MÁRCIA WANG MATSUOKA

**Contribuição da ultra-sonografia para o diagnóstico
das alterações histopatológicas presentes na
hepatite C crônica, com ênfase na esteatose hepática**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do Título
de Doutor em Ciências

Área de concentração: Radiologia

Orientadora: Prof^a. Dra. Ilka Regina Souza de Oliveira

São Paulo

2008

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Matsuoka, Márcia Wang

Contribuição da ultra-sonografia para o diagnóstico das alterações histopatológicas presentes na hepatite C crônica, com ênfase na esteatose hepática / Márcia Wang Matsuoka. -- São Paulo, 2008.

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

Área de concentração: Radiologia.

Orientadora: Ilka Regina Souza de Oliveira.

Descritores: 1.Ultra-sonografia 2.Hepatite C crônica 3.Biópsia 4.Fígado gorduroso 5.Mitigação

USP/FM/SBD-111/08

*Deus me mostrou verdades muito grandes
E eu as amei, tomei-as para mim.
Mas foi no andar diário ano após ano,
Dor após dor e lutas após lutas,
Que elas tomaram posse, então, de mim.*

(Is 49.9.)

DEDICATÓRIA

*Ao meu amor e companheiro **Oscar**, por
toda compreensão e apoio*

*Aos meus filhos **Felipe e Julia**, alegrias de
minha vida*

*À minha mãe **Massako**, por seu amor
incondicional*

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Giovanni Guido Cerri**, meus sinceros agradecimentos por me acolher nesta Instituição e permitir a elaboração deste trabalho.

À **Dra. Ilka Regina Souza de Oliveira**, minha extraordinária orientadora sempre presente, pessoa que admiro muito e a quem devo meu intenso crescimento pessoal e profissional.

Ao **Dr. Azzo Widman**, minha profunda gratidão por seu apoio, amizade e por ter me ensinado o prazer pela pesquisa.

À **Dra. Maria Cristina Chammas**, ao **Dr. Ayrton Roberto Pastore**, ao **Dr. Sérgio Ajzen**, pessoas que estimo e admiro, pelas orientações muito valiosas recebidas na qualificação desta tese.

Ao **Dr. Sérgio Keidi Kodaira**, que muito me ajudou com seu conhecimento e palavras de amizade.

À **Dra. Claudia Andréia Rabay Pimentel Abicalaf**, pelo apoio e incentivo no início da elaboração desta tese.

Ao **Dr. Wilson Jacob**, coordenador do Hospital Dia do ICHC-FMUSP, local onde foram atendidos os pacientes de nossa casuística.

Ao **Dr. Evandro Sobroza de Mello**, Divisão de Anatomia Patológica do HC-FMUSP, pelas orientações recebidas na elaboração desta tese.

À querida **Elizangela N. Dias**, pela amizade e apoio que recebi durante a elaboração desta tese".

À querida **Sandra de Barros**, secretária da pós-graduação, por toda atenção e amizade.

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, Suelly 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

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas

Lista de figuras

Lista de símbolos

Lista de tabelas

Resumo

Summary

1	INTRODUÇÃO	2
1.1	Histórico da ultra-sonografia	2
1.2	Hepatite C	5
1.2.1	Esteatose hepática	7
1.2.2	Avaliação laboratorial e por métodos de imagem	8
2	OBJETIVOS	12
3	REVISÃO DA LITERATURA	14
3.1	Ultra-sonografia na EH	14
4	MÉTODO	22
4.1	Aprovação Ética	22
4.2	Casuística	22
4.3	Avaliação ultra-sonográfica	24
4.3.1	Técnica do exame ultra-sonográfico	26
4.3.2	Técnica para a punção hepática (biópsia hepática)	28
4.3.3	Biometria da parede abdominal e hepática	28

4.4	Avaliação anátomo-patológica	30
4.5	Análise estatística	31
5	RESULTADOS	34
5.1	Padrões histopatológicos	34
5.1.1	Alteração arquitetural (estrutural)	35
5.1.2	Necro-inflamação	36
5.1.3	Esteatose	37
5.2	Parâmetros ultra-sonográficos	38
5.2.1	Biometria	38
5.2.1.1	Espessura da parede abdominal no hipocôndrio direito	38
5.2.1.2	Dimensões hepáticas no eixo ântero-posterior na linha axilar média	39
5.2.2	Contornos do fígado	39
5.2.3	Características ecográficas do parênquima	40
5.2.4	Regressão logística	41
6	DISCUSSÃO	44
6.1	Padrões histopatológicos	45
6.1.1	Alterações arquiteturais	45
6.1.2	Necro-inflamação	46
6.1.3	Esteatose hepática	47
6.2	Parâmetros ultra-sonográficos	49
6.2.1	Biometria	49
6.2.1.1	Espessura da parede abdominal	49
6.2.1.2	Dimensões hepáticas	51
6;2.2	Contornos hepáticos	51

6.2.3	Características ecográficas do parênquima	52
6.3	Comentários finais	53
7	CONCLUSÕES	56
8	REFERÊNCIAS	59

LISTAS

ABREVIATURAS

USG	Ultra-sonografia
EH	Esteatose hepática
IMC	Índice de massa corpórea

FIGURAS

Figura 1	Esteatose hepática leve: ultra-sonografia do lobo hepático direito com sinais de esteatose hepática leve	16
Figura 2	Esteatose hepática moderada: ultra-sonografia do lobo hepático direito com sinais de esteatose hepática moderada	17
Figura 3	Esteatose hepática acentuada: ultra-sonografia do lobo hepático direito com sinais de esteatose hepática leve	18
Figura 4	Lobo hepático direito: ultra-sonografia do lobo hepático direito, com mensuração da parede abdominal e do lobo hepático direito em seu eixo ântero-posterior	29

SÍMBOLOS

MHz Mega Hertz

TABELAS

Tabela 1	Distribuição por sexo	24
Tabela 2	Alterações histopatológicas de arquitetura, necro-inflamação, esteatose hepática	35
Tabela 3	Alterações arquiteturais	36
Tabela 4	Alterações necro-inflamatórias	36
Tabela 5	Esteatose hepática	37
Tabela 6	Esteatose hepática agrupada	37
Tabela 7	Correlação entre esteatose e os critérios ultra-sonográficos para diagnóstico de USG alterado	40

RESUMO

MATSUOKA MW. *Contribuição da ultra-sonografia para o diagnóstico das alterações histopatológicas presentes na hepatite C crônica, com ênfase na esteatose hepática* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo;2008. 68p.

INTRODUÇÃO: A utilização da ultra-sonografia (USG) como método de diagnóstico por imagem na avaliação das afecções abdominais, em particular para o acompanhamento de pacientes portadores de hepatite C crônica, vem sendo rotineiramente empregada. Neste trabalho, avaliamos a contribuição da USG na avaliação das alterações histopatológicas encontradas neste grupo de doentes, com ênfase para a esteatose hepática (EH), afecção bastante freqüente na hepatite causada pelo vírus C.

MÉTODO: Comparamos os achados ultra-sonográficos de 192 pacientes consecutivos, portadores de hepatite crônica pelo vírus C, submetidos à biópsia hepática, com os achados histopatológicos dos fragmentos hepáticos obtidos. Todos os pacientes foram biopsiados sob orientação USG, sendo a ultra-sonografia assim como a biópsia hepática realizadas cada qual por um médico especialista e sempre o mesmo. Todos os exames ultra-sonográficos obedeceram a um mesmo protocolo, sendo analisados os seguintes parâmetros ultra-sonográficos: 1) com relação às características ecográficas do parênquima: ecogenicidade, ecotextura e atenuação; 2) com relação à utilização da USG para o diagnóstico da EH: biometria da parede abdominal, dimensões e contornos hepáticos. Posteriormente os pacientes estudados foram agrupados em: A) grupo com alterações ultra-sonográficas e B) sem alterações ultra-sonográficas, e comparados com as alterações

histopatológicas presentes. Foram realizados também cálculos de regressão logística com os parâmetros USG avaliados para a avaliação da acurácia deste método de imagem para o diagnóstico da EH. RESULTADOS: Entre as alterações histopatológicas presentes, a alteração arquitetural e a EH apresentaram diferença estatística significativa entre os grupos A (com alterações USG) e B (sem alterações USG). Observou-se também diferença estatística significativa entre: a) espessura da parede abdominal e as dimensões hepáticas com relação à presença de EH, b) contornos hepáticos irregulares e a presença de EH. E dentre os componentes ultra-sonográficos avaliados, a atenuação foi o que apresentou melhor correlação com a EH. A utilização das variáveis idade, sexo, atenuação, espessura da parede abdominal e dimensões hepáticas, foram as que apresentaram melhores resultados nos cálculos de regressão logística, com sensibilidade de 60,5% e especificidade de 83,9% em diagnosticar EH. CONCLUSÕES: Neste trabalho, o estudo ultra-sonográfico do fígado de pacientes com hepatite C crônica apresentou correlação com as alterações arquiteturais e com a EH encontradas na histopatologia. A utilização da USG para o diagnóstico da EH apresentou relação estatística com a espessura da parede abdominal, dimensões e contornos hepáticos, e a atenuação foi o melhor componente ultra-sonográfico para o diagnóstico da EH.

Descritores: 1.Ultra-sonografia; 2.Hepatite C crônica; 3.Biópsia; 4.Fígado gorduroso; 5.Mitigação.

SUMMARY

MATSUOKA MW. *Ultrasonographic contribution for the diagnosis of the histopathological alterations in chronic hepatitis C, with emphasis in hepatic steatosis* [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo;2008. 68p.

INTRODUCTION: Ultrasonography is consistently utilized as the method of diagnostic imaging while evaluating abdominal infections particularly in patients with chronic hepatitis C. We studied the contribution of the ultrasonography in the evaluation of histopathologic alterations in this group of patients with emphasis in hepatic steatosis (HS), sufficiently frequent in hepatitis caused by the C virus. METHODS: We compared the findings from the ultrasounds of 192 carrying patients of chronic hepatitis C virus, who had undergone hepatic biopsy, with the histopathological findings of the hepatic fragments obtained. All patients who have undergone liver biopsy guided by ultrasonography were always evaluated by the same medical specialist for both sonogram or hepatic biopsy. All ultrasound examinations followed the same protocol, analyzing the following parameters: 1) regarding to the echographic characteristics of parenchyma: echogenicity, echotexture and attenuation; 2) regarding to the use of the sonography for the diagnosis of the HS: biometry of the abdominal wall, hepatic dimensions and contours. Post results, patients had been grouped in: A) altered ultrasound group and B) ultrasound group without ultrasound alterations, both compared with present histopathological alterations. Calculations of logistic regression with ultrasonography parameters had also been performed to determine the accuracy of this method for the HS diagnosis. RESULTS: Of the

histopathological alterations present, the architectural alteration and the HS had presented significant statistical difference between the groups (altered ultrasound group) and the B (without ultrasound alterations). We also noted significant statistical difference between: a) thickness of the abdominal wall and the hepatic dimensions with regard to presence of HS, b) irregular hepatic contours and the presence of HS. Amongst the evaluated ultrasound components, attenuation presented better correlation with the HS. The variables age, sex, attenuation, thickness of the abdominal wall and hepatic dimensions of the right lobe, presented better results in the calculations of logistic regression, with 60,5% sensitivity and specificity of 83,9% in diagnosing HS. CONCLUSIONS: In this research, the hepatic ultrasonography of patients with chronic hepatitis C presented correlation with the architectural alterations and the HS found at the histopathology. The utilization of the ultrasonography for the diagnosis of the HS presented statistical relationship with the thickness of the abdominal wall, hepatic dimensions and contours, and the sonographic attenuation was the best component for the diagnosis of ES.

Descriptors: 1.Ultrasonography; 2.Hepatitis C, chronic; 3.Biopsy; 4.Fatty liver; 5.Prevention and mitigation.

INTRODUÇÃO

1 Introdução

1.1 Histórico da ultra-sonografia

A ultra-sonografia tem sido bastante utilizada no rastreamento de doenças abdominais, desde a introdução do primeiro equipamento comercialmente disponível em 1964, firmando-se como método de imagem de primeira escolha por ser não invasivo, disponível e de aplicação prática (Meire *et al.*, 2001; Kodaira, 2002; Joy *et al.*, 2003).

É um método diagnóstico que se baseia na interpretação de padrões de imagem previamente estabelecidos que, no todo, expressam as propriedades da estrutura analisada. As imagens ultra-sonográficas são compostas pela somatória dos sinais oriundos de efeitos acústicos provocados pela interação da onda sonora com o meio, com destaque para a refração, a reflexão e a atenuação. A refração e a reflexão ocorrem quando o feixe sonoro atravessa dois meios fronteiros, que apresentam impedâncias acústicas diferentes: a refração ocorre devido ao desvio do feixe acústico em relação a um determinado ângulo de incidência e a

reflexão quando este ângulo de incidência é ultrapassado (Kodaira, 2002). A atenuação, por sua vez, depende da frequência do transdutor e ocorre devido às perdas sucessivas de intensidade do sinal acústico, à medida que o som se propaga através de tecidos com impedâncias acústicas diferentes (Davies *et al.*, 1991; Kodaira, 2002). Este efeito acústico é função do conjunto de variáveis físicas particulares a cada tecido, podendo apresentar-se como acentuada, moderada ou discreta.

O início da aplicação experimental do ultra-som, como instrumento diagnóstico na área médica, data de 1945 e iniciou-se após o melhor entendimento, tanto da conversão eletro-acústica, quanto da tecnologia dos pulsos eletrônicos. O desenvolvimento desta técnica foi favorecido pela introdução do processamento analógico-digital, propiciando a melhoria da qualidade da imagem (Meire *et al.*, 2001).

O uso da ultra-sonografia como método diagnóstico rotineiro, foi iniciado a partir da década de 1980, após o desenvolvimento técnico dos aparelhos disponíveis (Ralls *et al.*, 2002). No fígado, em particular, os aspectos habitualmente avaliados mediante a ultra-sonografia são: biometria, forma, contornos, disposição dos vasos intra-hepáticos e as características ecográficas do parênquima, destacando-se a ecotextura, a ecogenicidade e a atenuação.

O padrão ultra-sonográfico do tecido hepático é habitualmente utilizado como referência de normalidade para a avaliação das demais vísceras sólidas abdominais. O parênquima hepático normal apresenta à

ultra-sonografia, ecotextura homogênea com ecogenicidade intermediária, sendo geralmente iso ou hiperecogênico em relação ao córtex renal e hipoecogênico em relação ao tecido esplênico. A atenuação do feixe acústico é discreta, permitindo boa identificação dos vasos intra-hepáticos e do diafragma na região posterior do fígado (Palmer, 1999; Withers *et al.*, 1998; Rodrigues *et al.*, 2002). A proporção entre tecidos com alto teor de colágeno (estroma) e alto teor de água (hepatócitos) pode explicar o padrão de ecogenicidade e textura observados no fígado e nas doenças hepáticas difusas. Por exemplo, a formação de glóbulos de gordura intracelulares na esteatose aumenta a ecogenicidade do parênquima porque o contraste entre estes glóbulos e o conteúdo aquoso celular é altamente reflexivo.

Nas doenças hepáticas inflamatórias (hepatites), os aspectos ultra-sonográficos são variáveis de acordo com a fase evolutiva da doença, sendo habitualmente normais na fase aguda. Por sua vez, na fase crônica, com o desenvolvimento de cirrose, podem ser observadas irregularidades nos contornos hepáticos e alterações das características teciduais do parênquima (Palmer, 1999; Withers *et al.*, 1999; Lomas, 2001; Machado *et al.*, 2002; Ralls *et al.*, 2002).

Dentre os diferentes tipos de hepatites, a causada pelo vírus C tem sido motivo de investigação clínica e ultra-sonográfica, dada sua alta prevalência na população em geral (Seef, 2000; Poynard *et al.*; 2000; Dove, 2004). Considerando a incidência freqüente da esteatose hepática (EH) nesta doença, torna-se importante aprimorar o conhecimento dos aspectos

ultra-sonográficos teciduais em geral e da EH em particular (Poynard *et al.*, 2003; Siddique *et al.*, 2003).

1.2 Hepatite C

Esta afecção, que acomete aproximadamente 170 milhões de pessoas no mundo, pode apresentar evolução variada: 30% dos portadores terão hepatite crônica leve e estável por décadas; 40% uma evolução com diferentes graus de fibrose, porém sem desenvolver cirrose e 30% progressão severa, evoluindo para cirrose (Seeff, 2000). Outrossim, afirmou-se que, dentre os pacientes que desenvolvem cirrose, 20% terão complicações decorrentes de hipertensão portal com o avançar da doença e 1 a 7% poderão apresentar carcinoma hepatocelular (Poynard *et al.*, 2000; Jarmay *et al.*, 2002; Zheng *et al.*, 2003; Dove, 2004).

São considerados sinais histopatológicos indicativos de hepatite C, as alterações arquiteturais do lóbulo hepático (fibrose), os componentes de necro-inflamação (necrose hepatocelular, folículos e/ou agregados linfóides, agressão ao epitélio dos ductos biliares) e a esteatose hepática (EH) (Scheuer *et al.*, 1992; Moriya *et al.*, 1997, Gayotto, 002).

A análise histopatológica de fragmentos obtidos por biópsia possibilita a graduação e a avaliação evolutiva desta doença. Assim, de acordo com a classificação adotada pelo Consenso Brasileiro de Patologia de 2002, o

comprometimento hepático pelo vírus C é graduado em fígado reacional, hepatite crônica propriamente dita e cirrose (Gayotto, 1994). No fígado reacional, as alterações histológicas são discretas, apresentando arquitetura preservada, edema ou fibrose portais discretos e infiltrado portal respeitando a placa limitante, sendo observadas mínimas alterações hepatocelulares. A hepatite crônica, por sua vez, é subdividida nas formas persistente e ativa. Na forma persistente, a arquitetura apresenta-se preservada, com infiltrado inflamatório limitado aos espaços porta e alterações hepatocelulares discretas, com focos ocasionais de necrose na placa limitante. Na forma ativa, observam-se alterações arquiteturais discretas e acometimento hepatocelular com graus variáveis de necrose da placa limitante (em “sacabocados”). Na evolução para cirrose, são observadas distorções arquiteturais acentuadas, decorrentes da agressão à placa limitante e das alterações hepatocelulares.

A EH, por sua vez, é classificada histopatologicamente em macrovesicular, microvesicular ou mista, dependendo da disposição das gotículas de gordura no interior dos hepatócitos. A forma macrovesicular geralmente é assintomática e de evolução benigna, enquanto que a forma microvesicular, apesar de também assintomática, pode evoluir para cirrose e insuficiência hepatocelular (Caldwell, 2007).

1.2.1 Esteatose hepática

A EH é um distúrbio freqüentemente reversível do metabolismo caracterizada pela infiltração gordurosa do fígado, resultante do acúmulo de triglicérides no interior dos hepatócitos (Withers *et al.*, 1998; Machado *et al.*, 2002). Tem sido encontrada em associação à ingestão de álcool, obesidade, diabetes melito, hiperlipoproteinemias, uso de quimioterápicos, cirurgias gastrointestinais e nutrição parenteral prolongada (Mach, 2000; Machado *et al.*, 2002; Murata *et al.*, 2003; Nishino *et al.*, 2003; Fernandez-Rodriguez *et al.*, 2005).

Na hepatite C, estudos de necrópsia mostraram incidência de EH em 31 a 72% dos casos e biópsias hepáticas revelaram sua presença em aproximadamente 50% dos casos. Nos pacientes infectados pelo genótipo 3 do vírus tem sido observada sua remissão após cura clínica da doença (Schiff, 1993; Yoon e Hu, 2006). No entanto, o papel da EH no aparecimento, fisiopatologia e progressão da doença hepática, ainda não está bem estabelecido, sendo descrita, apesar das controvérsias, a relação entre a EH, a atividade necro-inflamatória e a progressão da fibrose. Afirmou-se ainda que a EH pudesse atuar como cofator no aumento da atividade necro-inflamatória hepática e que a fibrose poderia ser desencadeada por ambos isoladamente, havendo controvérsias quanto ao papel de cada um destes fatores na evolução da doença (Seeff, 1997; Czaja

et al., 1998; Fujie *et al.*, 1999; Hourigan *et al.*, 1999; Adinolfi *et al.*, 2001; Hwang, 2001; Asselah, 2003; Marsano, 2003; Patton *et al.*, 2004; Seef, 2003; Siddique *et al.*, 2003; Cholet *et al.*, 2004; Dev *et al.*, 2004; Fernandez-Rodriguez *et al.*, 2004; Khokhar *et al.*, 2004; Patton *et al.*, 2004;; Wyatt, 2004; Negro, 2006).

1.2.2 Avaliação laboratorial e por métodos de imagem

A avaliação dos aspectos histopatológicos da hepatite C e da EH pode ser realizada, de modo limitado, por testes laboratoriais e por métodos de diagnóstico por imagem (ultra-sonografia, tomografia computadorizada e ressonância magnética). A caracterização da fibrose hepática atualmente pode ser feita mediante testes bioquímicos (*Fibrotest*[®] - *ActiTest*[®]) (Poynard *et al.*, 2004; Blanc *et al.*, 2005; Morra *et al.*, 2007), porém estudos complementares são necessários para sua utilização na prática médica diária (Lichtinghagen e Bahr, 2004).

Dentre os métodos de diagnóstico por imagem, será destacada a ultra-sonografia, cuja contribuição na caracterização das alterações histopatológicas da hepatite C (fibrose, necro-inflamação) e EH tem sido motivo de controvérsia. No que se refere ao diagnóstico de fibrose, a avaliação conjunta com dados laboratoriais torna-se necessária para melhor

acurácia do método (Ong e Tan, 2003). Em relação à necro-inflamações, na literatura compulsada não foram encontrados estudos avaliando a correlação entre a ultra-sonografia e a necro-inflamação isoladamente. Quanto à EH, há controvérsias quanto à vantagem de se aplicar este método, havendo referências de resultados satisfatórios (Foster *et al.*, 1979; Joseph *et al.*, 1979) e limitados, com sensibilidade de apenas 37,5% (Celle *et al.*, 1988; Needleman *et al.*, 1986; Joseph *et al.*, 1991; Zwiebel, 1995; Andrade e García-Escañó, 2000; Machado *et al.*, 2002; Ros e Mortelet, 2002; Hung *et al.*, 2003; Ong Tan, 2003; Hirche *et al.*, 2007; Perez *et al.*, 2007).

Deste modo, a biópsia hepática permanece o “padrão-ouro” para o diagnóstico e estadiamento da hepatite C e da esteatose hepática, sendo também relevante para a orientação terapêutica destas doenças (Dão *et al.*, 1993; Grassi *et al.*, 1998; Dove, 2004). Além disso, este exame contribui para o diagnóstico de outros fatores que também podem desencadear fibrose, tais como o depósito de ferro nos hepatócitos (Siddique *et al.*, 2003).

O uso concomitante da ultra-sonografia, para a realização da biópsia hepática, assegura a obtenção de fragmentos adequados para análise, sem a punção inadvertida de outros órgãos que não o parênquima hepático, provocando menor morbidade do procedimento (Sorf *et al.*, 1989; Farrell *et al.*, 1999).

Assim como em vários outros centros diagnósticos, no Hospital Dia do HC-FMUSP, a biópsia hepática vem sendo realizada com a orientação da

ultra-sonografia (Farrell *et al.*, 1999; Rossi *et al.*, 2001; Montalto *et al.*, 2001; Al Knawy e Shiffman, 2007).

OBJETIVOS

2 Objetivos

- Correlacionar as características ultra-sonográficas do parênquima hepático com os aspectos histopatológicos do fígado na hepatite C crônica (alterações arquiteturais, necro-inflamação e esteatose hepática).

- Correlacionar parâmetros ultra-sonográficos selecionados com a presença de EH nos pacientes com hepatite C crônica.

- Avaliar a sensibilidade e especificidade do método ultra-sonográfico para o diagnóstico das alterações histopatológicas estudadas.

REVISÃO DA LITERATURA

3 Revisão da Literatura

3.1 Ultra-sonografia na EH

A EH tem sido objeto de estudos ultra-sonográficos, sendo que os primeiros datam de 1979, relatando a acurácia satisfatória do método para este diagnóstico (Foster *et al.*, 1979; Joseph *et al.*, 1979). Seqüencialmente observou-se que a ultra-sonografia apresentava sensibilidade elevada para o diagnóstico dos casos moderados ou severos e reduzida para as formas leves (Celle *et al.*, 1988; Needleman *et al.*, 1986; Joseph *et al.*, 1991; Zwiebel, 1995; Andrade *et al.*, 2000; Ros e Mortelet, 2002; Hirche *et al.*, 2007; Perez *et al.*, 2007).

O diagnóstico ultra-sonográfico da EH é baseado em parâmetros relativos às estruturas adjacentes e naqueles inerentes ao fígado (ecogenicidade e atenuação do parênquima hepático). Os parâmetros relativos baseiam-se na comparação entre a ecogenicidade hepática e aquela do parênquima renal ipsilateral, sendo que, o fígado, habitualmente

hiperecogênico em relação ao rim, apresenta esta característica exacerbada (Machado, 2002; Ralls, 2002; Ros e Morteale, 2002). Por sua vez, a ecogenicidade e a atenuação, parâmetros inerentes ao fígado, apresentam-se aumentadas. Uma possível justificativa para o aumento da ecogenicidade é a presença de múltiplas interfaces ultra-sonográficas entre hepatócitos normais e alterados no tecido hepático gorduroso com conseqüente aumento da atenuação. Há relatos, inclusive, de que a hiperecogenicidade do parênquima seria observada a partir de quando mais de 30% dos lóbulos hepáticos estivessem acometidos por gotículas de gordura (Davies *et. al.*, 1991; Schiff, 1993).

Um fator de relevância ao estudo das características ecográficas da EH é que elas podem variar rapidamente ao longo do tempo, em intervalos de até 48 horas, de acordo com a dieta do paciente ou com o uso de medicamentos quimioterápicos (Zwiebel, 1995; Machado *et. al.*, 2002; Murata *et. al.*, 2003; Nishino *et. al.*, 2003; Fernandez-Rodríguez *et. al.*, 2005).

De acordo com os aspectos ultra-sonográficos, a EH tem sido classificada como:

- Leve: quando há aumento discreto da ecogenicidade hepática, com visibilização preservada do diafragma e da vascularização intra-hepática (Figura 1);

Figura 1 – Esteatose hepática leve: ultra-sonografia do lobo hepático direito com sinais de esteatose hepática leve.

- Moderada: quando se observa aumento moderado da ecogenicidade hepática, com redução da visibilização do diafragma e dos vasos intra-hepáticos (Figura 2);

Figura 2 – Esteatose hepática moderada: ultra-sonografia do lobo hepático direito com sinais de esteatose hepática moderada.

- Acentuada: quando há grande aumento da ecogenicidade hepática, com perda parcial ou completa da visibilização do diafragma e dos vasos intra-hepáticos (Rumack *et al.*, 1999; Machado *et al.*, 2002) (Figura 3).

Figura 3 – Esteatose hepática acentuada: ultra-sonografia do lobo hepático direito com sinais de esteatose hepática leve.

A hiperecogenicidade do parênquima e a atenuação aumentada do feixe sonoro, também podem estar presentes na fibrose e/ou nos processos inflamatórios hepáticos, limitando desta forma o diagnóstico ultra-sonográfico da EH (Foster *et al.*, 1979; Needleman *et al.*, 1986; Taylor *et al.*, 1986; Celle *et al.*, 1988; Kutcher *et al.*, 1998; Lu *et al.*, 1999; Fontana e Lok, 2002; Ros e Mortele, 2002; Hepburn *et al.*, 2005). Ademais, em decorrência da subjetividade da análise destes parâmetros, as conclusões relativas ao seu valor específico são conflitantes, com taxas de sensibilidade que variam entre 55 e 95%, demonstrando a dificuldade do método em diagnosticar esta doença (Needleman *et al.*, 1986, Celle *et al.*, 1988, Lin *et al.*, 1988; Assy *et al.*, 2000; Fernandez-Rodriguez *et al.*, 2004; Lupsor e Badea, 2005).

Desta forma, até o momento, os resultados do estudo da EH pela ultra-sonografia têm sido controversos, podendo ser relacionados às características dos trabalhos realizados:

- Estudos de caráter retrospectivo mediante a análise de exames realizados com protocolos de pré-processamento da imagem diferentes (ganho total, “*time gain compensation curve*” (TGCC);
- Interpretação subjetiva dos aspectos ultra-sonográficos, gerando divergências no diagnóstico e caracterização de EH

(Debognie *et al.*, 1981; Taylor *et al.*, 1981; Hepburn *et al.* 2005);

- Intervalo longo entre a realização do estudo ultra-sonográfico do fígado e a biópsia hepática (Sandford, 1985; Needleman *et al.*, 1986; Saverymuttu *et al.*, 1986; Hepburn *et al.*, 2005).

Nesta situação, vislumbra-se a possibilidade de avaliar a capacidade do método ultra-sonográfico para o diagnóstico da EH em pacientes com hepatite C, cotejando os resultados ultra-sonográficos e biópsia hepática realizados concomitantemente.

MÉTODO

4 Método

4.1 Aprovação Ética

Estudo aprovado pelo Comitê de Ética para a Análise de Pesquisa (CAPPesq) da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), na sessão de 29/05/03, sob o protocolo de pesquisa nº 247/03.

4.2 Casuística

Foram estudados 192 pacientes consecutivos com diagnóstico clínico-laboratorial de hepatite crônica pelo vírus C, exclusivamente, encaminhados ao Hospital Dia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP) para biópsia hepática sob orientação ultra-sonográfica, no período compreendido entre julho de 2002 a

maio de 2003. Estes pacientes eram provenientes dos ambulatórios da Divisão de Moléstias Infecciosas e Parasitárias e do Serviço de Fígado e Hipertensão Portal da Divisão de Clínica Cirúrgica II do HC-FMUSP.

Na população estudada, a média aritmética da idade e respectivo desvio-padrão, foi de $43,22 \pm 13,21$ anos. A distribuição da idade foi normal de acordo com a prova de Kolmogorov-Smirnov, observando-se homogeneidade da amostra, o que permitiu a comparação entre os grupos.

Com a finalidade de correlacionar os aspectos ultra-sonográficos com as alterações histopatológicas do fígado nos pacientes com hepatite C crônica, os doentes foram divididos em 2 grupos: A – com alterações ultra-sonográficas e B – sem alterações ultra-sonográficas.

As médias e desvio-padrão da idade do grupo A e do grupo B foram respectivamente $45,03 \pm 12,57$ e $42,42 \pm 13,46$ anos, não havendo diferença estatística significativa entre ambos (t não pareado = 1,27 e $p = 0,207050$).

Dos 192 pacientes estudados, 91 (47,4%) eram masculinos e 101 (52,6%) femininos, não havendo diferença estatística significativa entre a proporção de ambos os sexos nos grupos A e B ($\chi^2_c = 0,02$ e $p = 0,88454$), evidenciando homogeneidade da amostra e permitindo desta forma a comparação entre esses grupos.

A distribuição dos sexos no grupos A e B é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 – Distribuição por sexo

	Grupo A	Grupo B
Masculino	27 (45,76%)	64 (48,12%)
Feminino	32 (54,24%)	69 (51,88%)

Os 91 pacientes do sexo masculino apresentaram média de idade e desvio padrão de $43,05 \pm 12,95$ anos e os 101 pacientes do sexo feminino de $43,38 \pm 13,51$ anos. Não houve diferença estatística significativa entre essas médias (t não pareado = 0,17 e $p = 0,86693$).

Os exames ultra-sonográficos e as biópsias hepáticas foram realizados cada qual por um médico especialista e sempre o mesmo.

4.3 Avaliação ultra-sonográfica

A avaliação ultra-sonográfica do fígado foi realizada baseada em parâmetros selecionados:

- 1) Biometria:
 - a) espessura de parede abdominal no hipocôndrio direito;
 - b) dimensões hepáticas;

- 2) Contornos:
 - a) regulares;
 - b) irregulares.

- 3) Características ecográficas do parênquima:
 - a) ecogenicidade: normal ou aumentada;
 - b) ecotextura: homogênea ou heterogênea;
 - c) atenuação do feixe acústico: discreta, moderada ou acentuada.

A análise conjunta destes parâmetros determinou o padrão ultrasonográfico alterado do parênquima hepático (Grupo A), como a presença conjunta de:

- a) Ecogenicidade aumentada: quando o parênquima hepático apresentava-se mais brilhante que o habitual e em relação ao parênquima renal ipsilateral;

- b) Ecotextura heterogênea: quando foram observados ecos grosseiros em comparação ao padrão habitual;

- c) Atenuação moderada ou acentuada do feixe acústico - quando a visibilização dos vasos intra-hepáticos ou do diafragma apresentava-se reduzida parcial ou totalmente respectivamente.

A ecogenicidade aumentada e a ecotextura heterogênea foram considerados critérios menores para o diagnóstico de EH enquanto a atenuação moderada ou acentuada do feixe acústico foi considerada critério maior para o diagnóstico de EH.

4.3.1 Técnica do exame ultra-sonográfico

Os exames ultra-sonográficos foram realizados com aparelho da marca Toshiba (modelo SSA-240A), com transdutor convexo de 3,5MHz, disponível no Hospital Dia do HC-FMUSP.

Com o objetivo de equalizar os aspectos ecográficos em todos os exames, os controles técnicos do equipamento foram estabelecidos de acordo com o seguinte protocolo: o ganho total foi ajustado de modo que o conteúdo líquido da vesícula biliar e o sangue no interior da veia cava inferior se apresentassem anecogênicos ao exame. A curva de ganho (TGCC – *“time gain compensation curve”*) foi calibrada na posição neutra com o mesmo objetivo.

Todos os pacientes biopsiados foram submetidos ao exame ultrasonográfico previamente à realização da biópsia hepática, com o intuito de delimitar o melhor local para a punção, assim como evitar complicações advindas por punção de estruturas vasculares, de lesões focais do fígado e da punção inadvertida de outros órgãos vizinhos ao fígado.

O exame obedeceu ao mesmo protocolo em todos os pacientes: estes foram posicionados em decúbito dorsal horizontal e a varredura do transdutor realizada nos eixos longitudinal, transversal e oblíquo, por entre e abaixo do gradeado costal.

Foram estudados parâmetros ultra-sonográficos selecionados para avaliação comparativa com estruturas adjacentes ao fígado (rim direito, vesícula biliar e veia cava inferior) e foi pesquisada a presença de líquido livre na cavidade abdominal que contra-indicasse o procedimento.

As imagens ultra-sonográficas do fígado, obtidas no decorrer do estudo foram registradas utilizando-se *Vídeo Graphic Printer* UP-897 MD da marca *Sony*, em filme UPP-110 HA, tipo IV.

As fotos obtidas seguiram o mesmo protocolo de documentação em todos os exames, obedecendo aos critérios adotados para a equalização dos exames.

4.3.2 Técnica para a punção hepática (biópsia hepática)

Para a delimitação do melhor local para a punção, o transdutor era posicionado longitudinalmente na linha axilar média, no plano correspondente ao apêndice xifóide. Nesta topografia delimitou-se o melhor local para a punção, onde o parênquima hepático fosse bem visibilizado, sem a presença de vasos hepáticos no trajeto da biópsia. O paciente permanecia em decúbito dorsal horizontal durante a avaliação ultrassonográfica, não sendo solicitadas manobras de inspiração profunda ou mudança de decúbito.

Finda esta fase de delimitação do melhor local para a punção, o paciente recebia sedação endovenosa para a realização da biópsia hepática.

4.3.3 Biometria da parede abdominal e hepática

O protocolo de medidas da parede abdominal e do fígado, adotado no presente estudo foi realizado na imagem obtida do lobo hepático direito para efeito de delimitação do melhor local para a punção: na linha axilar média, no eixo longitudinal, por entre os espaços intercostais. As medidas da espessura da parede abdominal e do lobo hepático direito foram feitas no eixo ântero-posterior, sobre a linha perpendicular ao plano da pele, entre: a) superfície da pele e a superfície hepática anterior, para a avaliação da

parede abdominal; b) superfície hepática e o ponto de convergência entre a superfície do diafragma e a face posterior do fígado, para a avaliação do fígado (Figura 4).

Figura 4 – Lobo hepático direito: ultra-sonografia do lobo hepático direito, com mensuração da parede abdominal [a] e do lobo hepático direito em seu eixo ântero-posterior [b].

Os pacientes que apresentaram parênquima hepático com características de esteatose focal não foram incluídos na amostra da população estudada.

4.4 Avaliação anátomo-patológica

Os fragmentos hepáticos obtidos nas biópsias foram analisados pela equipe do laboratório de Anatomia Patológica do HC-FMUSP, obedecendo aos critérios do Consenso Nacional de Patologia de 1999 da Sociedade Brasileira de Patologia (Gayotto, 2000). Este Consenso avalia as hepatites crônicas, mediante o estadiamento das alterações arquiteturais presentes, gradua a atividade da afecção em curso, através da avaliação da atividade necro-inflamatória, e descreve alterações concomitantes tais como: esteatose hepática, infiltrado linfóide, agressão ductal, depósito de ferro. Desta forma, fornece parâmetros semi-quantitativos para avaliação histopatológica do fígado.

Com a finalidade de facilitar a análise estatística, os grupos que traduzem a atividade necro-inflamatória (atividade portal, atividade periportal e atividade parenquimatosa), que habitualmente são graduados de 0 a 4 separadamente, foram agrupados através da somatória da graduação de cada um destes fatores conferida pela anatomia-patológica, estabelecendo-se desta forma 13 grupos (0 a 12). Posteriormente estes grupos foram reagrupados em 4 grupos, para que desta forma fosse possível a comparação com uma mesma escala, entre a atividade necro-inflamatória, esteatose hepática e as alterações arquiteturais presentes.

A presença de esteatose hepática também foi graduada entre 0, 1, 2, 3 e 4 correspondendo à intensidade crescente de infiltração das partículas de gordura no fígado, de leve à acentuada.

4.5 Análise estatística

Os dados deste trabalho foram analisados mediante um nível de significância adotado de 5% ($\alpha = 0,05$), de acordo com o padrão geral comum na área médica e biológica. Desta forma, os valores calculados da probabilidade de erro (p) quando $\leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes e quando $> 0,05$ foram tomados como não significantes.

De modo geral, para as variáveis numéricas foram utilizados os cálculos paramétricos e para as variáveis categóricas ou de mensuração subjetiva ou ainda as numéricas de N mais baixo foram usados os cálculos não paramétricos.

Os modelos estatísticos escolhidos são relacionados a seguir:

- Média aritmética, desvio padrão, erro padrão, valor mínimo e valor máximo dos dados;
- Prova de Kolmogorov-Smirnov;
- Cálculo de percentuais;
- Teste de igualdade da média, t não pareado ou t de Student;

- Prova não paramétrica U de Mann-Whitney;
- Tabela de contingência 2 x 2;
- qui-quadrado corrigido para continuidade, segundo Yates;
- Tabela de contingência k x r;
- qui-quadrado comum;
- Correlação não paramétrica de Spearman
- Regressão logística ou “logit”.

Para a avaliação da probabilidade de esteatose hepática na população estudada, foram realizados cálculos de regressão logística utilizando-se como variável dependente, dicotomizada, a presença ou ausência de esteatose hepática, em função das seguintes variáveis independentes: idade em anos, sexo (feminino= 1 e masculino= 2), alteração do exame ultra-sonográfico (presente = 1 e ausente = 0) e espessura da parede abdominal em cm.

Os programas estatísticos mais utilizados foram: *Microsoft Excel* 1997; *Statistica for Windows (StatSoft Inc.)* release 5.0 A, 1995; *Minitab (Minitab Inc.)* release 13.1, 2000; *SPSS for Windows (SPSS Inc.)* release 10.0.1, 1999; *NCSS*, release 2000.

RESULTADOS

5 Resultados

Na casuística verificou-se que dos 192 pacientes estudados, 59 (30,7%) apresentaram padrão ultra-sonográfico alterado, caracterizando o grupo A e 133 (69,3%) apresentando padrão ultra-sonográfico sem alterações, caracterizando o grupo B.

5.1 Padrões histopatológicos

Inicialmente são relacionados os padrões histopatológicos (alterações arquiteturais, atividade necro-inflamatória e esteatose) encontrados nos Grupos A e B (Tabela 2). Estes foram classificados de acordo com a graduação de 0 a 4 e posteriormente foram calculadas as respectivas médias para efeito de análise estatística, descritas na Tabela 2.

Houve diferença estatisticamente significativa entre os Grupos A e B para a arquitetura e a esteatose e não para a necro-inflamação (prova não-paramétrica de Mann-Whitney).

Tabela 2 – Alterações histopatológicas de arquitetura, necro-inflamação, esteatose hepática.

	N	ARQUITETURA	NECRO-INFLAMAÇÃO	ESTEATOSE
Grupo A	59	1,80	2,03	1,22
Grupo B	133	1,43	1,96	0,39
Mann-Whitney				
Z =		2,09	0,77	4,22
p =		0,036748*	0,442218 NS	0,000025*

5.1.1 Alteração arquitetural (estrutural)

A quantificação das alterações histopatológicas estruturais nos Grupos A e B são mostradas na Tabela 3.

Realizou-se a prova estatística do qui-quadrado (χ^2) para análise da variação conjunta das proporções (0, 1, 2, 3 e 4) entre os dois grupos ($\chi^2 = 13,40$ e $p = 0,00949^*$).

As proporções de cada quantificação entre os grupos A e B foram analisadas pelo teste de diferença entre percentuais, sendo observada diferença significativa no normal (grau zero) e no grau 3 (pré-cirrose).

Não houve diferença na quantificação um e dois e também na quatro, que representa a cirrose.

Tabela 3 – Alterações arquiteturais

ALTERAÇÕES ARQUITETURAIS	GRUPO A	GRUPO B	DIFERENÇA ENTRE PORCENTUAIS
Grau 0	7 (11,86%)	35 (26,32%)	p= 0,0265*
Grau 1	22 (37,29%)	49 (36,84%)	p= 0,9525 NS
Grau 2	13 (22,03%)	25 (18,80%)	p= 0,6049 NS
Grau 3	10 (16,95%)	5 (3,76%)	p= 0,0019*
Grau 4	7 (11,86%)	19 (14,29%)	p= 0,6504 NS

5.1.2 Necro-inflamação

As médias das alterações necro-inflamatórias foram analisadas, não havendo diferença estatística na quantificação da atividade necro-inflamatória nos grupos A e B (prova não paramétrica de Mann-Whitney). Estes resultados estão expressos na Tabela 4.

Tabela 4 – Alterações necro-inflamatórias

	N	PORTAL	PERIPORTAL	PARENQUIMATOSA	MÉDIA
Grupo A	59	2,20	2,15	1,75	2,03
Grupo B	133	2,17	2,04	1,68	1,96
Mann-Whitney					
z=		0,32	0,79	0,70	0,77
p=		0,752561 NS	0,431429 NS	0,486888 NS	0,442218 NS

5.1.3 Esteatose

Dos 192 pacientes estudados, 81 (42,2%) apresentaram esteatose ao resultado anátomo-patológico e 111 (57,8%) não apresentaram esteatose.

Com relação aos grupos A e B, as proporções de esteatose presente são mostradas na Tabela 5.

Tabela 5 – Esteatose hepática

Grupos	ESTEATOSE (AP)				
	Grau 0	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4
A (n= 59)	23 (38,98%)	13 (22,03%)	12 (20,34%)	9 (15,25%)	2 (3,39%)
B (n= 133)	88 (66,17%)	39 (29,32%)	5 (3,76%)	1 (0,75%)	0

Não foi realizada a prova estatística do qui-quadrado pelo fato de três casas apresentarem números menores que cinco. Para possibilitar análise estatística, agrupamos os pacientes com graus 0, 1, 2, 3, 4 em dois sub-grupos: I - representando os graus 0 e 1 e II - representando os graus 2, 3 e 4 (Tabela 6).

Tabela 6 – Esteatose hepática agrupada

Grupos	ESTEATOSE (AP)		
	Subgrupo I	Subgrupo II	p
A (n= 59)	36 (61%)	23 (39%)	p= 0,0185*
B (n= 133)	127 (95,5%)	6 (4,5%)	p=0,00001*

Realizada a prova estatística do X^2 corrigido para continuidade (x^2c), segundo Yates, observou-se diferença significativa entre as proporções da esteatose nos grupos A e B e entre as proporções de EH nos subgrupos I e II ($x^2c= 35,23$ e $p= 0,00001^*$).

Realizou-se também o teste de diferença entre percentuais para os grupos A e B. Em ambos foi constatada diferença estatisticamente significativa entre os subgrupos I e II, sendo maior a diferença para o grupo B.

5.2 Parâmetros ultra-sonográficos

Dos parâmetros ultra-sonográficos selecionados para a avaliação do fígado, observamos:

5.2.1 Biometria

5.2.1.1 Espessura da parede abdominal no hipocôndrio direito

Os 111 pacientes sem esteatose (AP) apresentaram média aritmética e desvio-padrão da espessura da parede de $1,69 \pm 0,40\text{cm}$; 81 pacientes com esteatose apresentaram espessura de parede de $1,96 \pm 0,52\text{cm}$. Houve

diferença estatística da espessura da parede entre esses dois subgrupos (teste t não pareado - $t = 4,04$ e $p = 0,000078^*$) [Figura 4 (a)]

Houve correlação significativa, diretamente proporcional, entre a espessura da parede abdominal e a incidência de EH, quantificada em 0, 1, 2, 3 e 4 (coeficiente de correlação de Spearman - $R = 0,31$ e $p = 0,00001^*$).

5.2.1.2 Dimensões hepáticas no eixo ântero-posterior na linha axilar média

Foi observada correlação direta do diâmetro ântero-posterior do fígado com a esteatose hepática, quantificada em 0, 1, 2, 3 e 4 ($R = 0,23$ e $p = 0,001266^*$) (Figura 4 [b]).

5.2.2 Contornos do fígado

Os contornos hepáticos irregulares apresentaram proporção direta com a esteatose hepática ($R = 0,18$ e $p = 0,010350^*$) (Figura 5)

5.2.3 Características ecográficas do parênquima

Dentre os três componentes ultra-sonográficos avaliados (ecotextura, ecogenicidade e atenuação do feixe acústico), a atenuação apresentou maior correlação com a EH quando comparada à análise conjunta dos mesmos (correlação não paramétrica de Spearman). Esta correlação não paramétrica de Spearman, realizada entre a esteatose e os critérios ultra-sonográficos supracitados alterados, mostrou os resultados descritos na Tabela 7, em ordem decrescente:

Tabela 7 – Correlação entre esteatose e os critérios ultra-sonográficos para diagnóstico de US alterado

Crítérios USG	Correlação de Spearman (R)	p
Ecotextura	-0,11	0,119704 NS
Ecogenicidade	0,29	0,000037*
Atenuação	0,49	0,0000001*

Comparando-se a esteatose com o exame ultra-sonográfico como um todo, observou-se correlação de Spearman significativa ($R = 0,34$ e $p = 0,000001^*$).

5.2.4 Regressão logística

O cálculo da regressão logística, conforme a equação mostrada abaixo revelou a probabilidade da incidência de esteatose hepática na amostra estudada, em função da idade, sexo, alteração ultra-sonográfica e da espessura da parede abdominal.

Equação 1:

$$p_{\text{esteatose}} = \frac{1}{1 + \text{EXP} [- 3,64467 + 0,0504 (\text{idade}) - 0,93681 (\text{sexo}) + 0,859963 (\text{US alt}) + 1,22093 (\text{parede})]}$$

Efetuada o cálculo para os 192 pacientes, verificou-se uma sensibilidade de 58,0% e especificidade de 80,2%.

Com a finalidade de se verificar a possibilidade de aumento nas taxas de sensibilidade e especificidade com outros parâmetros disponíveis durante a execução do exame ultra-sonográfico, foram realizados outros cálculos de regressão logística, substituindo-se algumas variáveis.

Verificou-se que substituindo a variável independente “exame ultra-sonográfico” pelo componente “atenuação” (leve = 1 e moderada ou intensa = 2), e mantendo-se o restante das variáveis independentes inalteradas, observou-se sensibilidade de 58,0% e especificidade de 82,9%.

Equação 2:

$$p_{\text{esteatose}} = \frac{1}{1 + \text{EXP} [- (- 5,70226 + 0,046084 (\text{idade}) - 1,01989 (\text{sexo}) + 2,167683 (\text{atenuação}) + 1,265468 (\text{parede})]}$$

E acrescentando-se a variável independente “dimensões hepáticas” (em cm) à fórmula anterior, mantendo-se as demais variáveis independentes, observou-se sensibilidade de 60,5% e especificidade de 83,8%.

Equação 3:

$$p_{\text{esteatose}} = \frac{1}{1 + \text{EXP} [- (- 7,3129 + 0,04736 (\text{idade}) - 1,1893 (\text{sexo}) + 2,08216 (\text{aten}) + 0,88566 (\text{par}) + 0,2259 (\text{fig})]}$$

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

A literatura tem relatado a contribuição do método ultra-sonográfico em diagnosticar e acompanhar afecções que acometem o fígado (as doenças hepáticas inflamatórias e a EH).

A realização do presente estudo foi favorecida pela possibilidade de se comparar os aspectos ultra-sonográficos do fígado, teciduais e morfológicos, com os achados anátomo-patológicos, no instante da biópsia hepática percutânea orientada pela ultra-sonografia, numa população de pacientes com hepatite C.

Inicialmente, os pacientes estudados foram divididos em dois grupos: A (padrão ultra-sonográfico alterado) e B (padrão ultra-sonográfico sem alterações), com o objetivo de compará-los quanto às alterações ultra-sonográficas provocadas pelas alterações histopatológicas, em separado e entre si.

Desta maneira, foi possível observar que na amostra de 192 pacientes estudados, 30,7% apresentavam ultra-sonografia alterada (grupo A) e em 69,3% não foram observadas alterações ultra-sonográficas (grupo B).

6.1 Padrões histopatológicos

A correlação das características ultra-sonográficas do parênquima hepático com os aspectos histopatológicos do fígado na população de pacientes com hepatite C crônica foi embasada nas alterações arquiteturais, necro-inflamatórias e com a presença de EH.

Na amostra estudada observamos entre os grupos A e B, diferença estatisticamente significativa em relação às alterações arquiteturais e à EH, não havendo, entretanto, diferença estatisticamente significativa com relação à atividade necro-inflamatória (Tabela 2).

Comenta-se a seguir, individualmente, a repercussão das alterações histopatológicas nos aspectos ultra-sonográficos do parênquima hepático.

6.1.1 Alterações arquiteturais

No estudo foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos A e B com relação às graduações 0 e 3 de fibrose, não havendo entretanto, diferença estatisticamente significativa nos graus 1, 2 e 4 (cirrose) (Tabela 3).

Na literatura compulsada foram encontradas referências conflitantes no que diz respeito à correlação entre os aspectos ultra-sonográficos e os achados histopatológicos da cirrose hepática (senso lato) e da EH. Não

encontramos na literatura compulsada estudos sistematizados que tivessem correlacionado os aspectos ultra-sonográficos aos padrões histopatológicos do parênquima hepático com relação às alterações arquiteturais em seus diferentes graus, impossibilitando deste modo, a comparação entre os resultados obtidos aos destes autores (Foster *et al.*, 1979; Needleman *et al.*, 1986; Taylor *et al.*, 1986; Celle *et al.*, 1988; Kutcher *et al.*, 1998; Lu *et al.*, 1999; Gringer, 2001; Fontana e Lok, 2002; Ros e Morteale, 2002; Hepburn *et al.*, 2005).

Contudo, considerando-se a possibilidade da cirrose referida pelos autores corresponder às alterações arquiteturais do grau 4, os resultados obtidos concordam com as observações encontradas, no sentido de não haver diferença ultra-sonográfica estatisticamente significativa entre os grupos A e B neste grau de alteração arquitetural.

Deste modo, este estudo demonstrou que a análise das características ultra-sonográficas (ecogenicidade, ecotextura e atenuação) para a avaliação dos aspectos do parênquima hepático, apresenta limitações quanto à caracterização dos diferentes graus de alteração arquitetural.

6.1.2 Necro-inflamação

Nesta casuística verificamos que não houve diferença estatisticamente significante entre os grupos A e B em relação aos valores

de necro-inflamação atribuídos aos territórios do lóbulo hepático (portal, periportal, parenquimatoso), tanto individualmente como na média da soma dos seus valores (Tabela 4).

Desta forma, observou-se que nesta casuística não foi possível identificar esta alteração histopatológica à ultra-sonografia, demonstrando as limitações do método em caracterizá-la.

Na literatura compulsada não foram encontrados estudos avaliando a correlação entre a ultra-sonografia e a necro-inflamação isoladamente, não sendo possível analisar estes dados de maneira comparativa.

6.1.3 Esteatose hepática

A análise anátomo-patológica dos fragmentos mostrou a presença de EH em 42,2% dos pacientes estudados, concordando com a literatura que cita a sua presença em aproximadamente 50% dos casos de hepatite crônica pelo vírus C (Ramalho, 2003; Antunez *et al.*, 2004; Wyatt *et al.*, 2004; Matos *et al.*, 2006; Negro, 2006).

Os pacientes analisados foram agrupados de acordo com o grau de esteatose presente nas amostras hepáticas obtidas, com graduações variando de 0 (esteatose ausente) a 4 (esteatose severa) (Tabela 5).

Entretanto, quando a quantificação da EH nos diferentes graus (0, 1, 2, 3 e 4) foi analisada, os graus 3 e 4 se apresentaram em pequena

quantidade, o que veio dificultar a análise estatística. No sentido de contornar este problema, os graus de EH foram reagrupados em dois subgrupos: I - esteatose leve (graus 0 e 1) e II – esteatose moderada / acentuada (graus 2, 3 e 4) (Tabela 6).

Em relação aos aspectos ultra-sonográficos, a análise da amostra evidenciou diferença estatisticamente significativa entre os grupos A e B com relação à presença de EH (Tabela 6). Nesta mesma tabela observa-se que houve predominância do grau leve nos grupos A e B, sendo prevalente no grupo B.

A presença de 95,5% de pacientes com graus 0 e 1 de EH no grupo sem alterações ultra-sonográficas evidenciou a dificuldade do método ultra-sonográfico em diagnosticar os graus leves desta alteração histopatológica.

Observou-se também, diferença estatisticamente significativa entre os grupos A e B, com relação à proporção de EH moderada/acentuada, sendo maior no grupo A. A presença de maior proporção de EH com graus 2, 3 e 4 no grupo A de pacientes, demonstra a capacidade do método em identificar estes graus de esteatose.

Estes resultados concordam com trabalhos que afirmam que a ultra-sonografia apresenta sensibilidade elevada para o diagnóstico dos graus moderados e severos da EH e reduzida para os graus leves (Saverymuttu *et al.*, 1986; Celle *et al.*, 1988; Needleman *et al.*, 1986; Zwiebel, 1995; Andrade e García-Escano, 2000; Ros e Mortelet, 2002). Entretanto alguns autores afirmam que a ultra-sonografia não possibilita o diagnóstico de EH e de

fibrose diferindo desta forma dos resultados obtidos (Sanford *et al.*, 1985; Celle *et al.*, 1998; Hepburn *et al.*, 2005; Perez *et al.*, 2007).

6.2 Parâmetros ultra-sonográficos

Correlacionaram-se também outros parâmetros ultra-sonográficos selecionados com a presença de EH nos pacientes portadores de hepatite C crônica, com o intuito de verificar sua importância como fatores associados ao diagnóstico ultra-sonográfico da EH.

Deste modo realizou-se a análise multivariada dos seguintes parâmetros: biometria (espessura da parede abdominal e dimensões hepáticas), contornos hepáticos e características ecográficas do parênquima hepático (ecogenicidade, ecotextura e atenuação).

6.2.1 Biometria

6.2.1.1 Espessura da parede abdominal

Dos 192 pacientes estudados, observou-se diferença estatisticamente significativa na espessura da parede abdominal entre os grupos com e sem EH, onde os pacientes com EH apresentaram uma espessura de parede

maior ($1,96 \pm 0,52\text{cm}$) do que aqueles do grupo sem EH ($1,69 \pm 0,40\text{cm}$), com $p= 0,000078^*$.

Observou-se também uma correlação significativa e diretamente proporcional entre a espessura da parede abdominal e a presença de EH (Tabela 6).

Na literatura compulsada não foram encontrados estudos avaliando a correlação entre a presença de EH na hepatite C e a espessura da parede abdominal, não sendo possível analisar estes dados de maneira comparativa.

Levando-se em consideração que indivíduos obesos apresentam espessura do tecido celular subcutâneo maior, os resultados obtidos concordam com a literatura compulsada onde se afirma que obesidade é considerada fator de risco para EH em pacientes com hepatite C (Hu *et al.*, 2004). Dados da literatura afirmam inclusive que o aumento do índice de massa corpórea (IMC), utilizado habitualmente para avaliar a obesidade, está relacionado à presença de EH e que o IMC elevado estaria associado à EH na hepatite C crônica, concordando desta forma com os resultados obtidos (Hourigan *et al.*, 1999; Cholet *et al.*, 2004; Younossi *et al.*, 2004; Perumalswami *et al.*, 2006).

No entanto, quando são analisados os resultados obtidos neste trabalho, com dados referentes à população geral e não somente nos portadores do vírus da hepatite C, verificamos que os resultados obtidos divergem dos trabalhos que citam que a EH estaria relacionada à gordura

visceral e não com a gordura subcutânea (Liu *et al.*, 2006; Fenkci *et al.*, 2007).

6.2.1.2 Dimensões hepáticas

Foram avaliadas as dimensões do lobo hepático direito na linha axilar média dos pacientes estudados e observou-se correlação direta entre esta dimensão e a presença de EH.

Este dado concorda com dados da literatura que afirmam a ocorrência de hepatomegalia na presença de EH (Rumack *et al.*, 2001; Cerri e Oliveira, 2002; Perlemuter *et al.*, 2007).

6.2.2 Contornos hepáticos

Na população estudada observou-se uma correlação direta entre os contornos hepáticos irregulares e a presença de EH.

Estes resultados concordam com a literatura compulsada onde encontramos referências que citam a EH como fator que pode estar relacionado à fibrose hepática que, em graus mais avançados (cirrose), promove distorção da arquitetura hepática, alterando desta forma, os contornos hepáticos (Moriya *et al.*, 1997; Seef, 1997; Czaja *et al.*, 1998; Fujie *et al.*, 1999; Hourigan *et al.*, 1999; Adinolfi *et al.*, 2001; Hwang *et al.*, 2001;

Marcelin, 2002, Asselah, 2003; Marsano, 2003; Seef *et al.*, 2003; Siddique *et al.*, 2003; Patton *et al.*, 2004; Cholet *et al.*, 2004; Dev *et al.*, 2004; Fernandez-Rodriguez *et al.*, 2004; Hu *et al.*, 2004; Khokhar *et al.*, 2004; Ryder, 2004; Wyatt *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2006).

6.2.3 Características ecográficas do parênquima

Foram analisados os critérios ultra-sonográficos habitualmente utilizados para o diagnóstico de EH: ecogenicidade, ecotextura, e atenuação, correlacionando-os com os aspectos histopatológicos encontrados. A análise conjunta destes critérios, através de cálculos estatísticos, demonstrou que a atenuação foi o critério que apresentou maior correlação com a EH. Por sua vez, a ecogenicidade apresentou correlação com a EH, porém menos significativa, enquanto que a ecotextura não apresentou correlação com a EH (Tabela 7).

Na literatura compulsada encontramos dados conflitantes com relação à ecogenicidade para o diagnóstico de EH, tendo alguns autores afirmado que o aumento da ecogenicidade possibilitaria o diagnóstico desta afecção (Savarymuttu *et al.*, 1986; Mathiesen *et al.*, 2002; Tchelepi *et al.*, 2002; Palmentieri *et al.*, 2006), enquanto que outros afirmam que a ecogenicidade aumentada possibilitaria o diagnóstico de fibrose ou necro-inflamação (Hepburn *et al.*, 2005; Chen *et al.*, 2007; Perez *et al.*, 2007).

Com relação à atenuação, alguns autores afirmam que a atenuação seria um bom critério para o diagnóstico da EH (Lu *et al.*, 1999; Gaitini *et al.*, 2004).

6.3 Comentários finais

Com a finalidade de se avaliar a possibilidade de incidência de EH em função de outras variáveis estudadas na amostra, foram realizados cálculos de regressão logística (idade, sexo, alteração do exame ultra-sonográfico).

Inicialmente foram utilizadas as variáveis: idade, sexo, alteração ultra-sonográfica do parênquima (como um todo) e espessura da parede abdominal. A análise demonstrou com estas variáveis, sensibilidade de 58,0% e especificidade de 80,2% do método para o diagnóstico de EH – Equação 1.

Com o intuito de se aprimorar a sensibilidade e a especificidade do método em diagnosticar a EH, a análise de regressão logística foi ajustada efetuando-se a substituição de algumas variáveis em seus cálculos, assim quando a variável independente “ultra-sonografia alterada” foi substituída por “atenuação”, observou-se discreto aumento na especificidade do método ultra-sonográfico (82,9%), com a sensibilidade permanecendo inalterada (58,0%) - Equação 2. Acrescentando-se a variável independente “dimensões hepáticas” à fórmula previamente utilizada, observou-se aumento discreto

nas taxas de sensibilidade e especificidade (sensibilidade de 60,5% e especificidade de 83,9%) – Equação 3.

Um fator de relevância ao estudo da EH pela ultra-sonografia é a utilização de parâmetros subjetivos (ecogenicidade, ecotextura, atenuação) para este diagnóstico. Desta forma, a acurácia do método para este diagnóstico pode variar de acordo com a importância dada a cada um destes parâmetros pelo médico que estiver realizando o exame. Neste trabalho, a atenuação foi um parâmetro que apresentou importância maior para o diagnóstico da EH, em detrimento à ecogenicidade e ecotextura.

CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

Os resultados do trabalho demonstram:

- 1 A ultra-sonografia apresenta correlação com os aspectos histopatológicos do fígado na hepatite C crônica com as alterações arquiteturais e para a esteatose hepática, não apresentando correlação com a necro-inflamação;
- 2 Com relação aos parâmetros selecionados, a ultra-sonografia apresenta correlação com relação à presença de EH, com a espessura da parede abdominal, com as dimensões hepáticas em seu eixo ântero-posterior na linha axila média e com os contornos hepáticos.

A atenuação foi o componente ultra-sonográfico que apresentou maior correlação para o diagnóstico da EH.

- 3 A ultra-sonografia apresenta capacidade de diagnosticar a EH com sensibilidade de 60,5% e especificidade de 83,9%, considerada a análise de regressão logística por múltiplos parâmetros (idade, sexo, atenuação, espessura da parede abdominal, dimensões hepáticas).

REFERÊNCIAS

9 Referências

Adinolfi LE, Gambardella M, Andreana A, Tripodi MF, Utili R, Ruggiero G. Steatosis accelerates the progression of liver damage of chronic hepatitis C patients and correlates with specific HCV genotype and visceral obesity. *Hepatology*. 2001;33(6):1358-64.

Al Knawy B, Shiffman M. Percutaneous liver biopsy in clinical practice. *Liver Int*. 2007;27(9):1166-73.

Andrade RJ, Garcia-Escaño MD. Hepatic steatosis. *Med Clin (Barc)*. 2000;114(15):574-6.

Antunez I, Aponte N, Fernandez-Carbia A, Rodriguez-Perez F, Toro DH. Steatosis as a predictive factor for treatment response in patients with chronic hepatitis C. *P R Health Sci J*. 2004;23(Suppl 2):57-60.

Asselah T. Liver fibrosis is not associated with steatosis but with necroinflammation in French patients with chronic hepatitis C. *Gut*. 2003;52(11):1638-43.

Assy N, Kaita K, Mymin D, Levy C, Rosser B, Minuk G. Fatty infiltration of liver in hyperlipidemic patients. *Dig Dis Sci*. 2000;45(10):1929-34.

Bennett JC, Goldman L. *Cecil: Tratado de medicina interna*. 20a ed. São Paulo: Guanabara Koogan; 2002. cap.114, p.832.

Blanc JF, Bioulac-Sage P, Balabaud C, Desmoulière A. Investigation of liver fibrosis in clinical practice. *Hepatol Res.* 2005;32(1):1-8

Caldwell SH. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. In: Schiff ER, Sorrell MF, Maddrey WC, editors. *Schiff's Diseases of the Liver*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007

Celle G, Savarino V, Picciotto A, Magnólia MR, Scalabrini P, Dodero M. Is hepatic ultrasonography a valid alternative tool to liver biopsy? Report on 507 cases studied with both techniques. *Dig Dis Sci.* 1988;33(4):467-71.

Chen CH, Lin ST, Yang CC, Yeh YH, Kuo CL, Nien CK. The accuracy of sonography in predicting steatosis and fibrosis in chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci.* In press 2007.

Cholet F, Nousbaum JB, Richecoeur M, Oger E, Cauvin JM, Lagarde N, Robaszkiewicz M, Gouerou H. Factors associated with liver steatosis and fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Gastroenterol Clin Biol.* 2004;28(3):272-8.

Czaja AJ, Carpenter HA, Santrach PJ, Moore SB. Host and disease-specific factors affecting steatosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 1998;29(2):198-206.

Dao T, Lecoite I, Galateau F, Freymuth F, Rideau A, Verwaerde JC, Valla A. Contribution of liver biopsy and serology of hepatitis C virus to the diagnosis of a moderate and prolonged elevation of aminotransferases. *Gastroenterol Clin Biol.* 1993;17(1):37-43.

Davies RJ, Saverymuttu SH, Fallowfield M, Joseph AEA. Paradoxical lack of ultrasound attenuation with gross fatty change in the liver. *Clin Radiol.* 1991;43(6):393-6.

Debonnie JC, Pauls C, Fievez M, Wibin E. Prospective evaluation of the diagnostic accuracy of liver ultrasonography. *Gut.* 1981;22(2):130-3.

Dev A, Patel K, Mchutchinson JG. Hepatitis and steatosis. *Clinics in Liver Disease*. 2004;8:4.

Dove LM. A general approach to the management of chronic hepatitis C. *Gastroenterol Clin North Am*. 2004;33(3):463-77.

Farrell RJ, Smiddy PF, Pilkington RM, Tobin AA, Mooney EE, Temperley IJ, McDonald GS, Bowner HA, Wilson GF, Kelleher D. Guided versus blind liver biopsy for chronic hepatitis C: clinical benefits and costs. *J Hepatol*. 1999;30(4):580-7.

Fenkci S, Rota S, Sabir N, Akdag B. Ultrasonographic and biochemical evaluation of visceral obesity in obese women with non-alcoholic fatty liver disease. *Eur J Med Res*. 2007;12(2):68-73.

Fernandez-Rodriguez CM, Gutierrez ML, Serrano PL, Lledo JL, Santander C, Fernandez TP, Tomas E, Cacho G, Nevado M, Casas ML. Factors influencing the rate of fibrosis progression in chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci*. 2004;49(11-12):1971-6.

Fontana RJ, Lok AS. Noninvasive monitoring of patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2002;36(5 Suppl 1):S57-64.

Foster KJ, Dewbury KC, Griffith AH, Wright R. The accuracy of ultrasound in the detection of fatty infiltration of the liver. *Br J Radiol*. 1979;53:440-2.

Fujie H, Yotsuyanagi H, Moriya K, Shintani Y, Tsutsumi T, Takayama T, Makuuchi M, Matsuura Y, Miyamura T, Kimura S, Koike K. Steatosis and intrahepatic hepatitis C virus in chronic hepatitis. *J Med Virol*. 1999;59(2):141-5.

Gaitini D, Baruch Y, Gherlin E, Veitsman E, Kerner H, Shalem B, Yaniv G, Sarfaty C, Azhari H. Feasibility study of ultrasonic fatty liver biopsy: texture vs. attenuation and backscatter. *Ultrasound Med Biol*. 2004;30(10):1321-7.

Gayotto LC. Classification of chronic hepatitis. *Rev Gastroenterol Mex.* 1994;59(Suppl 2):40-1.

Gayotto LC e Comitê SBP/ SBH. Visão histórica e consenso nacional sobre a classificação das hepatites crônicas. *GED.* 2002;19(3):137-40.

Grassi M, Spada S, Conti R, Loria C, Satta MC, Messini F, Raffa S. Hepatic steatosis: clinical-statistical study of patients diagnosed by histological or ultrasonographic methods. *Clin Ter.* 1998;149(921):53-60.

Hepburn MJ, Vos JA, Fillman EP, Lawitz EJ. The accuracy of the report of hepatic steatosis on ultrasonography in patients infected with hepatitis C in a clinical setting: a retrospective observational study. *BMC Gastroenterol.* 2005;5:14.

Hirche TO, Ignee A, Hirche H, Schneider A, Dietrich CF. Evaluation of hepatic steatosis by ultrasound in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Liver Int.* 2007;27(6):748-57.

Hung CH, Lu SN, Wang JH, Lee CM, Chen TM, Tung HD, Chen CH, Huang WS, Changchien CS. Correlation between ultrasonographic and pathologic diagnosis of hepatitis B and C virus-related cirrhosis. *J Gastroenterol.* 2003;38(2):153-7.

Hourigan LF, Macdonald GA, Purdie D, Whitehall VH, Shorthouse C, Clouston A, Powell EE. Fibrosis in chronic hepatitis C correlates significantly with body mass index and steatosis. *Hepatology.* 1999;29(4):1215-9.

Hu KQ, Kvulo NL, Esrailian E, Thompson K, Chase R, Hillebrand DJ, Runyon BA. Overweight and obesity, hepatic steatosis, and progression of chronic hepatitis C: a retrospective study on a large cohort of patients in the United States. *J Hepatol.* 2004;40(1):147-54.

Hwang SJ. Hepatitis C virus infection: an overview. *J Microbiol Immunol Infect.* 2001;34(4):227-34.

Jarmay K, Karacsony G, Ozsvar Z, Nagy I, Lonovics J, Schaff Z. Assessment of histological features in chronic hepatitis C. *Hepatogastroenterology*. 2002;49(43):239-43.

Joseph AE, Dewbury KC, McGuire PG. Ultrasound in the detection of chronic liver disease. *Br J Radiol*. 1979;52(615):184-8.

Joy D, Thava V, Scott BB. Diagnosis of fatty liver disease: is biopsy necessary? *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2003;15(15):539-43.

Khokhar N, Mushtaq M, Mukhtar AS, Ilahi F. Steatosis and chronic hepatitis C virus infection. *J Pak Med Assoc*. 2004;54(3):110-2.

Kodaira SK. Física. In: Cerri GG, editor. *Ultra-sonografia abdominal*. Rio de Janeiro: Revinter; 2002. p.1-30.

Kutcher R, Smith GS, Sen F, Gelman SF, Mitsudo S, Thung SN, Reinus JF. Comparison of sonograms and liver histologic findings in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Ultrasound Med*. 1998;17(5):321-5.

Lichtinghagen R, Bahr MJ. Noninvasive diagnosis of fibrosis in chronic liver disease. *Expert Rev Mol Diagn*. 2004;4(5):715-26.

Lin T, Ophir J, Potter G. Correlation of ultrasonic attenuation with pathologic fat and fibrosis in liver disease. *Ultrasound Med Biol*. 1988;14(8):729-34.

Liu KH, Chan YL, Chan JC, Chan WB, Kong WL. Mesenteric fat thickness as an independent determinant of fatty liver. *Int J Obes (Lond)*. 2006;30(5):787-93.

Lomas DJ. *Granger and Allison's diagnostic radiology: a textbook of medical imaging*. 4th ed. Churchill Livingstone; 2001. cap.55, p.1237-75.

Lu ZF, Zagzebski JA, Lee FT. Ultrasound backscatter and attenuation in human liver with diffuse disease. *Ultrasound Med Biol*.1999;25(7):1047-54.

Lupsor M, Badea R. Imaging diagnosis and quantification of hepatic steatosis: is it an accepted alterantive to needle biopsy? *Rom J Gastroenterol*. 2005;14(4):419-25.

Mach T. Fatty liver-current look at the old disease. *Med Sci Monit*. 2000;6(1):209-16.

Machado MM, Rosa AC, Cerri GG. Doenças hepáticas difusas, hipertensão portal e transplante de fígado. In: Cerri GG, editor. *Ultra-sonografia abdominal*. Rio de Janeiro: Revinter; 2002. p.55-124.

Marsano LS. Hepatitis. *Primary Care; Clinics in Office Practice*. 2003;30(1):81-107.

Mathiesen UL, Franzén LE, Aselius H, Resjö M, Jacobson L, Foberg U, Frydén A, Bodemar G. Increased liver echogenicity at ultrasound examination reflects degree of steatosis but not of fibrosis. *Dig Liver Dis*. 2002;34(7):516-22.

Matos CA, Perez RM, Pacheco MS, Figueiredo-Mendes CG, Lopes-Neto E, Oliveira EB Jr, Lanzoni VP, Silva AE, Ferraz ML. Steatosis in chronic hepatitis C: relationship to the vírus and host risk factors. *J Gastroenterol Hepatol*. 2006;21(8):1236-9.

Meire H, Cosgrove D, Dewbury K, Farrant P. *Abdominal and general ultrasound*. 2nd ed. London: Churchill Livingstone; 2001. cap.12, p.235-50.

Montalto G, Soresi M, Carrocio A, Bascone F, Tripi S, Aragona F, Di Gaetano G, Notarbartolo A. Percutaneous liver biopsy: a safe outpatient procedure? *Digestion*. 2001;63(1):55-60.

Moriya K, Yotsuyanagi H, Shintani Y, Fujie H, Ishibashi K, Matsuura Y, Miyamura T, Koike K. Hepatitis C core protein induces hepatic steatosis in transgenic mice. *J Gen Virol.* 1997;78(Pt 7):1527-31.

Morra R, Munteanu M, Imbert-Bismut F, Messous D, Ratzu V, Poynard T. FibroMAX: towards a new universal biomarker of liver disease? *Expert Rev Mol Diagn.* 2007;7(5):481-90.

Murata Y, Ogawa Y, Saibara T, Nishioka A, Takeuchi N, Kariya S, Onishi S, Yoshida S. Tamoxifen-induced non-alcoholic steatohepatitis in patients with breast cancer: determination of a suitable biopsy site for diagnosis. *Oncol Rep.* 2003;10(1):97-100.

Needleman J, Kurtz A, Rifkin M, Cooper H, Pasto M, Goldberg B. Sonography of diffuse benign liver disease. *AJR Am J Roentgenol.* 1986;146:1011-5.

Negro F. Mechanisms and significance of liver steatosis in hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol.* 2006;12(42):6756-65.

Nishino M, Hayakawa K, Nakamura Y, Morimoto T, Mukaiharu S. Effects of tamoxifen on hepatic fat content and the development of hepatic steatosis in patients with breast cancer: high frequency of involvement and rapid reversal after completion of tamoxifen therapy. *AJR Am J Roentgenol.* 2003;180(1):129-34.

Ong TZ, Tan HJ. Ultrasonography is not reliable in diagnosis liver cirrhosis in clinical practice. *Singapore Med J.* 2003;44(6):293-5.

Palmentieri B, de Sio I, La Mura V, Masarone M, Vecchione R, Bruno S, Torella R, Persico M. The role of bright liver echo pattern on ultrasound B-mode examination in the diagnosis of liver steatosis. *Dig Liver Dis.* 2006;38(7):485-9.

Palmer PE. *Manual de diagnóstico em ultra-sonografia.* Rio de Janeiro: Revinter; 1999.

Patton HM, Patel K, Behling C, Bylund D, Blatt LM, Vallee M, Heaton S, Conrad A, Pockros PJ, McHutchinson JG. The impact of steatosis on disease progression and early and sustained treatment response in chronic hepatitis C patients. *J Hepatol*. 2004;40(3):484-90.

Perez NE, Siddiqui FA, Mutchnick MG, Dhar R, Tobi M, Ullah N, Saksouk FA, Wheeler DE, Ehrinpreis MN. Ultrasound diagnosis of fatty liver in patients with chronic liver disease: a retrospective observational study. *J Clin Gastroenterol*. 2007;41(6):624-9.

Perlemutter G, Bogorgne A, Cassard-Doulcier AM, Naveau S. Nonalcoholic fatty liver disease: from pathogenesis to patient care. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2007;3(6):458-69.

Perumalswani P, Kleiner DE, Lutchman G, Heller T, Borg B, Park Y, Liang TJ, Hoofnagle JH, Ghany MG. Steatosis and pregression of fibrosis in untreated patients with chronic hepatitis C infection. *Hepatology*. 2006;43(4):780-7.

Poynard T, Ratziu V, Benmanov Y, Di Martino V, Bedossa P, Opolon P. Fibrosis in patients with chronic hepatitis C: detection and significance. *Semin Liver Dis*. 2000;20(1):47-55.

Poynard T, Munteanu M, Imbert-Bismut F, Charlotte F, Thabut D, Le Calvez S, Messous D, Thibault V, Benhamou Y, Moussalli J, Ratziu V. Prospective analysis of discordant results between biochemical markers and biopsy in patients with chronic hepatitis C. *Clin Chem*. 2004;50(8):1344-55.

Ralls PW, Jeffrey RB Jr, Kane RA, Robbin M. Ultrasonography. *Gastroenterol Clin North Am*. 2002;31:801-25.

Ramalho F. Hepatitis C virus infection and liver steatosis. *Antiviral Res*. 2003;60(2):125-7.

Rodrigues MB, Amaro Jr E, Kodaira SK. Anatomia ultra-sonográfica do abdome. In: Cerri GG, editor. *Ultra-sonografia abdominal*. Rio de Janeiro: Revinter; 2002. p.32-53.

Ros PR, Morteale KJ: Diffuse liver disease. *Clin Liver Dis*. 2002; 6(1):181-201.

Rossi P, Sileri P, Gentileschi P, Sica GS, Forlini A, Stolfi VM, De Majo A, Coscarella G, Canale S, Gaspari AL. Percutaneous liver biopsy using an ultrasound-guided subcostal route. *Dig Dis Sci*. 2001;46(1):128-32.

Saverymuttu SH, Joseph AEA, Maxwell JD. Ultrasound scanning in the detection of hepatic fibrosis and steatosis. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1986;292(6512):13-5.

Scheuer PJ, Ashrafzadeh P, Sherlock S, Brown D, Dusheiko GM. The pathology of hepatitis C. *Hepatology*. 1992;15(4):567-71.

Seeff LB. The natural history of chronic hepatitis C virus infection. *Clin Liver Dis*. 1997;1(3):587-602.

Seeff LB. Natural history of hepatitis C. In: Schiff ER, Hoofnagle JH, editors. *Update on Viral Hepatitis*. AASLD Postgraduate Course 2000, pp.112-8.

Siddique I, Abu El-Naga H, Madda JP, Memon A, Hasan F. Sampling variability on percutaneous liver biopsy in patients with chronic hepatitis C vírus infection. *Scand J Gastroenterol*. 2003;38(4):427-32.

Sorf M, Krislo V, Jablonsky I, Bartek J. Initial experience with thin-needle biopsy under ultrasonic control in diffuse liver disease. *Vnitr Lek*. 1989;35(3):288-91.

Taylor KJ, Riely CA, Hammers L, Flax S, Weltin G, Garcia-Tsao G, Conn HO, Kuc R, Barwick K. Quantitative US attenuation in normal liver and in patients with diffuse liver disease: importance of fat. *Radiology*. 1986;160(1):65-71.

Tchelepi H, Ralls PW, Radin R, Grant E. Sonography of diffuse liver disease. *J Ultrasound Med*. 2002;21(9):1023-32.

Withers CE, Wilson SR. O fígado. In: *Rumack CM. Tratado de ultrasonografia diagnóstica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1998. p73-130

Wyatt J, Baker H, Prasad P, Gong YY, Millson C. Steatosis and fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *J Clin Pathol*. 2004;57(4):402-6.
Yoon EJ, Hu KQ. Hepatitis C vírus (HCV) infection and hepatic steatosis. *Int J Med Sci*. 2006;3(1):53-6.

Younossi ZM, McCullough AJ, Ong JP, Barnes DS, Post A, Tavill A, Bringman D, Martin LM, Assmann J, Gramlich T, Mullen KD, O'Shea R, Carey WD, Ferguson R. Obesity and non-alcoholic fatty liver disease in chronic hepatitis C. *J Clin Gastroenterol*. 2004;38(8):705-9.

Zheng RQ, Wang QH, Lu MD, Xie SB, Ren J, Su ZZ, Cai YK, Yao JL. Liver fibrosis in chronic viral hepatitis: an ultrasonographic study. *World J Gastroenterol*. 2003;9(11):2484-9.

Zwiebel WJ. Sonographic diagnosis of diffuse liver disease. *Semin Ultrasound CT MR*. 1995;16(1):8-15.