsia de pós-revascularização de receptores de transplante hepático por vírus da hepatite C, segundo a taxa de progressão de fibrose.....	57
Tabela 6 – Avaliação histopatológica da primeira biópsia com diagnóstico de hepatite crônica (PHC) em receptores de transplante hepático por vírus da hepatite C, segundo a taxa de progressão de fibrose.....	62
Tabela 7 - Avaliação de células estreladas hepáticas ativadas por exame imuno-histoquímico na primeira biópsia com diagnóstico de hepatite crônica (PHC) em receptores de transplante hepático por vírus da hepatite C, segundo a taxa de progressão de fibrose.....	66
Tabela 8 – Avaliação histopatológica da primeira biópsia após o transplante em receptores de transplante hepático por vírus da hepatite C, segundo a taxa de progressão de fibrose.....	69
Tabela 9 - Avaliação de células estreladas hepáticas ativadas por exame imuno-histoquímico na primeira biópsia após o transplante em receptores de transplante hepático por vírus da hepatite C, segundo a taxa de progressão de fibrose.....	73
Tabela 10 – Parâmetros histopatológicos de hepatite crônica distribuídos pelo período de realização da biópsia em receptores de transplante hepático por vírus da hepatite C, segundo a taxa de progressão de fibrose.....	76

Tabela 11 – Percentagem de esteatose no explante, na biópsia do doador e em biópsias do enxerto em diferentes intervalos de tempo após o transplante em receptores de transplante hepático por vírus da hepatite C, segundo a taxa de progressão de fibrose.....	80
--	----

RESUMO

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.

Introdução: Hepatite crônica recidivada (HCR) é a regra após o transplante hepático (TH) em pacientes infectados pelo vírus da hepatite C (VHC), provocando progressão de fibrose mais acelerada no órgão transplantado do que no fígado nativo. Vários estudos têm apontado que, dentre os pacientes transplantados por doença terminal relacionada ao VHC, há padrões distintos de evolução pós-transplante, influenciados por diversos aspectos clínicos, demográficos, laboratoriais e histopatológicos. **Objetivos:** Identificar alterações precoces associadas à gravidade da doença recidivada, com ênfase nos achados histopatológicos no TH e nas biópsias de seguimento. **Métodos:** Foi avaliada uma coorte retrospectiva de 41 pacientes que se submeteram a TH entre 1992 e 2004. Dados clínicos foram recuperados dos prontuários médicos e todas as biópsias de fígado foram reavaliadas. Foram estudadas em especial a primeira biópsia após o primeiro mês (PAT) e a primeira biópsia com diagnóstico de hepatite crônica (PHC) de cada paciente. Estas duas biópsias foram também submetidas ao estudo das células estreladas hepáticas através da marcação por α -actina de músculo liso. A presença de esteatose e dos parâmetros de hepatite crônica foi quantificada em todas as biópsias dentro dos diferentes períodos do pós-transplante. **Resultados:** A idade média no transplante foi de 51 anos, com 72% dos pacientes do sexo masculino. O tempo médio de seguimento histopatológico (tempo entre o transplante e a última biópsia hepática realizada) foi de 2234 dias (785-4640). A taxa global anual de progressão de fibrose (TPF) foi de 0,62 (escore de Ishak), a partir da qual os pacientes foram classificados no grupo de “fibrosadores” rápidos (FR), quando TPF $> 0,62$, e no grupo de “fibrosadores” lentos (FL), quando TPF $< 0,62$. O tempo para o diagnóstico histopatológico de HCR, os fatores ligados ao doador e os achados histopatológicos precoces associados ao diagnóstico de hepatite crônica não se apresentaram diferentes de forma significativa entre os dois grupos. Rejeição celular aguda foi mais prevalente nos FL ($p=0,043$), embora o grupo dos FR tenha apresentado em média maior número de episódios de rejeição ($p=0,036$). Observou-se um aumento do índice de massa corporal (IMC) nos FL e um decréscimo do IMC nos FR entre o transplante e a última biópsia realizada ($0,049$). O grupo dos FR apresentou maior quantidade de esteatose no fígado nativo explantado ($p=0,026$) e mostrou uma tendência a ter uma menor quantidade de esteatose nas biópsias entre um mês e um ano após o transplante ($p=0,079$), comparado ao grupo dos FL. Os FR também apresentaram maior deposição de lipofuscina na PAT ($p=0,024$) e na PHC ($p=0,048$). FR e FL exibiram padrões distintos de infiltrado inflamatório lobular na PHC, com um infiltrado predominantemente linfocitário nos FR e misto nos FL ($p=0,043$). Foram

também observados padrões distintos de siderose na PAT, que era em células de Kupffer nos FR e concomitante em células de Kupffer e hepatócitos nos FL. Maior quantidade de células estreladas, avaliadas na PHC por exame imuno-histoquímico, foi encontrada na região portal/septal nos FR ($p=0,057$). As demais alterações histopatológicas não alcançaram significância estatística como preditoras de progressão da doença.

Conclusão: Algumas alterações histopatológicas que não estão diretamente associadas ao diagnóstico de hepatite crônica podem contribuir para a compreensão da patogênese da HCR e, adicionalmente, auxiliar na identificação precoce dos pacientes com má evolução após o TH. Se fatores relacionados ao metabolismo lipídico (esteatose hepática e variação de IMC) têm função protetora contra progressão da fibrose ou se resultam diretamente do estado clínico dos pacientes é uma questão que merece estudos adicionais.

Descritores: 1.Hepatite C crônica 2.Transplante de fígado 3.Recidiva 4.Fibrose 5.Fígado/anatomia & histologia

SUMMARY

Honório RS. *Evaluation of potentially predictive findings of poor outcome in recurrent chronic hepatitis C after liver transplantation, with emphasis on histopathological parameters* [thesis]. São Paulo: Faculty of Medicine, University of Sao Paulo, SP (Brazil); 2009.

Background: Recurrent chronic hepatitis (RCH) is the rule after liver transplantation (LT) in hepatitis C virus (HCV) infected patients, with a faster fibrosis progression in allograft than in native liver. Many studies have pointed out that, even in the group of patients transplanted for HCV end-stage disease, there are distinct outcomes due to the influence of several clinical, demographic, laboratorial and histopathological factors. **Objectives:** Evaluate earlier changes that could be associated to severity of disease recurrence, with emphasis on histopathological findings at LT and follow up biopsies. **Method:** A retrospective cohort of forty one HCV infected patients who underwent LT between 1992 and 2004 was studied. Clinical data were recovered from hospital files and all liver tissue specimens were reviewed. The first liver biopsy after first month post-LT (FAF) and the first biopsy with chronic hepatitis (FCH) were considered to each patient. Expression of α -smooth muscle actin in hepatic stellate cells by immunohistochemistry was also examined in these biopsies. Additionally, steatosis and chronic hepatitis parameters were quantified in all biopsies in each period after LT. **Results:** The mean age at LT was 51 yr; 72% were male; the median histological follow-up (time between LT and last liver biopsy) was 2234 days (785-4640) and the overall annual rate of fibrosis progression (RFP) was 0.62 (Ishak's score). Patients were classified in fast "fibrosers" (FF) when $RFP > 0.62$, and slow "fibrosers" (SF) when $RFP < 0.62$. Time to histopathological diagnosis of RCH, early histopathological changes related to chronic hepatitis diagnosis and donor factors were not significantly different between both groups. Acute cellular rejection was more prevalent in SF ($p=0.043$), although FF presented significantly higher number of episodes than SF ($p=0.036$). It was observed an increase in BMI on FF and an decrease in BMI on SF between transplantation and the time of last liver biopsy ($p=0.049$). FF showed higher steatosis degree in native explanted liver ($p=0.026$) and showed a trend toward a lower steatosis degree between one month and one year post-LT ($p=0.079$). FF also presented higher lipofuscin deposition at FAF ($p=0.024$) and at FCH ($p=0.048$). FF and SF showed distinct patterns of lobular inflammatory infiltrate in FHC, with a predominantly lymphocytic type in FF and a mixed one in SF ($p=0.043$). A distinct pattern of iron deposition in FAF, predominantly in Kupffer cells in FF and in both Kupffer cell and hepatocyte in SF was also detected. Hepatic stellate cells were more prevalent in FF when examined in portal/septal area by immunohistochemical expression of α -smooth muscle actin in FHC ($p=0.057$). All other histological findings did not reach statistical significance as predictors of faster disease progression. **Conclusion:** Some minor histopathological changes not usually associated to chronic hepatitis diagnosis might contribute to our understanding of the

RCH pathogenesis and could be useful in identifying potentially worse outcome patients after LT. If factors related to lipid metabolism (liver steatosis and BMI variation) could protect against fibrosis progression or are direct consequences of the patient's clinical status deserves further evaluation.

Descriptors: 1.Chronic hepatitis C 2.Liver transplantation 3.Recurrence 4.Fibrosis 5.Liver/anatomy & histology