

Maria de Fátima Gomes de Sá Ribeiro

**Fatores prognósticos na evolução da
hepatite C**

**Tese apresentada ao Departamento de
Patologia da Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências.**

**Área de concentração: Patologia
Orientador: Profa. Dra. Edna Strauss**

**SÃO PAULO
2004**

À minha mãe,
Maria de Lourdes,
exemplo de amor e vida.

À minha filha,
Maria Fernanda,
razão da minha existência.

Ao meu esposo,
Carlos Emmanuel,
amor e dedicação incondicionais.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Edna Strauss, de uma maneira especial, que fez parte de minha vida transformando-a, engrandecendo-a e incentivando-me em todos os momentos, de modo profissional e pessoal. Com muita competência, disponibilidade, amizade, tolerância e amor, comprovados durante esses quase 25 anos. É a minha grande mestra!

Ao Prof. Dr. Luíz Carlos da Costa Gayotto, *in memoriam*, pelo inestimável privilégio de seu convívio e ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Dalton Alencar Fischer Chamone, pelo incentivo constante e colaboração na realização deste trabalho.

A todos os pacientes do Ambulatório de Hepatites da Hematologia, que muito me ensinaram na realização desta pesquisa.

A Produtos Roche Químicos e Farmacêuticos S.A. - Divisão de Biotecnologia, particularmente aos Drs. Fernando Tatsch e Kali Nardino, pelo auxílio financeiro dos reagentes para a realização da carga viral do vírus da hepatite C.

À Dra. Ester Sabino, pela realização de exames indispensáveis nesta pesquisa e à Anna Nishiya, pela realização dos testes de modo tão prestativo.

Ao Dr. José Eduardo Levi, pela realização imprescindível dos testes de Biologia Molecular.

Às minhas amigas Dra. Maria Cristina Dias Teixeira e Daniela Gotardo, pelo apoio, amizade e imenso prazer do convívio no ambulatório de Hepatites.

A toda equipe da Gastroenterologia Clínica do Hospital Heliópolis, pelo apoio durante os anos de realização deste trabalho.

À Suzana Bierrenbach de Souza Santos, pela amizade, presteza e precisão na diagramação desta tese.

À Tersia Ribeiro Miranda, pelo carinhosa ajuda na parte de informática.

À Adriana Sanudo, pela excelente contribuição na realização da análise estatística.

Gostaria de agradecer com muito reconhecimento a todos que, de uma maneira ou de outra, direta ou indiretamente, possibilitaram este trabalho.

SUMÁRIO



Lista de abreviaturas

Resumo

Summary

1	INTRODUÇÃO	01
1.1	Modos de transmissão	03
1.2	Fatores que influenciam a evolução da hepatite C crônica	04
1.2.1	Fatores relacionados ao vírus	05
1.2.2	Fatores relacionados ao hospedeiro	07
1.2.3	Fatores ambientais	10
1.3	Papel das aminotransferases na hepatite C crônica	11
1.4	Papel da GGT	12
1.5	Considerações anatomopatológicas	12
2	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo principal	16
2.2	Objetivos complementares	16
3	PACIENTES E MÉTODOS	17
3.1	Pacientes	18
3.2	Métodos	19
3.2.1	Dados demográficos, clínicos e epidemiológicos	19
3.2.2	Quantificação do álcool	21
3.2.3	Histologia hepática	22
3.2.4	Quantificação do RNA-VHC no soro	25
3.2.5	Quantificação do RNA-VHC hepático	26
3.2.6	Genotipagem do VHC	27
3.2.7	Análise estatística	30
4	RESULTADOS	32
4.1	Influência da ingestão alcoólica nos dados demográficos, clínico-epidemiológicos, bioquímicos e histopatológicos	33
4.2	Análise comparativa entre fibrose e os dados demográficos, clínico-epidemiológicos e bioquímicos	39
4.3	Análise comparativa entre atividade inflamatória periportal e os dados demográficos, clínico-epidemiológicos e bioquímicos	42
4.4	Análise comparativa entre atividade inflamatória lobular e os dados demográficos, clínico-epidemiológicos e bioquímicos	45
4.5	Análise comparativa entre infiltrado inflamatório portal e os dados demográficos, clínico-epidemiológicos e bioquímicos	48

4.6	Comportamento dos genótipos do VHC em relação aos modos de contaminação e aos grupos de ingestão alcoólica	51
4.7	Relações entre as quantificações do RNA-VHC no soro e tecido hepático e seus genótipos nos três grupos de ingestão alcoólica..	53
4.8	Resultados da esteatose nos grupos de consumo alcoólico e no genótipo tipo 3	56
4.9	Análise do índice AST / plaquetas (APRI) e os diferentes graus de fibrose e atividade inflamatória periportal nos três grupos de ingestão alcoólica	57
4.10	Análise comparativa do grau de progressão de fibrose com dados demográficos e epidemiológicos nos três grupos de ingestão alcoólica	59
4.10.1	Grupo abstêmio	61
4.10.2	Grupo consumo alcoólico leve	62
4.10.3	Grupo consumo alcoólico acentuado	64
4.11	Análise de regressão logística	66
4.11.1	Alterações estruturais	66
4.11.2	Atividade inflamatória periportal	68
4.11.3	Atividade inflamatória lobular	71
4.11.4	Infiltrado inflamatório portal	73
5	DISCUSSÃO	75
5.1	Fibrose hepática e consumo alcoólico	76
5.2	Parâmetros demográficos/clínicos e consumo alcoólico	78
5.3	Variáveis histológicas e idade	79
5.4	Esteatose e progressão da hepatite C	80
5.5	Enzimas hepáticas e progressão da hepatite C	82
5.6	Plaquetas e APRI como fatores preditivos de evolução	84
5.7	Carga viral e genotipagem	85
6	CONCLUSÕES	87
7	REFERÊNCIAS	89

Apêndices

LISTA DE ABREVIATURAS

ALT	Alanina aminotransferase
Anti-VHC	Anticorpo contra o vírus da hepatite C
AST	Aspartato aminotransferase
APP	Atividade Inflamatória Periportal
ELISA	Ensaio Imunoabsorvente Ligado à Enzima - teste sorológico
FPS-HSP	Fundação Pró Sangue – Hemocentro de São Paulo
GGT	Gama glutamil transferase
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
IgM	Imunoglobulina da classe M
IgG	Imunoglobulina da classe G
IMC	Índice de Massa Corpórea
LSN	Limite superior da normalidade
µL	Microlitro
mM	Milimol
ng	Nanograma
PCR	Reação da Polimerase em cadeia
RNA-HCV	Ácido Ribonucléico do vírus da hepatite C
RNA-PCR	Reação em cadeia de polimerase do ácido ribonucléico
RIBA	Técnica Recombinante de Imunoensaio
UI/L	Unidades internacionais por litro
UI/ml	Unidades internacionais por mililitro
UI/µL	Unidades internacionais por microlitro
VHC	Vírus da hepatite C

RESUMO



Ribeiro, MFGS. *Fatores Prognósticos na evolução da hepatite C*. [Tese]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2004. 108p.

O consumo alcoólico pode levar à deterioração da lesão hepática em pacientes com hepatite C. A progressão da doença na hepatite C crônica depende de vários outros fatores relacionados com o hospedeiro, vírus e o meio ambiente embora os mecanismos patogênicos ainda não sejam bem conhecidos.

OBJETIVOS: avaliar os dados demográficos, epidemiológicos, clínicos e bioquímicos dos pacientes com hepatite C crônica em relação ao consumo alcoólico e analisar as variáveis clínicas, epidemiológicas e bioquímicas em relação às alterações histopatológicas ausente e leve em comparação às intensas.

MÉTODOS: Foram estudados dados demográficos, clínico-epidemiológicos e laboratoriais comparando-os às alterações histopatológicas em 120 doadores voluntários de sangue com hepatite C, divididos em três grupos de acordo com a ingestão alcoólica: (i) grupo abstêmio: n=41; (ii) grupo consumo alcoólico leve: n=36; (iii) grupo consumo alcoólico acentuado: n=43. Os parâmetros histopatológicos como alterações estruturais ou fibrose, atividade periportal e lobular e infiltrado portal foram graduados de 0 a 4 e divididas em leve (0/1/2) e intensa (3/4).

RESULTADOS: Quase 70% dos pacientes eram homens e a

maior proporção deles (83,5%) era de alcoolistas (leve e acentuado). Por outro lado, as mulheres eram habitualmente abstinências (58,5%). Transfusão, como fator de risco para hepatite C foi mais freqüente em abstêmios ($p=0,056$) enquanto que o uso de drogas predominou no grupo de consumo alcoólico acentuado ($p<0,001$). Com relação aos grupos, não foram observadas diferenças quando analisados o tempo de ingestão alcoólica, abstinência alcoólica, cirurgia e outros modos de contaminação, níveis séricos de alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, gama-glutamilttransferase, graus de fibrose, atividade lobular e infiltrado portal. Atividade periportal leve foi relevante nos grupos abstêmios e consumo alcoólico leve enquanto a atividade periportal intensa foi maior no consumo alcoólico acentuado ($p=0,033$). Quando comparamos os diferentes parâmetros histopatológicos, a idade mais avançada foi associada de modo significativo com fibrose ($p=0,004$), atividade periportal ($p=0,001$) e infiltrado portal intensos ($p=0,001$). Valores mais altos de índice de massa corpórea correlacionaram significativamente ($p=0,013$) com fibrose intensa enquanto maior tempo de ingestão alcoólica foi relacionado com atividade periportal intensa ($p=0,001$). Níveis de alanina aminotransferase foram maiores significativamente com intensa fibrose ($p<0,001$), atividade periportal ($p=0,031$) e atividade lobular ($p=0,013$), enquanto níveis elevados de

aspartato aminotransferase correlacionaram com maior fibrose ($p < 0,001$), atividade periportal ($p < 0,001$), atividade lobular ($p = 0,001$) e infiltrado portal ($p < 0,018$). Valores de gama-glutamiltransferase foram significativamente maiores com intensa fibrose ($p = 0,012$), atividade periportal ($p = 0,013$) e atividade lobular ($p = 0,003$). Níveis mais altos de imunoglobulina G correlacionaram com intensa fibrose ($p = 0,040$) e atividade lobular ($p = 0,048$). A contagem de plaquetas foi significativamente menor quando comparada com fibrose ($p < 0,001$) e atividade periportal intensas ($p = 0,049$). A análise de regressão logística identificou aspartato aminotransferase e contagem de plaquetas como fatores preditivos independentes de intensa fibrose. CONCLUSÕES: O estudo mostrou correlação entre consumo de álcool e atividade periportal, mas não com fibrose que está relacionada com idade, índice de massa corpórea, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, gama-glutamiltransferase e menor contagem de plaquetas. Níveis de aspartato aminotransferase e contagem de plaquetas foram os melhores fatores preditivos de fibrose intensa.

SUMMARY

Ribeiro, MFGS. *Prognostics factors in evolution of chronic hepatitis C* [Thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2004. 108p.

The interaction of hepatitis C with alcohol consumption is thought to be a deleterious one. Progression of liver disease in chronic hepatitis C depends on several other factors related to the host, virus and the environment but, these factors are not well understood yet. AIMS: To analyze demographic, epidemiological, biochemical and histopathological data of patients with hepatitis C according to heavy, light or no alcohol consumption. To assess the behavior of clinical, epidemiological and biochemical variables in relation to absent or mild histopathological alterations in contrast to severe alterations. METHODS: We have studied the demographic, epidemiological and laboratory data and then compared them to the histopathological alterations in 120 volunteer blood donors with hepatitis C virus divided into three groups according to alcohol intake: abstainers: n=41, light drinkers: n=36 and heavy drinkers: n=43. Liver histopathology alterations, namely architectural staging, periportal and lobular inflammation as well as portal inflammatory infiltrate were graded from 0 to 4 and afterwards divided into light (0 to 2) and severe (3 to 4).

RESULTS: Almost 70% (83/120) of the patients were men and a high proportion of men (83.5 %) were drinkers (light and heavy). Women, on the other hand were more likely to be abstainers: 58.5% of them did not drink. Transfusion as risk factor for HCV was more frequent in abstainers ($p= 0.056$) whereas drug addiction predominated in heavy drinkers ($p<0.001$). Regarding these groups no differences were found when duration of alcohol intake, abstinence of alcohol, surgery, other contamination factors, ALT, AST, GGT, degree of fibrosis, lobular inflammation and portal infiltrate were considered. Regarding three groups, mild periportal inflammation was significantly related with abstainers and light drinkers groups whereas severe periportal inflammation was more predominant in heavy drinkers ($p=0.033$). When we compared mild with severe histopathological alterations older age was significantly associated with severe fibrosis ($p=0.004$), periportal inflammation ($p=0.001$) and portal inflammatory infiltrate ($p=0.001$). Higher BMI values correlated significantly ($p=0.013$) with severe fibrosis whereas higher duration of alcohol intake was related to severe periportal inflammation ($p=0.001$). ALT level was significantly higher in severe fibrosis ($p<0.001$), periportal inflammation ($p=0.031$) and lobular inflammation ($p=0.013$), whereas higher levels of AST correlated with severe fibrosis ($p<0.001$), periportal inflammation ($p<0.001$), lobular inflammation ($p=0.001$) and portal

inflammatory infiltrate ($p=0.018$) . GGT values were significantly higher in severe fibrosis ($p=0.012$), periportal inflammation ($p=0.013$) and lobular activity ($p=0.003$) and higher levels of IgG correlated with fibrosis ($p=0.040$) and lobular inflammation ($p=0.048$). In the end, platelets were significantly lower ($p<0.001$) in severe fibrosis and periportal inflammation ($p=0.049$). Logistic regression analysis identified AST and platelet count as independent predictors of severe fibrosis.

CONCLUSIONS: Our study has shown a correlation between alcohol consumption and periportal inflammation, but not with fibrosis, which is correlated with age, high enzymes levels and low platelet count. AST and platelet count were the best predictors of severe fibrosis.

1. INTRODUÇÃO

O vírus da Hepatite C (VHC) foi identificado em 1989 por Choo et al.¹, e nos dias atuais é considerado o maior responsável pela hepatite crônica. Estima-se em 170 milhões o número de indivíduos cronicamente infectados no mundo². Na Cidade de São Paulo, a prevalência é de 1% a 4% de anticorpos contra o VHC (Anti-VHC)³. Considerando o período de seis meses a partir da contaminação, aceita-se que 60% a 85% dos pacientes tornam-se crônicos e, em geral, com sintomas leves ou assintomáticos. O percentual de indivíduos cronicamente infectados pelo VHC que evoluem para cirrose varia de 17% a 55% (média de 42%) em estudos retrospectivos⁴⁻⁸ e de 7% a 16% (média de 11%) de acordo com estudos prospectivos⁹⁻¹². Após o desenvolvimento de cirrose, pode ocorrer carcinoma hepatocelular em uma freqüência de 1% a 3% ao ano¹³. O paciente pode também apresentar aminotransferases normais, ácido ribonucléico do VHC (RNA-VHC) persistentemente positivo no soro com mínima ou nenhuma lesão histológica hepática o qual pode ser denominado de “portador saudável”. Nos casos em que os sintomas estão presentes, os mais comuns são fadiga, mal estar, depressão, sem muita repercussão clínica. Por isto, freqüentemente o diagnóstico pode ser feito acidentalmente, ou seja, através de aminotransferases de rotina que se apresentam aumentadas ou através de doação de sangue em hemocentros. Outras vezes, a doença pode aparecer já com os sintomas de descompensação da cirrose.

1.1. Modos de transmissão

A transfusão de sangue ou hemoderivados e uso de drogas injetáveis são os fatores de risco mais freqüentes responsáveis pela transmissão do VHC. Com o descarte de sangue contaminado com VHC pelos bancos de sangue após 1992, este risco tornou-se quase nulo. Outros fatores de risco são cirurgias, uso de materiais perfurantes contaminados como seringas e agulhas não descartáveis, lâminas de barbear, procedimentos invasivos dentários, tatuagem, acupuntura. São consideradas prováveis, porém raras, as contaminações por via sexual, doméstica, ocupacional e materno-fetal¹⁴. Quando os pacientes são portadores de doenças sexualmente transmissíveis ou que apresentam comportamento sexual promíscuo, sem outro fator de risco, existe maior probabilidade de transmissão do VHC^{15,16}.

Estudos têm mostrado que 61% a 93% dos pacientes Anti-VHC positivo têm história provável de exposição parenteral e em 31% a 53% deles não se identifica a via de contágio, sendo chamada de forma “esporádica” ou provavelmente adquirida na comunidade¹⁴. Um grande levantamento epidemiológico francês de 6.664 pacientes investigando o papel da via de transmissão na evolução da cirrose pelo VHC demonstrou que a transfusão sanguínea foi um fator importante para o desenvolvimento de cirrose, independentemente da duração da doença e da idade na época da contaminação da hepatite C¹⁷.

Em tese de mestrado realizada na Fundação Pró Sangue do Hemocentro de São Paulo¹⁸, com o objetivo de investigar os prováveis fatores de risco para a transmissão do VHC e as freqüências destes fatores em doadores voluntários de sangue provenientes do banco de sangue daquele centro, foi demonstrado que 65% dos casos apresentaram múltiplos fatores. O mais freqüente foi transfusão, seguida de cirurgia, enquanto apenas 6% dos doadores não tinham quaisquer fatores de risco. Um achado interessante foi uma proporção de 16% de usuários de drogas ilícitas, tornando evidente a omissão de dados ou a falta de compreensão do questionário da triagem.

1.2. Fatores que influenciam a evolução da hepatite C crônica

Os fatores que podem levar à progressão da hepatite crônica são relacionados a:

➤ **Vírus:**

- Genótipo,
- Níveis séricos de RNA do VHC,
- Presença de *quasispecies*.

➤ **Hospedeiro:**

- Idade da contaminação,
- Modo de contaminação,
- Tempo de contaminação,
- Sexo,

- Deficiência imunológica,
- Co-infecção com outros vírus como da hepatite B e da imunodeficiência humana (HIV),
- Co-morbididades como hemocromatose ou sobrecarga de ferro, obesidade.

➤ **Fatores ambientais**

- Alcoolismo crônico.

1.2.1 - Fatores relacionados ao vírus

Dos fatores virais, o genótipo tem sido investigado no intuito de conhecer quais tipos ou subtipos estão associados com a progressão da doença, sem resultados concretos até o momento. Inicialmente, vários estudos mostraram que o genótipo 1b apresentava associação com cirrose^{19,20} incluindo maior frequência de carcinoma hepatocelular²¹, porém não foi confirmado por observações mais apropriadas^{22,23}. De fato, um grande trabalho multicêntrico, examinando mulheres jovens, anti-HCV positivas, genótipo 1b, que se infectaram com imunoglobulina 19-20 anos atrás, revelou que a maioria apresentava hepatite leve com baixo risco de progressão para cirrose²⁴. Entretanto, apesar da falta de associação com a evolução da hepatite C, os genótipos 1a e 1b estão relacionados a uma pior resposta ao tratamento diferentemente dos tipos 2 e 3 considerados fatores preditivos de boa resposta.

Os dados relatados em pesquisas sobre a quantificação do RNA-VHC (carga viral) são discordantes. Em dois estudos de pacientes com hepatite C sem ingestão alcoólica, os níveis de RNA-VHC séricos correlacionaram-se com a atividade necro-inflamatória e o estágio de fibrose^{20,25}, enquanto outros não encontraram correlação entre os níveis de viremia e a gravidade da doença²⁶.

O efeito do álcool sobre a replicação do VHC tem sido divergentes. Alguns estudos têm demonstrado que a ingestão alcoólica está associada com maiores níveis da carga viral^{23,27} apesar do aumento pequeno. Outros trabalhos não mostraram diferenças na carga viral relacionada ao álcool^{28, 29}. Entretanto, Pessione et al.³⁰ estudando o efeito do álcool em pacientes com hepatite C crônica demonstrou que mesmo quantidade pequena de ingestão alcoólica como 140 gramas por semana aumenta os níveis séricos da carga viral. Esta relação também foi confirmada em outras investigações nas quais a diminuição da ingestão alcoólica resultou em redução da carga viral sérica^{31,32}.

Portanto, tanto o genótipo como a carga viral não apresentaram, até o momento, evidências de associação com a progressão da hepatite C ou influência na história natural da doença.

O VHC, assim como quase todos os vírus RNA, pode, ao se replicar, sofrer mutações denominadas de *quasispecies*. Estas mutações costumam ser pequenas e leves nas fases iniciais da doença, podendo estar associadas às aminotransferases normais e na fase crônica da infecção apresentam-se com aumento da diversidade genética. Portanto, as

mutações podem ocorrer de forma não uniforme por todo o genoma do VHC, assim como em algumas regiões permanecer muito estáveis no decorrer do tempo, enquanto outras apresentar considerável variabilidade. Estudos sugerem que uma população mais heterogênea de *quasispecies* pode levar à persistência da infecção viral, pelo escape da neutralização imune humoral e celular³³. Existem divergências quanto a possível relação entre a diversidade ou complexidade genética de *quasispecies* do VHC, e os níveis de ALT e a gravidade da doença hepática³⁴⁻³⁸. Nestes e em outros estudos, não é possível separar a influência da variedade de *quasispecies* de outras características como sexo, idade e tempo de infecção. Desta forma, existe necessidade de um número maior de investigações sobre seu papel na história natural da hepatite C.

1.2.2 - Fatores relacionados ao hospedeiro

A idade do paciente na época da contaminação, parece ter um papel preponderante na progressão da infecção pelo VHC. Várias pesquisas, muitas delas com grande casuística, têm confirmado a idade como fator de risco relevante na história natural da hepatite C^{23,39,40}. A contaminação pelo VHC após os 50 anos favorece a progressão mais rápida da fibrose. As razões para que este fato ocorra não estão ainda bem definidas. Supõe-se que estejam intrinsecamente relacionadas ao sistema imune⁴¹. Pacientes do sexo feminino infectadas pelo VHC antes dos 40 anos tiveram menor evolução para a fibrose⁴². A história natural da infecção pelo

VHC na infância pode ser considerada relativamente benigna, visto que raramente está associada à doença hepática grave ou descompensada. Confirmando esta inferência, em estudos com crianças, o desenvolvimento de cirrose após seguimento de 20 anos variou de 2% a 4%¹³. Além disto, a proporção de crianças com hepatite pós transfusional que permaneceram positivas para o RNA do VHC em estudos de seguimento foi 55% a 60%^{43, 44} corroborando a baixa cronicidade na infância comparada à população adulta.

Em relação ao sexo, existe evidência que a taxa de progressão da doença hepática é menor em mulheres, especialmente mais jovens²³, do que nos homens, embora em estudos populacionais como os de Dionysos⁴⁵ e NHANES⁴⁶ o percentual de cronicidade foi o mesmo para ambos os sexos.

Os pacientes que se contaminam por transfusão de sangue ou hemoderivados são os que possibilitam de maneira mais objetiva a determinação da época do início da infecção e o seu tempo de evolução. Estudos com hepatite Não-A, não-B pós-transfusional realizados em meados dos anos 80⁴⁷ seguido por outros⁴⁸⁻⁵⁰ demonstraram que os pacientes que apresentavam este tipo de fator de risco, evoluíram com graus histopatológicos mais grave do que aqueles com outros meios de transmissão.

O estágio de fibrose é considerado clinicamente relevante, pois evidencia a evolução da doença. O desenvolvimento da lesão hepática, da hepatite crônica para cirrose pode ainda relacionar-se à duração da infecção. Poynard, em 1997²³ e em 2001⁵¹ realizou tentativas de modelos para estimar a progressão da fibrose supondo uma evolução linear da

mesma. Ele definiu a progressão da fibrose como a relação entre o estágio de fibrose (METAVIR) e o tempo estimado da infecção em anos. Baseado neste modelo matemático utilizando grande casuística de pacientes com uma única biópsia, a média de progressão de fibrose em hepatite crônica por VHC é 0,13 unidades de fibrose ao ano. Nesta proporção, o desenvolvimento para cirrose levaria 30 anos. No entanto, a progressão pode ser intermitente, permanecer estável durante décadas ou acelerar em decorrência de fatores do hospedeiro.

O estado imunológico do hospedeiro é relevante na evolução da hepatite C. O papel da resposta imune do hospedeiro tem sido estudado a fim de delinear a evolução da infecção pelo VHC. Indivíduos infectados pelo VHC que apresentaram imunossupressão têm progressão da doença maior do que a aqueles que se contaminaram através de transfusões^{52,53} como também percentual mais rápido para insuficiência hepática⁵⁴. De fato, um número significativo de pacientes com agamaglobulinemia tem resposta imune insuficiente que os tornam incapazes de eliminar o VHC, embora a supressão viral possa ocorrer em pacientes com graves deficiências imunológicas em menor percentual do que em imunocompetentes⁵⁵.

Outro fator importante que afeta a história natural da hepatite C é a co-infecção com outros vírus que apresentam igual modo de contaminação. A progressão da hepatite C é mais rápida quando ocorre co-infecção VHC-HIV comparada aos pacientes HIV negativos⁵⁶, de forma semelhante ao que acontece na co-infecção com o vírus da hepatite B⁵⁷.

Pacientes com infecção crônica pelo VHC podem apresentar maior acúmulo de ferro hepático e, se associado à heterozigose para hemocromatose evoluir com piora da doença hepática⁵⁸. Depósito de ferro hepático pode contribuir para a patogenia da hepatite crônica C, porém a relação entre os níveis séricos de ferro e a hepatite C ainda não está bem esclarecida.

A esteatose hepática é um achado histológico freqüente na infecção crônica pelo VHC e é também observada em pacientes obesos⁵⁹. Além disso, a esteatose tem sido relacionada com o Índice de Massa Corpórea, a qual pode contribuir para a progressão da fibrose⁶⁰. A crença de que estas variáveis estejam associadas com a progressão da hepatite crônica tem aumentado recentemente, embora sem conclusões definitivas.

1.2.3 - Fatores ambientais

A influência do consumo alcoólico sobre a infecção pelo VHC, em termos de gravidade da doença é ainda controversa. Não se conhece a quantidade de ingestão alcoólica “segura”, que não leve à deterioração da lesão hepática. De acordo com muitos estudos, o consumo alcoólico intenso piora a evolução da hepatite crônica C^{23,30,61-63}. Poynard et al.²³, estudando 1.574 pacientes divididos em 3 grupos sem consumo alcoólico, com consumo alcoólico moderado (0-49 g/dia) e intenso (50 g/dia ou mais) demonstrou que aqueles que bebiam mais de 50 g/dia tiveram 34% de taxa de progressão de fibrose em relação aos abstinentes, sugerindo um efeito

da quantidade da ingestão alcoólica. Entretanto, apesar do consumo alcoólico intenso isoladamente causar lesão hepática, somente 20% dos pacientes alcoolistas desenvolve cirrose⁶⁴, sugerindo que outros fatores possam contribuir para a doença hepática. Alguns pesquisadores, investigando portadores do VHC que consumiam moderada quantidade de álcool não encontraram risco de piora da doença⁶⁵.

1.3. Papel das aminotransferases na hepatite C crônica

Os valores das enzimas hepáticas e os achados histopatológicos na hepatite crônica C freqüentemente divergem entre si^{23,66,67}. A necessidade de biópsia hepática tem sido justificada ao longo das últimas décadas, exatamente pela falta de correlação entre níveis de enzimas e achados anatomopatológicos. Não é infreqüente o encontro de cirrose em pacientes com enzimas normais ou discretamente elevadas. Alguns estudos mostram que níveis normais a levemente aumentados de alanina aminotransferase (ALT) estão relacionados à doença mais leve, e portanto, menor grau de fibrose⁶⁸⁻⁷⁰, enquanto outros demonstraram que pacientes com ALT aumentada apresentam maior progressão para fibrose⁵⁹. No entanto, níveis elevados de ALT são encontrados em pacientes com lesões hepáticas mínimas à biópsia hepática⁷¹. A atividade inflamatória e os níveis séricos da ALT e aspartato aminotransferase (AST) costumam estar mais elevados entre os pacientes infectados pelo VHC com acentuada ingestão alcoólica^{72,73}.

1.4. Papel da GGT

Além das aminotransferases, a gama glutamiltransferase (GGT) faz parte da avaliação bioquímica da hepatite crônica e apresenta-se freqüentemente aumentada. A elevação da GGT pode estar relacionada à lesão do ducto biliar⁷⁴ e à progressão da doença hepática⁷⁵. De modo semelhante, níveis aumentados de GGT estão associados a pior resposta ao tratamento com interferon^{76,77}.

1.5. Considerações anatomopatológicas

A biópsia hepática permanece como o meio mais fidedigno utilizado para diagnóstico, avaliação do prognóstico e indicação do tratamento da hepatite crônica. O risco de desenvolvimento de cirrose depende do estágio da fibrose e grau de atividade necro-inflamatória

O padrão de lesão histológica na hepatite crônica C é caracterizado pela destruição dos hepatócitos, mediada por processo imunológico que leva à fibrose progressiva e alteração da arquitetura hepática, terminando em cirrose. O processo inflamatório é observado em três compartimentos: o parênquima hepatocelular, a zona de interface entre os hepatócitos e a espaço-porta e o próprio espaço-porta. O critério principal para a classificação das hepatites crônicas é a integridade da placa limitante, zona formada pelos hepatócitos localizados na interface entre o lóbulo e o espaço-porta. A irregularidade e perda da margem da placa limitante pela

infiltração de células inflamatórias é produzida predominantemente por linfócitos que destroem os hepatócitos periportais. A classificação histopatológica das hepatites crônicas⁷⁸, baseada nestes parâmetros, varia de alterações hepáticas mínimas, hepatite crônica discreta, moderada ou intensa e cirrose semiquantificadas de 0 a 4, tanto para mudanças arquiteturais quanto atividades inflamatórias nos três compartimentos citados acima.

A semiquantificação de diferentes parâmetros incluindo a atividade necro-inflamatória e fibrose constituem a base para diferentes classificações propostas desde 1968⁷⁹. Dentre as classificações mais usadas atualmente, a de Knodell et al.⁸⁰ elaboram o Índice de Atividade Histológica (IAH). Suas principais críticas dizem respeito à superposição de estadiamento e atividade necro-inflamatória, além da descontinuidade dos graus imputados às lesões. A classificação de METAVIR⁸¹, embora avalie separadamente o estadiamento, (fibrose em graus de 0 a 4) e a atividade inflamatória, faz uma somatória das atividades de interface e lobular, desconsiderando o grau de infiltrado inflamatório portal. As variações intra e interobservadores nesta classificação são menores do que a classificação anterior. Além destas, uma classificação histopatológica brasileira das hepatites crônicas foi elaborada com o intuito de oferecer parâmetros mais objetivos, reproduzíveis e relacionados aos aspectos clínico-terapêuticos. A etiologia da hepatite é fundamental para esta classificação. É realizada uma semiquantificação das diferentes variáveis de 0 a 4 para estadiamento da fibrose como também para avaliação de cada componente da atividade necro-inflamatória. Vale

ressaltar que na classificação brasileira é também analisado o infiltrado inflamatório portal, ausente em algumas classificações⁸¹. As alterações histopatológicas que sugerem etiologia pelo VHC são esteatose, agregados ou folículos linfóides e lesão de ducto biliar.

Resumindo, os mecanismos e fatores que estão associados à infecção pelo VHC e progressão da doença ainda não são plenamente conhecidos. O VHC não é diretamente citopático e o processo necro-inflamatório depende da resposta imune do hospedeiro. Sexo masculino, idade mais avançada, obesidade e ingestão alcoólica excessiva estão associadas com evolução mais rápida da hepatite crônica C. Estudos prospectivos principalmente em pacientes com doença mais leve são necessários para validar as hipóteses sobre a progressão da hepatite C.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo principal

Avaliar fatores prognósticos na evolução da hepatite crônica pelo VHC.

2.2. Objetivos complementares

- Avaliar dados demográficos, epidemiológicos, clínicos e laboratoriais dos pacientes com hepatite crônica pelo VHC em relação ao consumo alcoólico;
 - Relacionar estas variáveis com o estadiamento e atividades histopatológicas;
- Comparar dados demográficos, epidemiológicos, clínicos e laboratoriais com as alterações histopatológicas em três grupos de pacientes: abstinência, consumo alcoólico leve e consumo alcoólico acentuado.

3. PACIENTES E MÉTODOS

3.1. Pacientes

Foram estudados 120 pacientes encaminhados consecutivamente pelo Hemocentro de São Paulo (Hospital das Clínicas – FMUSP) e acompanhados ambulatorialmente, no período de novembro de 2001 a dezembro de 2002.

Todos os pacientes preencheram os seguintes critérios de inclusão:

- Positividade para o anticorpo do VHC, confirmado pela técnica recombinante de imunoensaio (RIBA ou LIA);
- Níveis de alanina aminotransferase (ALT) acima do limite superior do normal (LSN);
- Idade entre 18 a 65 anos para ambos os sexos;
- Termo de consentimento informado livre e esclarecido assinado, aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital das Clínicas;
- Consentimento informado e escrito assinado para realização de biópsia hepática.

Os critérios de exclusão foram:

- Anticorpo anti-núcleo positivo (títulos acima de 1/80);
- Anticorpo anti-músculo liso positivo (títulos acima de 1/80);
- Anticorpo anti-fígado e rim tipo1 positivo (títulos acima de 1/80);
- Anticorpo anti-mitocondrial positivo (títulos acima de 1/80);

- Anticorpo anti-vírus da imunodeficiência humana (Anti-HIV) positivo;
- Antígeno de superfície do vírus da Hepatite B (AgHBs) positivo; e
- Presença de carcinoma hepatocelular.

3.2. Métodos

Foram admitidos ao estudo, pacientes novos, ou seja, encaminhados do banco de sangue ou que estivessem em seguimento ambulatorial que preencheram os critérios de seleção. Foi criada uma ficha própria para o acompanhamento ambulatorial (Apêndice I).

3.2.1 - Dados demográficos, clínicos e epidemiológicos

- Sexo;
- Idade;
- Índice de Massa Corpórea (IMC)⁸² para definir a obesidade, calculada pela fórmula como o peso em quilogramas dividido pela altura em metros ao quadrado:

$$\text{IMC} = \frac{P}{A^2}$$

Onde P = Peso

A² = Altura elevada ao quadrado

Definição : IMC inferior ou igual a 24,9	Normais
IMC entre 25 e 29,9	Sobrepeso
IMC acima de 30	Obesos

- Tempo provável de contaminação com o VHC;
- Modo de transmissão da infecção (transfusão de sangue, uso de cocaína IV ou inalatória e outras drogas injetáveis, cirurgias, tatuagens, acupuntura, contatos sexuais de risco); duração estimada da infecção pelo VHC (definida como o número de anos desde a época da primeira exposição identificada como fator de risco). Para aqueles pacientes nos quais o único fator de risco foi transfusão de sangue ou derivados, a data da transfusão foi usada como início da infecção. Para aqueles que apresentaram vários fatores de risco para contaminação, foi definido que o fator principal para a infecção seria, em primeiro lugar, a transfusão sangüínea, seguido pelo uso de drogas (onde o primeiro ano do uso foi contado como o da contaminação), cirurgia, tatuagem, acupuntura.

Foram realizados, pelas técnicas rotineiras, os seguintes exames de laboratório à época da biópsia hepática: alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gama glutamil transferase (GGT), contagem de plaquetas (mm^3), ferritina, ferro, imunoglobulina G (IgG), imunoglobulina M (IgM).

3.2.2 - Quantificação de álcool

Foi realizada uma detalhada avaliação da quantidade de ingestão de álcool em gramas por dia, tempo de uso de álcool e parada total do consumo. Neste estudo, nós dividimos os pacientes em 3 grupos:

Grupo A: abstêmios, definido como ingestão alcoólica abaixo de 40 gramas por semana para homens e abaixo de 10 g por semana para mulheres (Apêndice II).

Grupo B: consumo alcoólico leve, definido como ingestão de álcool abaixo de 40 g/dia para homens e abaixo de 20 g/dia para mulheres (Apêndice III).

Grupo C: consumo alcoólico acentuado, definido como ingestão de álcool acima de 40 g/dia para homens e acima de 20 g/dia para mulheres (Apêndice IV).

A quantificação do álcool foi medida pela fórmula: volume em mililitros, multiplicado por uma constante de 0,8 e pelo grau alcoólico (teor) da bebida dividida por 100 e expressa em gramas por dia⁸³. A parada total de ingestão alcoólica foi considerada somente após 6 meses de abstinência. Na época da biópsia hepática, a parada total de ingestão alcoólica foi observada em oito (22,2%) dos pacientes do grupo de consumo alcoólico leve e em treze (30,2%) dos pacientes do grupo consumo alcoólico acentuado.

3.2.3 - Histologia hepática

A biópsia hepática de todos os pacientes foi realizada pela pós-graduanda, através de punção percutânea com agulha de Thru-cut, orientada pelo ultra-som. O procedimento foi realizado na sala do ultrassom e o paciente permaneceu em observação, no leito, nas dependências do Ambulatório Transfusional da Fundação Pró-Sangue do Hemocentro de São Paulo por período de 8 horas. O comprimento médio dos fragmentos de tecido hepático foi de $1,8 \pm 0,5$ cm. Após sua obtenção, as amostras da biópsia hepática eram fixadas em solução de formol salino a 10%. Após emblocar em parafina, todas as amostras foram submetidas às seguintes colorações, realizadas pela Divisão de Anatomia Patológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo:

- Hematoxilina-Eosina;
- Perls, para a identificação do pigmento férrico (método de Azul da Prússia);
- Reticulina, impregnação de fibras reticulínicas por sais de prata, segundo o método de Gomori;
- Tricrômio de Masson.

O número médio de espaços-porta foi 10 ± 4 . O grau de desarranjo arquitetural ou fibrose (estágio) e a atividade inflamatória (grau) histológica da hepatite viral foi avaliada de acordo com a classificação brasileira das hepatites crônicas proposta por Gayotto⁷⁸. Todas as biópsias foram pontuadas pelos patologistas cegos aos dados clínicos dos pacientes em conjunto com a pós-graduanda e sua orientadora (Apêndice V). As variáveis

histopatológicas foram analisadas, separadamente, em uma escala de 4 pontos, como explanada a seguir.

➤ **Alterações estruturais**

Grau 0 - arquitetura lobular normal;

Grau 1 - expansão fibrosa de espaços-porta;

Grau 2 - expansão fibrosa portal com septos porta-porta;

Grau 3 - preservação apenas parcial da arquitetura lobular, com septos porta-porta e porta-centro, podendo ser vistos esboços de nódulos;

Grau 4 - cirrose, plenamente identificada à biópsia ou predomínio de áreas nodulares em relação a lóbulos remanescentes.

➤ **Infiltrado inflamatório portal/septal**

Semiquantificação de 0 a 4, independentemente da formação de folículos linfóides.

Grau 0 - raros linfócitos portais;

Grau 1 - aumento discreto do número de linfócitos portais;

Grau 2 - aumento moderado do número de linfócitos portais;

Grau 3 - aumento acentuado do número de linfócitos portais;

Grau 4 - aumento muito acentuado do número de linfócitos portais.

➤ **Atividade periportal/periseptal**

Grau 0 - ausência de lesões da interface espaço-porta/parênquima;

Grau 1 - extravasamento de linfócitos para a interface (spill over), não caracterizando a presença de necrose em saca-bocados;

Grau 2 - necrose em saca-bocados discreta (pequenas áreas em poucos espaços-porta);

Grau 3 - necrose em saca-bocados moderada (extensas áreas em poucos espaços-porta ou pequenos focos em muitos espaços-porta);

Grau 4 - necrose em saca-bocados em extensas áreas de muitos espaços-porta.

➤ **Atividade parenquimatosa**

Grau 0 - hepatócitos normais, isomorfos;

Grau 1 - alterações discretas de hepatócitos, incluindo tumefação ou retração acidofílica, eventualmente acompanhada de infiltrado linfocitário, e raros focos de necrose;

Grau 2 - necrose focal de hepatócitos circundados por agregados linfocitários em numerosos sítios;

Grau 3 - necrose focal de hepatócitos circundados por agregados linfocitários em muitos sítios, associada a áreas limitadas de necrose confluyente;

Grau 4 - necrose focal de hepatócitos circundados por agregados linfocitários em numerosos sítios, associada à necrose confluyente extensa/múltipla.

3.2.4 - Quantificação do RNA-VHC no soro

Foi utilizado o kit Amplicor HCV Monitor® versão 2.0 da Roche. Este método baseia-se em 5 processos: extração do RNA, transcrição reversa, amplificação por PCR “polymerase chain reaction” hibridização do produto de PCR a sondas aderidas à microplaca, detecção do sinal colorimétrico.

A extração é feita a partir de 200 µL de soro ou plasma usando-se um reagente caotrópico, a base de guanidina. O RNA isolado é então submetido a transcrição reversa e depois a amplificação por PCR, usando-se uma enzima com dupla função a *Thermus termophilus* DNA polimerase (rTth pol) e termociclador (Modelo PE 2400 Applied Biosystems, São Paulo). A quantificação do RNA-VHC é feita através da comparação do sinal gerado por um RNA padrão com número de cópias conhecido e fornecido pelo fabricante em cada lote de kit, com o sinal derivado do RNA isolado do soro ou plasma. Este padrão é uma molécula de RNA artificial que contém as mesmas sequências de ligação dos *primers* para HCV mas possui uma seqüência interna a estes *primers* completamente diferente. A sonda de hibridização aderida a placa é homóloga à região interna, tanto do produto de PCR esperado a partir de HCV (244 pares de bases da região 5' não-codificante) quanto da sonda, embora, estas sondas estejam dispostas na microplaca em fileiras diferentes. O produto de PCR é marcado com biotina, o que permite a revelação da placa com método enzimático padrão (avidina/peroxidase).

O valor final obtido é então corrigido para obter-se um valor final de concentração em Unidades Internacionais por mililitro de plasma ou soro. O

método apresenta linearidade para valores entre 600UI/mL e 850.000 UI/mL. Quando valores superiores a estes foram obtidos, foi necessária a realização de nova reação com a amostra diluída em soro normal RNA-VHC negativo.

3.2.5 - Quantificação do RNA-VHC hepático

- Extração de RNA. As biópsias foram mantidas congeladas à -70°C em Trizol. Após o descongelamento fez-se a extração do RNA de acordo com as instruções do fabricante, que consiste na ruptura do tecido no próprio reagente Trizol e posterior precipitação seletiva do RNA pelo uso de isopropanol. O RNA isolado foi solubilizado em 200 μL de água com dietilpirocarbonato (RNase free).
- Dosagem de RNA total. O RNA foi diluído 10 x com a mesma água dietilpirocarbonato e submetido à quantificação por espectrofotometria com luz UV a 260nm (Espectrofotômetro GeneQuant Amersham Biosciences, São Paulo).
- Aos extratos acrescentou-se o padrão do kit acima descrito e prosseguiu-se com a reação exatamente como descrito acima.
- Os valores obtidos foram normalizados pela quantidade de RNA total isolado da biópsia. Os valores finais são apresentados em UI/ μg de RNA.

3.2.6 - Genotipagem do VHC

Reação em cadeia da polimerase e genotipagem HCV.

As amostras que apresentaram sorologia positiva para os anticorpos da hepatite C (anti-HCV) foram submetidas à PCR da região não codificante do HCV (5'NCR).

O RNA viral foi extraído a partir de 100 uL de plasma, adicionando-se 300 uL de TriZol® (GIBCO-BRL, EUA). Após agitação vigorosa e incubação por 5 minutos à temperatura ambiente, foram adicionados 80 uL de clorofórmio (Merck, Brasil). A fase aquosa foi separada da orgânica através de uma centrifugação a 14.000 rpm por 15 minutos a 4°C. O RNA da fase aquosa foi então precipitado utilizando-se 200 uL de isopropanol (Sigma Chemical Company, EUA) e 40 ug de Dextran T500 (Pharmacia Biotec, EUA), utilizado como carreador de ácido nucleico, incubado por 10 minutos à temperatura ambiente. O precipitado, obtido por centrifugação a 14.000 rpm por 10 minutos, foi lavado com 400 uL de etanol a 70% (Merck, Brasil) e seco.

O precipitado de RNA foi dissolvido em uma solução contendo 300 ng de oligonucleotídeos de seqüência randômica (random-primer, Pharmacia Biotech, Suécia) e 12uL de água purificada (Milli-Q/Millipore) tratada com dietilpirocarbonato (DEPC). Após desnaturação do material genético a 70°C por 10 minutos, foi realizada a síntese do DNA complementar (cDNA) pela ação da enzima transcriptase reversa (Super Script™ II GIBCO) em solução contendo Tris-HCl-50mM (pH 8,3), KCl 75 mM, MgCl₂ 3mM, 5U de

inibidor de Ribonuclease (GIBCO), 0,5mM de desoxirribonucleosídeos trifosfato (dNTPs), 0,01M ditioneitol (DTT) (GIBCO) para um volume final de 20 uL e incubado a 42°C por 1:30h. A transcriptase reversa foi desnaturada aquecendo-se a amostra a 70°C por 10 min e o cDNA foi submetido a PCR.

Para a detecção do HCV nas amostras estudadas a região 5'-NCR do genoma foi amplificada, utilizando os iniciadores NCR 1 e NCR 2 na primeira amplificação, seguida de uma segunda reação “nested” com os iniciadores NCR 3 e NCR 4 (Quadro 1 no Apêndice VI).

Para um volume final de 50 uL de cada reação de PCR, foram utilizados 5 uL do cDNA e 3uL do produto da primeira amplificação em solução contendo Tris-HCl 20 mM (pH 8,4), KCl 50 mM, 25pmoles de cada um dos iniciadores NCR 1+2 para o mix de reação da primeira amplificação e NCR 3+4 para o da segunda amplificação, 1 U da enzima TaqDNAPolimerase (GIBCO), 0,15 mM e 0,20 mM de desoxirribonucleosídeos trifosfato (dNTPs) e 1,5 mM e 2,0 mM de MgCl₂ respectivamente para o mix da primeira e segunda amplificação. A amplificação do material genético foi realizada em um termociclador automático modelo GeneAmp de PCR System 9600 (Perkin-Elmer). Foi utilizado um ciclo inicial de 94 °C por 1min, seguido de 40 ciclos de 94 °C por 30 seg, 55° C por 30 seg e 72 °C por 30 seg, e um ciclo de extensão final de 72 °C por 5 min para as duas amplificações.

Os produtos de amplificação foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 1,5 % e visualizados sob luz ultravioleta após coloração com brometo de etídio.

Aos 5 uL dos produtos de amplificação foram adicionados 2uL do tampão de corrida (azul de bromofenol; Sigma) que foram aplicados em gel de agarose a 1,5% (Agarose Ultrapura/GIBCO BRL), previamente, corado com brometo de etídio. Foi realizada uma corrida eletroforética a 80 V em tampão TBE 0.5 X (ácido bórico 5,5%, Tris-Cl 10,8% e EDTA 0,9%) em pH 8,0.

Os produtos da amplificação de 240 pb (5'NCR) foram purificadas com o "kit" de purificação para produtos de PCR QIAquick (QIAGEN, Alemanha), conforme protocolo do fabricante.

A reação de sequenciamento foi realizada utilizando-se 4uL do mix do "kit" ABI PRISM Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction (PE Applied Biosystems), adicionando-se 2 pmoles de um dos iniciadores (NCR3 ou NCR4), de 1,0 uL a 2,0 uL do produto amplificado purificado (15-45ng de DNA quantificado a partir da comparação com o padrão de peso molecular Low DNA mass Ladder -da GIBCO- BRL), conforme o protocolo do fabricante, em um volume total de 10 uL de reação e amplificada em termociclador automático utilizando-se 25 ciclos de 96 °C por 10 seg, 50° C por 5 seg e 60°C por 4 min.

A região 5'NCR de seqüências padrões obtidas do GenBank (M62321, M67463, AF009606, D10749, AF011751, D90208, D10934, AF165057, X61596, AJ132996, U01213, D14853, D00944, AF177036, D45877, D01221, D10077, D10988, AF041329, D10075, D50409, AB031663, AF046866, D28917, X76918, D14307, D17763, D28917, D49374, D11443, D49374, D16612) foram alinhadas com as amostras em

estudo no programa BIOEDIT e analisadas nas posições de nucleotídeos característicos para cada um dos subtipos do HCV (Figuras 1 e 2 nos Apêndices VII e VIII). As seqüências das amostras foram editadas utilizando-se o programa SEQUENCHER e verificados os genótipos das amostras de acordo com os nucleotídeos encontrados nas posições específicas para cada subtipo .

3.2.7 - ANÁLISE ESTATÍSTICA

Na análise univariada foi utilizado o teste Qui-Quadrado de Pearson para avaliar se existia associação entre os fatores clínicos e as variáveis dependentes: alterações estruturais (fibrose), atividade inflamatória periportal (app), infiltrado inflamatório portal e atividade inflamatória lobular. O teste de Qui-Quadrado de Pearson foi utilizado nos casos em que todas as freqüências esperadas eram maiores ou iguais a 5, caso contrário utilizou-se o Teste Exato de Fisher.

Na análise univariada, para cada variável foi realizado um teste de significância que indicou se a variável em questão estava ou não associada à variável resposta. É importante lembrar que esta análise permitiu avaliar a influência isolada de cada variável desconsiderando o efeito das demais.

Na análise multivariada utilizou-se a abordagem de Regressão Logística. As variáveis explicativas selecionadas para compor o modelo logístico foram aquelas que apresentaram p-valor inferior a 10%, ou seja,

aquelas que se mostraram significantes ou com tendência à significância estatística na análise univariada.

Em toda análise estatística foi adotado um nível de significância de 5% ($p=0,05$).

4. RESULTADOS



Este estudo incluiu cento e vinte pacientes, oitenta e três (69,2%) homens e trinta e sete (30,8%) mulheres com hepatite C crônica. A idade média foi de $38,9 \pm 10,8$ anos.

4.1. Influência da ingestão alcoólica nos dados demográficos, clínico-epidemiológicos, bioquímicos e histopatológicos

Os dados epidemiológicos, dos cento e vinte pacientes à época da biópsia hepática são mostrados na Tabela 1. Os pacientes foram divididos de acordo com a ingestão alcoólica nos seguintes grupos: Grupo A, abstêmios: n=41; grupo B, consumo alcoólico leve: n=36 e grupo C, consumo alcoólico acentuado: n=43. Em relação ao sexo, os homens foram mais freqüentes nos grupos de consumo alcoólico leve e acentuado (69,4% e 95,3% respectivamente), enquanto as mulheres no grupo abstêmio (58,5%) e a diferença foi estatisticamente significativa ($p < 0,001$). O uso de drogas injetáveis foi predominante ($p < 0,001$) no grupo de ingestão alcoólica acentuada, enquanto para a transfusão houve apenas uma tendência à significância estatística ($p=0,056$) no grupo abstêmio. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos e outros modos de contaminação.

Tabela 1 - Análise comparativa dos dados demográficos e epidemiológicos dos pacientes na época da biópsia hepática

	Abstêmio		Consumo alcoólico leve		Consumo alcoólico acentuado		TOTAL		p-valor ⁺
Sexo									< 0,001
Feminino	24	58,50%	11	30,60%	2	4,70%	37	30,80%	
Masculino	17	41,50%	25	69,40%	41	95,30%	83	69,20%	
Transfusão									0,056
Não	24	58,50%	30	83,30%	31	72,10%	85	70,80%	
Sim	17	41,40%	6	16,70%	12	27,90%	35	29,20%	
Droga									< 0,001
Não	39	97,50%	30	83,30%	26	60,50%	95	79,80%	
Sim	1	2,50%	6	16,70%	17	39,50%	24	20,20%	
Cirurgia									0,192
Não	17	41,50%	19	52,80%	14	32,60%	50	41,70%	
Sim	24	58,50%	17	47,20%	29	67,40%	70	58,30%	
Outros									0,763
Não	33	80,50%	30	83,30%	33	76,70%	96	80,00%	
Sim	8	19,50%	6	16,70%	10	23,30%	24	20,00%	

+ Qui-Quadrado de Pearson

Conforme pode ser observado na Tabela 2a, os três grupos de consumo alcoólico não mostraram diferenças em termos de idade, IMC, tempo provável de contaminação, tempo de ingestão alcoólica e tempo de abstinência. Somente a quantidade de ingestão alcoólica (etanol g/d) apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos de consumo alcoólico leve e acentuado ($p < 0,001$).

Tabela 2a - Estatísticas descritivas das variáveis quantitativas, segundo os grupos de consumo alcoólico

	n	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo	p-valor
Idade (anos)							0,248⁺
Abstêmio	41	40,8	11,8	40	19	60	Resultados 36
Consumo alcoólico leve	36	36,7	10,4	37	18	60	
Consumo alcoólico acentuado	43	38,8	9,9	37	22	60	
IMC (kg/m²)							0,672⁺
Abstêmio	41	25,3	3,7	24,9	17,9	37,1	
Consumo alcoólico leve	36	25,8	3,9	25,1	18,4	33,6	
Consumo alcoólico acentuado	43	26,1	4,1	25,6	17,9	40	
Tempo provável de contaminação (anos)							0,108⁺
Abstêmio	32	19,8	7,9	20	2	41	
Consumo alcoólico leve	23	15,9	7,4	17	2	29	
Consumo alcoólico acentuado	38	16,5	7,7	15,5	1	39	
Etanol (g/d)							<0,001⁺⁺⁺
Abstêmio	-	-	-	-	-	-	
Consumo alcoólico leve	36	18,1	11,1	10	10	36	
Consumo alcoólico acentuado	43	149,9	119,2	102,7	22	475	
Tempo de ingestão alcoólica (anos)							0,137⁺⁺⁺
Abstêmio	-	-	-	-	-	-	
Consumo alcoólico leve	36	12,9	9,7	10	1	40	
Consumo alcoólico acentuado	43	15,2	8,4	15	3	35	
Tempo de abstinência (dias)							0,911⁺⁺⁺
Abstêmio	-	-	-	-	-	-	
Consumo alcoólico leve	36	375,8	918,6	0	0	3650	
Consumo alcoólico acentuado	43	413,3	853,1	60	0	4380	

+ Análise de Variância com um fator (ANOVA)

+++ Teste de Mann-Whitney

	n	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo	p-valor
ALT (x LSN)							0,751⁺⁺
Abstêmio	41	2,1	1,5	1,9	0,7	9,4	
Consumo alcoólico leve	36	2,3	1,4	1,9	0,4	7,6	
Consumo alcoólico acentuado	43	2,4	1,4	2,1	0,9	6,7	
AST (x LSN)							0,365⁺⁺
Abstêmio	41	1,8	1,0	1,4	0,7	4,4	
Consumo alcoólico leve	36	1,7	0,8	1,5	0,7	4,1	
Consumo alcoólico acentuado	43	2,2	1,4	1,7	0,6	7,3	
Plaquetas (mm³)							0,333⁺⁺
Abstêmio	41	204.541,5	57.281,1	196.000,0	91.200,0	371.000,0	
Consumo alcoólico leve	36	197.583,3	56.052,2	191.500,0	111.000,0	365.000,0	
Consumo alcoólico acentuado	43	190.813,9	71.173,6	177.000,0	92.000,0	514.000,0	
GGT (x LSN)							0,194⁺⁺
Abstêmio	41	1,3	1,0	1,3	0,2	4,1	
Consumo alcoólico leve	36	1,5	0,9	1,2	0,3	3,8	
Consumo alcoólico acentuado	43	1,7	0,1	1,3	0,3	5,7	
Ferro (mg/L)							0,974⁺
Abstêmio	40	130,0	41,3	125,0	56,0	222,0	
Consumo alcoólico leve	35	130,5	44,3	125,0	60,0	274,0	
Consumo alcoólico acentuado	43	128,5	37,8	131,0	47,0	206,0	
Ferritina (mg/L)							0,070⁺⁺
Abstêmio	37	127,8	198,1	74,0	4,0	947,0	
Consumo alcoólico leve	30	139,5	130,8	96,5	5,0	552,0	
Consumo alcoólico acentuado	34	203,3	259,6	109,0	20,0	1.340,0	
IgG (mg/dL)							0,973⁺⁺
Abstêmio	39	1.606,5	436,9	1.565,0	930,0	3.508,0	
Consumo alcoólico leve	35	1.600,8	437,7	1.580,0	969,0	2.989,0	
Consumo alcoólico acentuado	42	1.602,4	360,2	1.558,5	1.092,0	2.457,0	
IgM (mg/dL)							0,364⁺⁺
Abstêmio	39	169,3	119,7	143,0	20,0	569,0	
Consumo alcoólico leve	35	139,3	65,4	133,0	29,0	275,0	
Consumo alcoólico acentuado	42	129,4	64,4	120,0	37,0	285,0	

+ Análise de Variância com um fator (ANOVA)

++ Kruskal Wallis

Analisando os resultados dos dados laboratoriais entre os três grupos de consumo alcoólico como mostrado na Tabela 2b, a ferritina mostrou-se mais elevada em relação ao maior consumo alcoólico, porém esse resultado foi apenas marginalmente significativo ($p=0,070$). Os três grupos não foram diferentes em termos de variáveis como ALT, AST, contagem de plaquetas, GGT, ferro, IgG e IgM.

Tabela 2b - Estatísticas descritivas das variáveis quantitativas, segundo os grupos de consumo alcoólico

De acordo com a tabela 3a, observou-se que não houve associação estatisticamente significativa entre os parâmetros histopatológicos avaliados

e os graus de ingestão alcoólica ($p > 0,50$). No entanto, o parâmetro atividade inflamatória periportal mostrou-se marginalmente significativa ($p = 0,068$).

Tabela 3a - Resultados histopatológicos nos três grupos de consumo alcoólico

	Grupos							TOTAL	Resultados	nº valor+ 40
	Abstêmio	Consumo alcoólico leve		Consumo alcoólico acentuado						
Alterações estruturais										0,701
0	3	7,30%	3	8,30%	4	9,30%	10	8,30%		
1	21	51,30%	17	47,30%	18	41,90%	56	46,70%		
2	6	14,60%	7	19,40%	8	18,60%	21	17,50%		
3	8	19,50%	7	19,40%	5	11,60%	20	16,70%		
4	3	7,30%	2	5,60%	8	18,60%	13	10,80%		
Atividade inflamatória periportal										0,068
0	2	4,90%	5	13,90%	3	7,30%	10	8,50%		
1	10	24,40%	3	8,30%	4	9,80%	17	14,40%		
2	14	34,10%	18	50,00%	11	26,80%	43	36,40%		
3	14	34,10%	8	22,20%	18	43,90%	40	33,90%		
4	1	2,50%	2	5,60%	5	12,20%	8	6,80%		
Infiltrado inflamatório portal										0,939
0	1	2,50%	-	-	-	-	1	0,90%		
1	6	15,00%	4	11,10%	5	12,50%	15	12,90%		
2	20	50,00%	17	47,20%	19	47,50%	56	48,30%		
3	12	30,00%	14	38,90%	15	37,50%	41	35,30%		
4	1	2,50%	1	2,80%	1	2,50%	3	2,60%		
Atividade inflamatória lobular										0,814
0	1	2,50%	1	2,80%	-	-	2	1,70%		
1	12	30,80%	8	22,20%	8	20,00%	28	24,40%		
2	18	46,20%	20	55,50%	20	50,00%	58	50,40%		
3	6	15,40%	6	16,70%	10	25,00%	22	19,10%		
4	2	5,10%	1	2,80%	2	5,00%	5	4,40%		

+ Teste da Razão de Verossimilhanças

No intuito de avaliar diferenças entre os três grupos de consumo alcoólico em relação a cada um dos parâmetros histopatológicos, foi dividida cada variável histológica em duas categorias: leve (graus 0,1 e 2) e intensa (graus 3 e 4). Como demonstrada na Tabela 3b, pode-se observar que a atividade inflamatória periportal leve foi predominante nos grupos abstinência e de consumo alcoólico leve, enquanto a atividade inflamatória periportal intensa foi maior no grupo de ingestão alcoólica acentuada e a diferença foi estatisticamente significativa ($p=0,033$).

Tabela 3b - Resultados histopatológicos nos três grupos de consumo alcoólico

	GRUPOS								p-valor ⁺ Resultados 43
	Abstêmio		Consumo alcoólico leve		Consumo alcoólico acentuado		TOTAL		
Fibrose									0,868
0 / 1 / 2	30	73,20%	27	75,00%	30	69,80%	87	72,50%	
3 / 4	11	26,80%	9	25,00%	13	30,20%	33	27,50%	
Atividade periportal									0,033
0 / 1 / 2	26	63,40%	26	72,20%	18	43,90%	70	59,30%	
3 / 4	15	36,60%	10	27,80%	23	56,10%	48	40,70%	
Infiltrado inflamatório portal									0,675
0 / 1 / 2	27	67,50%	21	58,30%	24	60,00%	72	62,10%	
3 / 4	13	32,50%	15	41,70%	16	40,00%	44	37,90%	
Atividade lobular									0,481
0 / 1 / 2	31	79,50%	29	80,60%	28	70,00%	88	76,50%	
3 / 4	8	20,50%	7	19,40%	12	30,00%	27	23,50%	
Abstinência									0,272
< 6 meses	-	-	29	80,60%	30	69,80%	59	74,70%	
> 6 meses	-	-	7	19,40%	13	30,20%	20	25,30%	

+ Qui-Quadrado de Pearson

4.2. Análise comparativa entre fibrose e os dados demográficos, clínico-epidemiológicos e bioquímicos

Foi avaliada cada variável histopatológica em graus leve e intenso comparando com os dados demográficos, clínico-epidemiológicos e bioquímicos. Em relação à fibrose, não foi observada diferença significativa entre os sexos ($p=0,938$), bem como entre os fatores de risco para contaminação como transfusão ($p=0,779$), droga injetável ($p=0,493$), cirurgia ($p=0,120$), conforme Tabela 4.

Tabela 4 - Análise dos dados demográficos e epidemiológicos de acordo com os diferentes graus de fibrose

	Fibrose				TOTAL	p – valor+	
	0 / 1 / 2		3 / 4				
Sexo							0,938
Feminino	27	31,00%	10	30,30%	37	30,80%	Resultados 45
Masculino	60	69,00%	23	69,70%	83	69,20%	
Transfusão							0,779
Não	61	70,10%	24	72,70%	85	70,80%	
Sim	26	29,90%	9	27,30%	35	29,20%	
Droga							0,493
Não	70	81,40%	25	75,80%	95	79,80%	
Sim	16	18,60%	8	24,20%	24	20,20%	
Cirurgia							0,120
Não	40	46,00%	10	30,30%	50	41,70%	
Sim	47	47,00%	23	69,70%	70	58,30%	
Outros tipos de contaminação							0,413
Não	68	78,20%	28	84,80%	96	80,00%	
Sim	19	21,80%	5	15,20%	24	20,00%	
Tempo de abstinência							0,804
< 6 meses	43	75,40%	16	72,70%	59	74,70%	
> 6 meses	14	24,60%	6	27,30%	20	25,30%	

+ Qui-Quadrado de Pearson

Foi demonstrado que houve associação entre idade mais avançada e fibrose intensa e isto foi estatisticamente significante ($p=0,004$). Os pacientes com fibrose intensa têm, em média, $6,3 \pm 2,1$ anos a mais comparados àqueles com fibrose leve. A Tabela 5a mostra os resultados dos dados demográficos e clínico-epidemiológicos comparados com os

graus de fibrose leve e intenso. De modo semelhante à idade, houve associação entre o grau intenso de fibrose e maior IMC ($p=0,013$).

Tabela 5a - Dados demográficos e clínico-epidemiológicos analisados de acordo com os diferentes graus de fibrose

Grupo	n	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo	p-valor
Idade (anos)							0,004⁺
0 / 1 / 2	87	37,2	11,3	37	18	61	
3 / 4	33	43,4	7,9	45	30	61	
IMC (kg/m²)							0,013⁺
0 / 1 / 2	87	25,2	3,9	24,8	17,9	40,0	
3 / 4	33	27,2	3,7	26,0	21,7	36,3	
Tempo provável de contaminação (anos)							0,790⁺
0 / 1 / 2	66	17,3	7,9	19	1	41	
3 / 4	27	17,8	7,9	18	2	39	
Etanol (g/d)							0,094⁺⁺
0 / 1 / 2	57	73,2	83,8	40,3	10	400	
3 / 4	22	132,9	152,9	53,4	10	475	
Tempo de ingestão alcoólica (anos)							0,207⁺⁺
0 / 1 / 2	57	13,3	8,6	11	1	40	
3 / 4	22	16,6	9,8	15,5	3	35	
Tempo de abstinência (dias)							0,241⁺⁺
0 / 1 / 2	57	382,2	835,1	0	0	3.650	
3 / 4	22	432,4	1.000,7	60	0	4.380	

+ Teste t de Student

++ Mann Whitney

Dentre os parâmetros bioquímicos (Tabela 5b), houve diferença estatisticamente significativa entre maior fibrose e níveis aumentados de ALT ($p < 0,001$), AST ($p < 0,001$), GGT ($p = 0,012$) e IgG ($p = 0,040$). Comportamento oposto foi observado para as plaquetas, ou seja, níveis mais baixos foram predominantes com o grau mais intenso de fibrose ($p < 0,001$). Com relação aos níveis de IgM, também foi notada uma tendência à significância estatística, ou seja, os pacientes com fibrose intensa apresentaram valores medianos maiores do que os apresentados pelos pacientes com fibrose leve ($p < 0,10$).

Tabela 5b - Dados bioquímicos analisados de acordo com os diferentes graus de fibrose

Grupo	n	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo	p-valor
ALT (x LSN)							<0,001⁺⁺
0 / 1 / 2	87	2,1	1,5	1,7	0,4	9,4	
3 / 4	33	2,7	1,1	2,4	0,8	4,9	
AST (x LSN)							<0,001⁺⁺
0 / 1 / 2	87	1,6	0,8	1,3	0,6	4,9	
3 / 4	33	2,8	1,3	2,5	0,9	7,3	
Plaquetas (mm³)							<0,001⁺
0 / 1 / 2	87	209.850,6	49.965,5	197.000	111.000	371.000	
3 / 4	33	165.066,7	78.109,7	144.000	91.200	514.000	
GGT (x LSN)							0,012⁺⁺
0 / 1 / 2	87	1,3	0,9	1,2	0,2	5,7	
3 / 4	33	1,9	1,2	1,6	0,5	5,1	
Ferro (mg/L)							0,909⁺
0 / 1 / 2	85	129,3	38,4	129	47	274	
3 / 4	33	130,3	46,6	125	56	217	
Ferritina (mg/L)							0,895⁺⁺
0 / 1 / 2	72	140,8	167,2	87	5	947	
3 / 4	29	195,9	280,2	90	4	1.340	
IgG (mg/dL)							0,040⁺⁺
0 / 1 / 2	84	1.539,4	307,5	1.552,0	955	2.447,0	
3 / 4	32	1.771,0	567,9	1.714,5	930	3.508,0	
IgM (mg/dL)							0,052⁺⁺
0 / 1 / 2	84	134,2	70,2	128,5	20	363	
3 / 4	32	176,3	119,7	153,0	21	569	

+ Teste t de Student

++ Mann Whitney

4.3. Análise comparativa entre atividade inflamatória periportal e os dados demográficos, clínico-epidemiológicos e bioquímicos

Pacientes com atividade inflamatória periportal intensa tiveram como fator de risco a cirurgia em média 18% a mais do que pacientes com atividade inflamatória periportal leve ($p=0,043$) como mostrado na Tabela 6. Já para as outras variáveis como sexo, transfusão, uso de drogas e tempo de abstinência não foi verificada associação estatisticamente significativa.

Tabela 6 - Análise dos dados demográficos e epidemiológicos de acordo com os

	Atividade inflamatória periportal				TOTAL	p – valor ⁺
	0 / 1 / 2		3 / 4			
Sexo						0,234
Feminino	19	27,10%	18	37,50%	37	31,30%
Masculino	51	72,90%	30	62,50%	81	68,60%
Transfusão						0,470
Não	51	72,90%	32	66,70%	83	70,30%
Sim	19	27,10%	16	33,30%	35	29,70%
Droga						0,837
Não	55	79,70%	39	81,30%	94	80,30%
Sim	14	20,30%	9	18,80%	23	19,70%
Cirurgia						0,043
Não	35	50,00%	15	31,30%	50	42,40%
Sim	35	50,00%	33	68,70%	68	57,60%
Outros tipos de contaminação						0,565
Não	57	81,40%	37	77,10%	94	79,70%
Sim	13	18,60%	11	22,90%	24	20,30%
Tempo de abstinência						0,822
< 6 meses	33	75,00%	24	72,70%	57	74,36%
> 6 meses	11	25,00%	9	27,30%	20	26,00%

+ Qui-Quadrado de Pearson

diferentes graus de atividade inflamatória periportal

De acordo com a Tabela 7a, pacientes com atividade inflamatória periportal intensa tiveram em média $8,5 \pm 2,0$ anos a mais do que os pacientes com atividade inflamatória periportal leve ($p=0,001$). Houve diferenças estatisticamente significantes em relação a quantidade de etanol ($p=0,046$) e tempo de ingestão alcoólica ($p=0,001$).

Tabela 7a - Dados demográficos e clínico-epidemiológicos analisados de acordo com os diferentes graus de atividade inflamatória periportal

Grupo	n	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo	p-valor
Idade (anos)							0,001⁺
0 / 1 / 2	70	35,4	10,6	35	18	61	
3 / 4	48	43,9	9,1	46	24	61	
IMC (Kg/m²)							0,299⁺
0 / 1 / 2	70	25,4	4,3	24,9	17,9	40,0	
3 / 4	48	26,2	3,4	25,8	20,6	36,3	
Tempo provável de contaminação (anos)							0,100⁺
0 / 1 / 2	52	16,4	7,9	17	1	41	
3 / 4	39	19,1	7,6	20	3	39	
Etanol (g/d)							0,046⁺⁺
0 / 1 / 2	44	64,3	75,9	35,6	10	331	
3 / 4	33	119,4	138,4	72,0	10	475	
Tempo de ingestão alcoólica (anos)							0,001⁺
0 / 1 / 2	44	11,1	7,6	10	1	35	
3 / 4	33	18,2	9,5	19	3	40	
Tempo de abstinência (dias)							0,344⁺⁺
0 / 1 / 2	44	416,9	913,3	0	0	3650	
3 / 4	33	392,7	864,7	60	0	4380	

+ Teste t de Student

++ Mann Whitney

Grupo	n	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo	p-valor
							Resultados 54
ALT (x LSN)							0,031⁺
0 / 1 / 2	70	2,1	1,5	1,8	0,4	9,6	
3 / 4	48	2,4	1,1	2,2	0,8	4,8	
AST (x LSN)							<0,001⁺⁺
0 / 1 / 2	70	1,6	0,9	1,2	0,6	4,4	
3 / 4	48	2,4	1,2	2,3	0,9	7,3	
Plaquetas (mm³)							0,049⁺
0 / 1 / 2	70	206.800,0	51.607,0	193.000	111.000	371.000	
3 / 4	48	184.108,3	72.607,5	172.500	91.200	514.000	
GGT (x LSN)							0,013⁺⁺
0 / 1 / 2	70	1,3	0,8	1,2	0,2	3,8	
3 / 4	48	1,7	1,1	1,4	0,3	5,1	
Ferro (mg/L)							0,761⁺
0 / 1 / 2	68	130,4	40,5	127,5	56	274	
3 / 4	48	128,6	41,9	124,5	47	206	
Ferritina (mg/L)							0,942⁺⁺
0 / 1 / 2	55	146,6	179,3	91,0	5	947	
3 / 4	45	158,9	228,7	86,0	4	1340	
IgG (mg/dL)							0,078⁺⁺
0 / 1 / 2	67	1.533,5	314,8	1.551,0	955	2.447	
3 / 4	48	1.706,9	497,2	1.588,0	930	3.508	
IgM (mg/dL)							0,456⁺⁺
0 / 1 / 2	67	138,9	77,2	134,0	20	569	
3 / 4	48	156,4	102,2	142,5	21	546	

+ Teste t de Student

++ Mann Whitney

Em relação aos dados bioquímicos mostrados na Tabela 7b, foram observadas medianas de ALT, AST e GGT superiores para atividade inflamatória periportal intensa ($p < 0,05$). Pacientes com níveis de plaquetas mais baixos apresentaram atividade inflamatória periportal intensa comparativamente àqueles com níveis de plaquetas mais altos ($p = 0,049$). Já para as outras variáveis não foram observadas diferenças significantes ($p > 0,05$) entre os dois graus de atividade inflamatória periportal.

Tabela 7b - Dados bioquímicos analisados de acordo com os diferentes graus de atividade inflamatória periportal

4.4. Análise comparativa entre atividade inflamatória lobular e os dados demográficos, clínico-epidemiológicos e bioquímicos

Observando-se a Tabela 8, verificou-se que os pacientes avaliados foram homogêneos para os diferentes graus de atividade inflamatória lobular em relação ao sexo, modos de contaminação e tempo de abstinência ($p>0,05$).

Tabela 8 - Análise dos dados demográficos e epidemiológicos de acordo com os diferentes graus de atividade inflamatória lobular

	Atividade inflamatória lobular				TOTAL	p-valor+
	0 / 1 / 2		3 / 4			
Sexo						0,795
Feminino	27	30,70%	9	33,30%	36	31,30%
Masculino	61	69,30%	18	66,70%	79	68,70%
Transfusão						0,339
Não	60	68,20%	21	77,80%	81	70,40%
Sim	28	31,80%	6	22,20%	34	29,60%
Droga						0,659
Não	71	81,60%	21	77,80%	92	80,70%
Sim	16	18,40%	6	22,20%	22	19,30%
Cirurgia						0,440
Não	40	45,50%	10	37,00%	50	43,57%
Sim	48	54,50%	17	63,00%	65	56,50%
Outros tipos de contaminação						0,379
Não	72	81,80%	20	74,10%	92	80,00%
Sim	16	18,20%	7	25,90%	23	20,00%
Tempo de abstinência						0,547
< 6 meses	43	75,40%	13	68,40%	56	73,70%
> 6 meses	14	24,60%	6	31,60%	20	26,30%

+ Qui-Quadrado de Pearson

	n	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo	p-valor
							Resultados: 56
Idade (anos)							0,252⁺
0/1/2	88	38,1	11,2	38,0	18,0	61,0	
3/4	27	40,8	9,0	39,0	23,0	54,0	
IMC (kg/m²)							0,039⁺
0/1/2	88	25,3	3,9	24,9	17,9	40,0	
3/4	27	27,1	3,9	26,0	17,9	36,3	
Tempo provável de contaminação (anos)							0,219⁺
0/1/2	66	18,2	7,9	20,0	1,0	41,0	
3/4	22	15,8	7,8	15,0	3,0	39,0	
Eanol (g/d)							0,153⁺⁺
0/1/2	57	71,4	85,2	39,5	10,0	418,0	
3/4	19	127,4	154,8	60,4	10,0	475,0	
Tempo de ingestão alcoólica							0,696⁺⁺
0/1/2	57	13,9	9,1	12,0	1,0	40,0	
3/4	19	15,2	9,6	15,0	3,0	32,0	
Tempo de abstinência (dias)							0,076⁺⁺
0/1/2	57	366,3	830,10	0,0	0,0	3.650,0	
3/4	19	548,5	1.069,2	75,0	0,0	4.380,0	

+ Teste t de Student

++ Mann Whitney

Analisando os graus leve e intenso de atividade inflamatória lobular (Tabela 9a), foram encontrados graus mais intensos associados à maior média de IMC ($p=0,039$). O tempo de abstinência também foi maior na atividade inflamatória lobular intensa, porém o resultado foi marginalmente significativo.

Tabela 9a - Dados demográficos e clínico-epidemiológicos analisados de acordo com os diferentes graus de atividade inflamatória lobular

	n	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo	p-valor
ALT (x LSN)							Resultado: 0,913⁺
0/1/2	88	2,1	1,3	1,7	0,4	9,4	
3/4	27	2,8	1,4	2,7	0,8	6,7	
AST (x LSN)							0,001⁺⁺
0/1/2	88	1,6	0,8	1,3	0,6	4,3	
3/4	27	2,6	1,4	2,4	0,9	7,3	
Plaquetas (mm3)							0,469⁺
0/1/2	88	200.545,4	54.834,9	190.000,0	92.000	371.000	
3/4	27	190.562,9	82.832,3	179.000,0	91.200	514.000	
GGT (x LSN)							0,003⁺
0/1/2	88	1,3	0,8	1,2	0,2	3,8	
3/4	27	2,0	1,7	2,0	0,7	5,1	
Ferro (mg/L)							0,485⁺
0/1/2	86	130,1	39,8	125,5	47,0	274,0	
3/4	27	123,8	43,6	124,0	56,0	201,0	
Ferritina (mg/L)							0,382⁺⁺
0/1/2	73	140,2	159,5	93,0	5,0	947,0	
3/4	24	186,9	305,7	72,0	4,0	1340,0	
IgG (mg/dL)							0,048⁺⁺
0/1/2	85	1.561,1	390,6	1.549,0	930,0	3.508,0	
3/4	27	1.734,6	438,4	1.685,0	1.029,0	2.989,0	
IgM (mg/dL)							0,090⁺⁺
0/1/2	85	138,3	81,9	132,0	20,0	569,0	
3/4	27	171,9	106,7	151,0	21,0	546,0	

+ Teste t de Student

++ Mann Whitney

Quando analisamos os dados laboratoriais, conforme a Tabela 9b, observamos que as medianas de ALT, AST, GGT e IgG foram maiores do que as apresentadas pelos pacientes com atividade inflamatória lobular leve ($p < 0.05$). Já para a variável IgM ocorreu o mesmo comportamento descrito anteriormente, porém esse resultado mostrou-se apenas marginalmente significativo.

Tabela 9b - Dados bioquímicos analisados de acordo com os diferentes graus de atividade inflamatória lobular

4.5. Análise comparativa entre infiltrado inflamatório portal e os dados demográficos, clínico-epidemiológicos e bioquímicos

	Infiltrado inflamatório portal				TOTAL	p-valor+	Resultados
	0	1	2	3 / 4			
Sexo							58
Feminino	25	34,70%	12	27,30%	37	31,90%	0,404
Masculino	47	65,30%	32	72,70%	79	68,10%	
Transfusão							0,643
Não	52	72,20%	30	68,20%	82	70,70%	
Sim	20	27,80%	14	31,80%	34	29,30%	
Droga							0,081
Não	61	85,90%	32	72,70%	93	80,90%	
Sim	10	14,10%	12	27,30%	22	19,10%	
Cirurgia							0,448
Não	33	45,80%	17	38,60%	50	43,10%	
Sim	39	54,20%	27	61,40%	66	56,90%	
Outros tipos de contaminação							0,540
Não	59	81,90%	34	77,30%	93	80,20%	
Sim	13	18,10%	10	22,70%	23	19,80%	
Tempo de abstinência							0,655
< 6 meses	34	75,60%	22	71,00%	56	73,70%	
> 6 meses	11	24,40%	9	29,00%	20	26,30%	

+ Qui-Quadrado de Pearson

Não houve associação estatisticamente significativa entre infiltrado inflamatório portal e sexo, diferentes modos de contaminações e tempo de abstinência ($p > 0,05$) como mostrado na Tabela 10.

Tabela 10 - Análise dos dados demográficos e epidemiológicos de acordo com os diferentes graus de infiltrado inflamatório portal

De acordo com a Tabela 11a observou-se que os pacientes com infiltrado inflamatório portal intenso têm em média $6,6 \pm 2,0$ anos a mais do que os pacientes com infiltrado inflamatório portal leve ($p=0,001$). A variável tempo de ingestão alcoólica obteve uma tendência à significância estatística ($p=0,072$), ou seja, maior tempo de ingestão alcoólica relacionou com intenso infiltrado inflamatório portal.

Tabela 11a - Dados demográficos, clínico-epidemiológicos analisados de acordo com os diferentes graus de infiltrado inflamatório portal

	n	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo	p-valor
Idade (anos)							0,001⁺
0 / 1 / 2	72	36,3	11,1	35	18	60	
3 / 4	44	42,9	8,8	42	23	61	
IMC (kg/m²)							0,371⁺
0 / 1 / 2	72	25,4	4,1	24,9	17,9	40,0	
3 / 4	44	26,1	3,7	25,8	20,5	36,3	
Tempo provável de contaminação (anos)							0,494⁺
0 / 1 / 2	52	17,1	8,2	19	1	41	
3 / 4	37	18,3	7,5	17	3	39	
Etanol (g/d)							0,966⁺⁺
0 / 1 / 2	45	77,8	88,6	40,3	10	400	
3 / 4	31	96,4	133,1	41,0	10	475	
Tempo de ingestão alcoólica							0,072⁺⁺
0 / 1 / 2	45	12,9	9,1	10	1	34	
3 / 4	31	16,3	8,9	16	3	40	
Tempo de abstinência (dias)							0,400⁺⁺
0 / 1 / 2	45	409,1	891,3	7	0	3650	
3 / 4	31	415,8	907,1	60	0	4380	

+ Teste t de Student

++ Mann Whitney

Como podemos notar, na Tabela 11b, níveis elevados de AST relacionaram-se significativamente ($p=0,018$) com infiltrado inflamatório portal intenso, enquanto as plaquetas apresentaram-se com mediana menor em relação ao infiltrado inflamatório portal intenso, no entanto, apenas marginalmente significante ($p=0,052$).

Tabela 11b - Dados bioquímicos analisados de acordo com os diferentes graus de infiltrado inflamatório portal

	n	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo	p-valor
ALT (x LSN)							0,104⁺⁺
0 / 1 / 2	72	2,2	1,6	1,8	0,4	9,4	
3 / 4	44	2,3	0,9	2	0,9	4,4	
AST (x LSN)							0,018⁺⁺
0 / 1 / 2	72	1,7	1,1	1,3	0,6	7,3	
3 / 4	44	2,1	1	1,7	0,8	4,9	
Plaquetas (mm³)							0,052⁺⁺
0 / 1 / 2	72	203.211,1	52.817,1	190.500	91.200	371.000	
3 / 4	44	189.318,2	74.648,9	177.000	103.000	514.000	
GGT (x LSN)							0,754⁺⁺
0 / 1 / 2	72	1,5	0,9	1,3	0,2	4,1	
3 / 4	44	1,5	1,1	1,2	0,3	5,1	
Ferro (mg/L)							0,615⁺
0 / 1 / 2	72	127,1	40,4	125	47	274	
3 / 4	42	131,1	40,8	127	67	206	
Ferritina (mg/L)							0,956⁺⁺
0 / 1 / 2	61	158,9	230,4	84	5	1340	
3 / 4	37	137,1	152,2	90	4	802	
IgG (mg/dL)							0,606⁺⁺
0 / 1 / 2	69	1.588,90	412,40	1.566	955	3.508	
3 / 4	44	1.630,60	399,90	1.568	930	2.989	
IgM (mg/dL)							0,222⁺⁺
0 / 1 / 2	69	137,4	77,9	132	20	569	
3 / 4	44	161,6	103,1	149,5	21	546	

+ Teste t de Student

++ Mann Whitney

4.6. Comportamento dos genótipos do VHC em relação aos modos de contaminação e aos grupos de ingestão alcoólica

Não houve associação estatisticamente significativa entre os genótipos e transfusão, droga, cirurgia e outros modos de contaminação ($p>0,05$). Com relação à transfusão observou-se maior proporção de genótipo 1 quando comparado com aqueles que não receberam transfusão, conforme Tabela 12. Assim como para o uso de droga, ocorreu maior proporção de genótipo 3 comparado com pacientes que não utilizaram drogas, mas esta associação não foi significativa do ponto de vista estatístico.

Tabela 12 - Número (%) de pacientes segundo genótipo e modos de contaminação

	Genótipo						p-valor ⁺
	1		2		3		
Transusão							0,435
Sim	23	71,9%	-	-	9	28,1%	
Não	50	61,7%	4	4,9%	27	33,3%	
Droga							0,172
Sim	12	50,0%	1	4,2%	11	45,8%	
Não	60	68,2%	3	3,4%	25	28,4%	
Cirurgia							0,941
Sim	41	64,1%	2	3,1%	21	32,8%	
Não	32	65,3%	2	4,1%	15	30,6%	
Outros							0,539
Sim	13	59,1%	-	-	9	40,9%	
Não	60	65,9%	4	4,4%	27	29,7%	

+ Generalização do Teste Exato de Fisher

Com o objetivo de verificar se havia diferenças em relação ao genótipo e modos de contaminação, agrupamos os genótipos em 1 e não 1, mostrado na Tabela 13, mas a comparação não foi significativa ($p>0,05$). Porém novamente apareceu maior proporção de genótipo 1 nos pacientes que receberam transfusão comparado aos que não receberam sem significância estatística. Para a variável droga observou-se percentual igual de distribuição de genótipo 1 e não 1 mas a diferença entre essas duas proporções foi marginalmente significativa ($p=0,099$).

Tabela 13 - Número (%) de pacientes segundo genótipos 1 e não 1 e modos de contaminação

	Genótipos				p-valor+
	1		Não-1		
Transfusão					0,31
Sim	23	71,9%	9	28,1%	
Não	50	61,7%	31	38,3%	
Droga					0,099
Sim	12	50,0%	12	50,0%	
Não	60	68,2%	28	31,8%	
Cirurgia					0,891
Sim	41	64,1%	23	35,9%	
Não	32	65,3%	17	34,7%	
Outros					0,547
Sim	13	59,1%	9	40,9%	
Não	60	65,9%	31	34,1%	

+ Qui-Quadrado de Pearson

Quando comparamos o genótipo em relação aos três grupos de ingestão alcoólica houve maior proporção de genótipo 1 no grupo abstinência quando comparado à proporção de genótipo não 1 ($p=0,002$) não sendo detectada diferença para os outros dois grupos ($p>0,05$). Veja Tabela 14.

Tabela 14 - Número (%) de pacientes segundo grupos e genótipos

	Grupos						p-valor
	Abstinência		Consumo Alcoólico Leve		Consumo Alcoólico Acentuado		
Genótipo							0,288+
1	29	74,4%	21	60,0%	23	59,0%	
Não 1	10	25,6%	14	40,0%	16	41,0%	

+ Qui-Quadrado de Pearson

4.7. Relações entre as quantificações do RNA-VHC no soro e tecido hepático e seus genótipos nos três grupos de ingestão alcoólica

As médias da carga viral sérica (RNA-VHC no soro), nos grupos Abstinência e consumo alcoólico acentuado foram semelhantes, sendo mais altas do que aquelas do grupo consumo alcoólico leve. Porém comparando os intervalos de confiança a 95% (IC a 95%) observamos a sobreposição dos valores. Isto indica que os três grupos não diferem entre si, conforme representados na Tabela 15.

Para a carga viral hepática (RNA-VHC no tecido hepático) foi demonstrado que o grupo abstinência apresentou maior média, porém sem indícios de diferenças para esta variável.

Tabela 15 - Medidas descritivas de carga viral sérica e hepática segundo os grupos de consumo alcoólico

	n	Média⁺	IC a 95%
Carga Viral Sérica			
Abstêmio	37	421.307,30	[246.473,5 ; 720.158,0]
Consumo Alcoólico Leve	31	413.264,90	[246.752,4 ; 692.142,7]
Consumo Alcoólico Acentuado	38	424.757,50	[280.779,4 ; 642.564,8]
Carga Viral Hepática			
Abstêmio	26	376.962,40	[203.697,9 ; 697.604,8]
Consumo Alcoólico Leve	20	203.873,50	[77.448,58 ; 536.670,9]
Consumo Alcoólico Acentuado	22	230.659,50	[124.051,8 ; 428.883,6]

+ Média Geométrica (ou média aritmética do logaritmo da variável)

Na Tabela 16 mostramos a comparação entre os grupos, genótipos e carga viral sérica. Independente do grupo, a média da carga viral no genótipo 1 foi sempre menor do que a média da carga viral no genótipo não 1. Porém ao avaliarmos os intervalos de confiança a 95%, não houve diferença entre os genótipos pois os IC a 95% se superpõem.

Tabela 16 - Medidas descritivas da carga viral sérica segundo grupo de consumo alcoólico e genótipo.

Grupo	Genótipo	Nº obs.	Média+	IC a 95%
Abstêmio	1	26	474.571,40	[263.484,6 ; 854.767,1]
	Não 1	10	570.249,80	[436.841,5 ; 744.400,0]
Consumo Alcoólico Leve	1	18	409.863,00	[209.847,1 ; 800.524,1]
	Não 1	13	418.021,90	[164.749,8 ; 1.060.653,0]
Consumo Alcoólico Acentuado	1	20	378.117,30	[213.987,3 ; 668.134,9]
	Não 1	15	454.151,70	[203.186,1 ; 1.015.098,0]

+ Média Geométrica (ou média aritmética do logaritmo da variável)

Na Tabela 17 observamos que no grupo abstêmio, a média da carga viral hepática do genótipo não 1 foi maior do que a média da carga viral do genótipo 1, porém ao avaliarmos os IC a 95% destas duas médias notamos a superposição dos mesmos, sendo portanto semelhantes entre si. No grupo consumo alcoólico leve, a média da carga viral hepática do

genótipo não 1 foi ligeiramente superior a do genótipo 1, mas sem diferenças entre estas médias. Já para o grupo consumo alcoólico acentuado ocorreu um padrão diferente do apresentado nos outros dois grupos, ou seja, a média da carga viral hepática do genótipo 1 foi maior do que o genótipo não 1, novamente sem diferença significativa entre os IC a 95% apresentados.

Tabela 17 - Medidas descritivas da carga viral hepática segundo grupo de consumo alcoólico e genótipo

Grupo	Genótipo	Nº obs.	Média+	IC a 95%
Abstêmio	1	16	287.592,90	[131.892,5 ; 627.099,2]
	Não 1	10	581.205,30	[185.655,3 ; 1.819.499,0]
Consumo Alcoólico Leve	1	14	200.273,30	[59.766,3 ; 671.104,1]
	Não 1	6	212.527,70	[21.097,4 ; 2.140.933,0]
Consumo Alcoólico Acentuado	1	14	241.834,60	[118.363,8 ; 494.103,8]
	Não 1	8	212.331,10	[49.728,5 ; 906.612,3]

+ Média Geométrica (ou média aritmética do logaritmo da variável)

4.8. Resultados da esteatose nos grupos de consumo alcoólico e no genótipo tipo 3

A esteatose esteve presente nas biópsias hepáticas em quarenta e seis dos 120 pacientes (38,3%) e não apresentou diferenças estatisticamente significante entre os três grupos conforme mostrado na Tabela 18 . O diagnóstico de esteatohepatite foi observado em dois dos 41 (4,9%) pacientes do grupo abstinência, dois dos 36 (5,5%) pacientes do grupo alcoolismo leve e em um dos 43 (2,3%) pacientes do grupo alcoolismo acentuado.

Grupos	Abstêmio	Alcoolismo Leve	Álcool intenso	TOTAL	Resultados
Esteatose					0,947
Não	25 60,98%	23 63,89%	26 60,47%	74	61,67%
Sim	16 39,02%	13 36,11%	17 39,53%	46	38,33%
Total	41 100,00%	36 100,00%	43 100,00%	120	100,00%

Tabela 18 - Presença de esteatose nos grupos de consumo alcoólico

Foi observado esteatose à biópsia hepática em 25 dos 36 (69,4%) pacientes que apresentavam genótipo tipo 3. Em relação aos grupos de ingestão alcoólica, no grupo abstêmio sete dos 8 pacientes (87,5%) mostraram presença de esteatose. No grupo alcoolismo leve a esteatose foi encontrada em sete dos 13 (53,8%) pacientes e no grupo alcoolismo acentuado, em onze dos 15 (73,3%).

4.9. Análise do índice AST / plaquetas (APRI) e os diferentes graus de fibrose e atividade inflamatória periportal nos três grupos de ingestão alcoólica

Independente do grupo, o APRI relacionou com a presença de fibrose, como podemos notar na Tabela 19. Os pacientes com fibrose leve (0 / 1 / 2) apresentaram um valor de APRI menor do que os pacientes com fibrose intensa (3 / 4). Este comportamento ocorreu em cada um dos três grupos de ingestão alcoólica. As diferenças observadas mostraram-se estatisticamente significantes sendo estimadas em 1,22 (IC a 95% [0,46 –

1,98]) para o grupo abstêmio, em 0,697 (IC a 95% [0,005 – 1,391]) para o grupo de consumo alcoólico leve e 1,47 (IC a 95% [0,64 – 2,30]) para o grupo de consumo alcoólico acentuado. Independente do grupo, a diferença média de APRI entre fibrose 3 / 4 e fibrose 0 / 1 / 2 pode ser estimada em 1,18 (IC a 95% [0,75 – 1,61]).

Tabela 19 - Análise de APRI de acordo com os graus de fibrose nos grupos de consumo alcoólico

	Fibrose		p-valor ⁺
	0 / 1 / 2	3 / 4	
Abstêmio	0,73 ± 0,43	1,95 ± 1,05	<0,001
Consumo alcoólico leve	0,79 ± 0,36	1,49 ± 0,89	0,049
Consumo alcoólico acentuado	0,89 ± 0,52	2,36 ± 1,35	0,002
Total	0,80 ± 0,44	1,99 ± 1,17	<0,001

⁺ Teste t de Student para variâncias desiguais

Quando analisamos o APRI em relação a outra variável histopatológica, ou seja, atividade inflamatória periportal (APP) nos três grupos de consumo alcoólico nós observamos comportamento semelhante à

fibrose, mostrado na Tabela 20. O APRI de pacientes com APP 0 / 1 / 2 foi menor que o APRI de pacientes com APP 3 / 4, ocorrendo em cada um dos grupos de consumo alcoólico. As diferenças mostraram-se estatisticamente significantes, com exceção do grupo consumo alcoólico leve. A diferença média de APRI entre pacientes com APP 3 / 4 e aqueles pacientes com APP 0 / 1 / 2 pode ser estimada em 0,71 (IC a 95% [0,12 – 1,31]) para o grupo abstinência e 1,07 (IC a 95% [0,48 – 1,67]) para o grupo alcoolismo acentuado. Independente do grupo, a diferença média de APRI entre APP 3 / 4 e APP 0 / 1 / 2 pode ser estimada em 0,79 (IC a 95% [0,44 – 1,14]).

Tabela 20 - Análise de APRI de acordo com os graus de atividade periportal nos grupos de consumo alcoólico

	APP		p-valor
	0 / 1 / 2	3 / 4	
Abstêmio	0,73 ± 0,50	1,44 ± 0,98	0,021
Consumo alcoólico leve	0,86 ± 0,40	1,24 ± 0,94	0,251
Consumo alcoólico acentuado	0,74 ± 0,40	1,82 ± 1,28	0,001
Total	0,78 ± 0,44	1,58 ± 1,13	<0,001

* Teste t de Student para variâncias desiguais

4.10. Análise comparativa do grau de progressão de fibrose com dados demográficos e epidemiológicos nos três grupos de ingestão alcoólica

O grau de progressão de fibrose ao ano foi calculado como a razão entre o grau de progressão de fibrose segundo a classificação brasileira das hepatites crônicas e o tempo provável da contaminação em anos. Conforme a Tabela 21, foi avaliado o grau de progressão de fibrose nos três grupos de

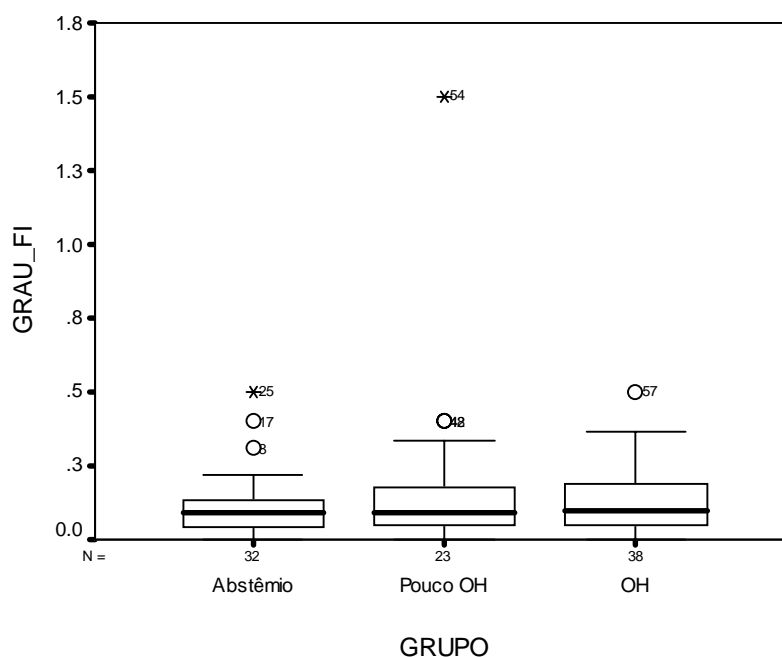
consumo alcoólico (Gráfico 1 mais adiante). Comparando-se as medianas de grau de progressão de fibrose desses três grupos observa-se que o grupo alcoólico acentuado apresenta maior valor, porém não muito distante dos apresentados pelos outros dois grupos. Através do teste de Kruskal-Wallis verifica-se que o grau de progressão de fibrose não diferencia estatisticamente esses três grupos ($p=0,463$). Apesar de não haver diferença estatisticamente significativa do grau de progressão de fibrose, o restante da análise levará em consideração o grupo a que o indivíduo pertence, ou seja, foi realizada uma análise estratificada de cada grupo de consumo alcoólico.

Tabela 21 - Medidas descritivas do grau de progressão de fibrose nos três grupos de consumo alcoólico

	Grupo		
	Abstêmio	Consumo Alcoólico Leve	Consumo alcoólico acentuado
Média	0,109	0,194	0,129
Desvio Padrão	0,111	0,308	0,111
Mediana	0,089	0,091	0,1
Mínimo	0	0	0
Máximo	0,5	1,5	0,5
Nº obs	32	23	38

De acordo com o Gráfico 1, pode-se observar que no grupo consumo alcoólico leve o segundo maior valor para o grau de progressão da fibrose é 0,4.

Gráfico 1 - Box-plot de grau de progressão de fibrose de acordo com os grupos de consumo alcoólico



Legendas: Pouco OH: grupo consumo alcoólico leve; OH: grupo consumo alcoólico acentuado; Grau Fi: grau de fibrose

4.10.1 - Grupo abstêmio

Em relação à Tabela 22, para o grupo abstêmio não foi observada diferença estatisticamente significativa do grau de progressão de fibrose com sexo, modos de contaminação e genótipo ($p > 0,05$).

Tabela 22 - Medidas descritivas de grau de progressão de fibrose em relação ao sexo, modos de contaminação e genótipo no grupo abstêmio

	Média	Desvio padrão	Mediana	Mínimo	Máximo	Nº obs.	p-valor
Sexo							0,501⁺
Masculino	0,120	0,160	0,053	0	0,5	12	
Feminino	0,103	0,073	0,099	0	0,3	20	
Modos de contaminação							0,741⁺⁺
Cirurgia	0,111	0,092	0,100	0	0,3	11	
Droga	0,274	0,320	0,274	0	0,5	2	
Transfusão	0,095	0,089	0,083	0	0,4	17	
Outros	0,059	0,083	0,059	0	0,1	2	
Genótipo							0,185⁺
1	0,124	0,126	0,096	0	0,5	22	
Não 1	0,068	0,069	0,044	0	0,2	8	

⁺Mann-Whitney

⁺⁺Kruskal-Wallis

No grupo abstêmio, o grau de progressão de fibrose não correlacionou com as variáveis idade, IMC e tempo provável de contaminação ($p > 0,05$) conforme a Tabela 23.

Tabela 23 - Correlação de grau de progressão de fibrose com idade, IMC e tempo provável de contaminação para grupo abstêmio.

	Correlação de Spearman	p-valor
Idade	-0,044	0,812
IMC	0,267	0,14
Tempo provável de contaminação	0,34	0,057

4.10.2 - Grupo consumo alcoólico leve

Para o grupo consumo alcoólico leve não foi observada diferença estatisticamente significativa do grau de progressão de fibrose em relação ao sexo e modos de contaminação ($p>0,05$). Para o genótipo observou-se que a mediana do grau de fibrose do genótipo 1 é maior do que a apresentada pelo genótipo não 1, porém esse resultado mostrou-se apenas marginalmente significativa ($p=0,059$) como mostrado na Tabela 24.

Tabela 24 - Medidas descritivas de grau de progressão de fibrose em relação ao sexo, modos de contaminação e genótipo no grupo consumo alcoólico leve

	Média	Desvio padrão	Mediana	Mínimo	Máximo	Nº obs.	p-valor
Sexo							0,115⁺
Masculino	0,256	0,368	0,133	0	1,5	15	
Feminino	0,077	0,052	0,082	0	0,2	8	
Modos de contaminação							0,474⁺⁺
Cirurgia	0,259	0,398	0,087	0	1,5	13	
Droga	0,178	0,107	0,133	0,1	0,3	3	
Transfusão	0,084	0,051	0,070	0	0,2	6	
Outros	0,059	-	0,059	0,1	0,1	1	
Genótipo							0,059⁺
1	0,281	0,405	0,138	0	1,5	12	
Não-1	0,075	0,050	0,063	0	0,2	10	

⁺Mann-Whitney

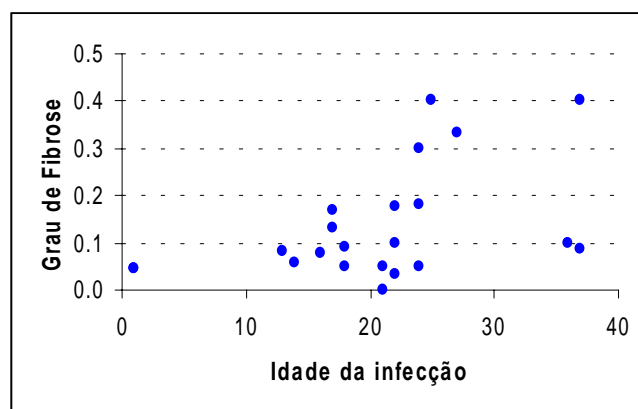
⁺⁺Kruskal-Wallis

Quando correlacionamos as variáveis idade, IMC e tempo provável da contaminação com o grau de progressão de fibrose, o tempo provável da contaminação mostrou-se estatisticamente significativa ($p > 0,05$), ou seja, à medida que o tempo provável da contaminação aumenta o grau de progressão de fibrose também aumenta, conforme a Tabela 25 e, mais abaixo, no Gráfico 2.

Tabela 25 - Correlação do grau de progressão de fibrose com idade, IMC e tempo provável de contaminação para grupo consumo leve

	Correlação de Spearman	p-valor
Idade	0,247	0,255
IMC	-0,171	0,435
Tempo provável da Contaminação	0,602	0,002

Gráfico 2 - Gráfico de dispersão entre o grau de progressão de fibrose e tempo provável de contaminação



4.10.3 - Grupo consumo alcoólico acentuado

De acordo com a Tabela 26, para o grupo consumo alcoólico acentuado não foi observada diferença estatisticamente significativa do grau de progressão de fibrose em relação ao sexo, modos de contaminação e genótipo ($p > 0,05$).

Tabela 26 - Medidas descritivas de grau de progressão de fibrose em relação ao sexo, modos de contaminação e genótipo no grupo consumo alcoólico acentuado

	Média	Desvio padrão	Mediana	Mínimo	Máximo	Nº obs.	p-valor
Sexo							0,895⁺
Masculino	0,129	0,112	0,100	0	0,5	37	
Feminino	0,118	-	0,118	0,1	0,5	1	
Modos de contaminação							0,486⁺⁺
Cirurgia	0,161	0,123	0,200	0	0,40	13	
Droga	0,130	0,140	0,087	0	0,50	12	
Transfusão	0,100	0,047	0,100	0	0,20	12	
Outros	0,040	-	0,040	0	0,04	10	
Genótipo							0,361⁺
1	0,129	0,124	0,100	0	0,5	23	
Não1	0,143	0,089	0,136	0	0,4	13	

⁺Mann-Whitney

⁺⁺Kruskal-Wallis

Ao analisarmos as variáveis idade, IMC e tempo provável de contaminação com o grau de progressão de fibrose, não houve correlação significativa nos três grupos de consumo alcoólico ($p > 0,05$) de acordo com a Tabela 27.

Tabela 27 - Correlação de grau de progressão de fibrose com idade, IMC e tempo provável da contaminação para grupo consumo alcoólico acentuado.

	Correlação de Spearman	p-valor
Idade	0,088	0,598
IMC	0,123	0,462
Tempo provável de contaminação	0,204	0,219

4.11 – Análise de regressão logística

4.11.1 - Alterações estruturais (fibrose)

As variáveis selecionadas para compor o modelo logístico foram idade, quantidade de etanol, IMC, ALT, AST, plaquetas, GGT, IgG e IgM. Pelo fato da variável quantidade de etanol apresentar valores para os pacientes pertencentes aos grupos consumo alcoólico leve e acentuado, com esta inclusão, o tamanho da amostra avaliado na regressão logística foi de 79 pacientes. Porém como essa variável não se mostrou significativa ($p=0,144$), ela foi removida do modelo, sendo realizado um novo ajuste com todas as outras variáveis selecionadas e com o tamanho da amostra de 120 pacientes. As variáveis idade, IMC, ALT, GGT, IgG e IgM não se mostraram estatisticamente significantes ($p>0,05$).

Considerando os dois níveis de alterações estruturais (fibrose) em relação às variáveis idade, IMC, ALT, AST, plaquetas, GGT, IgG e IgM, os únicos fatores preditivos independentes de fibrose intensa foram AST e plaquetas.

Conforme apresentado na Tabela 28, quando a AST aumenta em uma unidade, a chance de haver fibrose graus 3 / 4 aumenta em 2,7 vezes ($p<0,001$). Em relação às plaquetas, quando o número de plaquetas diminui em 10.000 unidades/ mm^3 a chance de haver fibrose 3 / 4 diminui em 0,862 vezes ($p=0,003$).

Tabela 28 - Modelo logístico para fibrose

	Odds Ratio (OR)	I. C. 95%	p-valor
AST	2,734	[1,687 ; 4,431]	<0,001
Plaquetas	0,862	[0,782 ; 0,950]	0,003



Abaixo apresentamos os gráficos 3 e 4 com a curva ROC e a sensibilidade e especificidade de AST e plaquetas em relação a fibrose intensa, respectivamente.

Gráfico 3 - Curva ROC de AST e plaquetas para predizer fibrose intensa

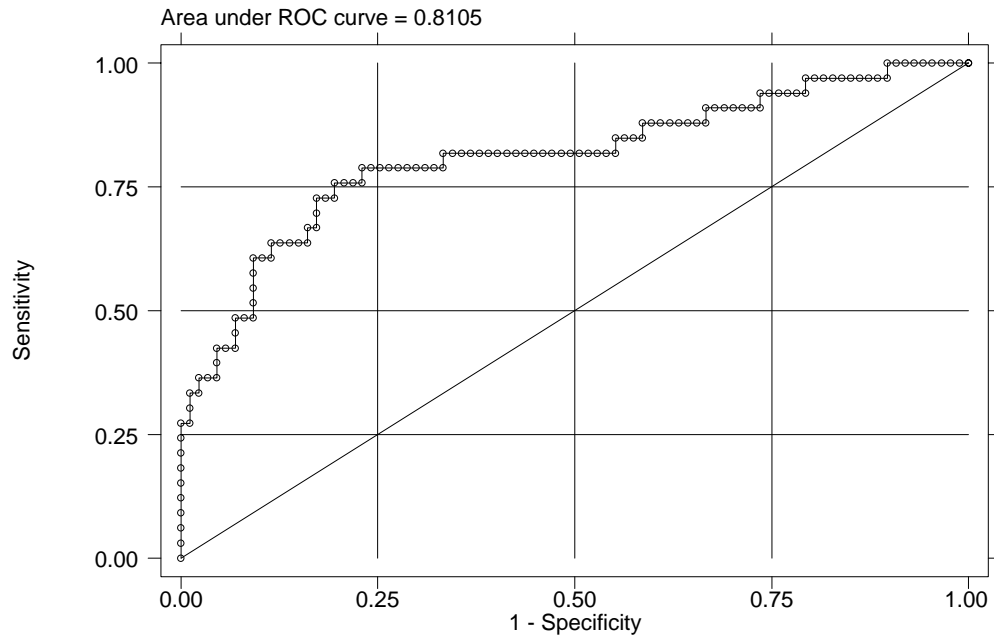
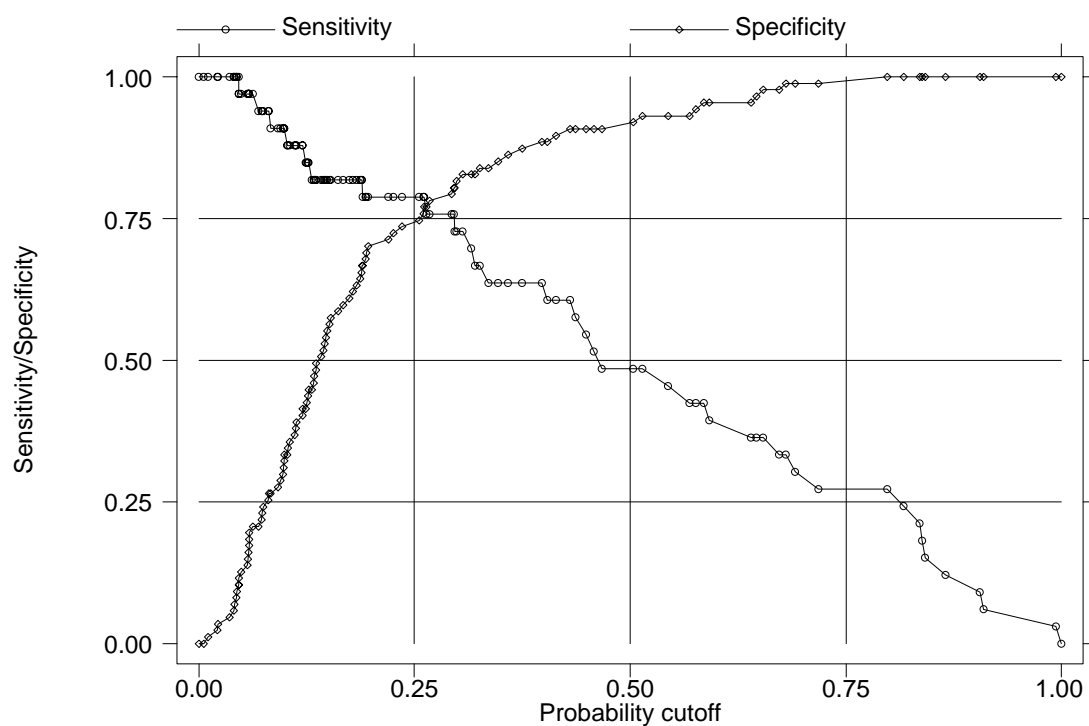


Gráfico 4 - Probabilidade de corte de 0,22 a sensibilidade é de 78,8% e a especificidade é de 71,3%



4.11.2 - Atividade inflamatória periportal (APP)

As variáveis selecionadas para compor o modelo logístico foram idade, quantidade de etanol, tempo de ingestão alcoólica, cirurgia, ALT, AST, plaquetas, GGT e IgG,.

Considerando os níveis leve e intenso de atividade inflamatória periportal, a AST e o tempo de ingestão alcoólica foram os únicos fatores preditivos independentes de APP intensa (3 / 4). As variáveis idade, quantidade de etanol, cirurgia, ALT, GGT, plaquetas e IgG não se mostraram estatisticamente significantes ($p > 0,05$).

De acordo com a Tabela 29, quando a AST aumenta em uma unidade, a chance de haver APP intensa (3 / 4) aumenta, aproximadamente 2,7 vezes ($p = 0,002$), e quando o tempo de ingestão alcoólica aumenta em um ano a chance de haver APP 3 / 4 aumenta 1,1 vezes ($p = 0,002$). É importante ressaltarmos que como a variável tempo de ingestão alcoólica possuiu valores apenas para indivíduos dos grupos consumo alcoólico leve e acentuado, esse modelo ajustado não levou em consideração os pacientes pertencentes ao grupo abstinência.

Tabela 29 - Modelo logístico para APP

	Odds Ratio (OR)	I. C. 95%	p-valor
AST	2,684	[1,437 ; 5,013]	0,002
Tempo de ingestão alcoólica	1,112	[1,041 ; 1,188]	0,002

Abaixo apresentamos os Gráficos 5 e 6 com a curva ROC e a sensibilidade e especificidade de AST e tempo de ingestão alcoólica em relação a APP intensa (graus 3 e 4), respectivamente.

Gráfico 5 - Curva ROC de AST e tempo de ingestão alcoólica para predizer atividade periportal intensa.

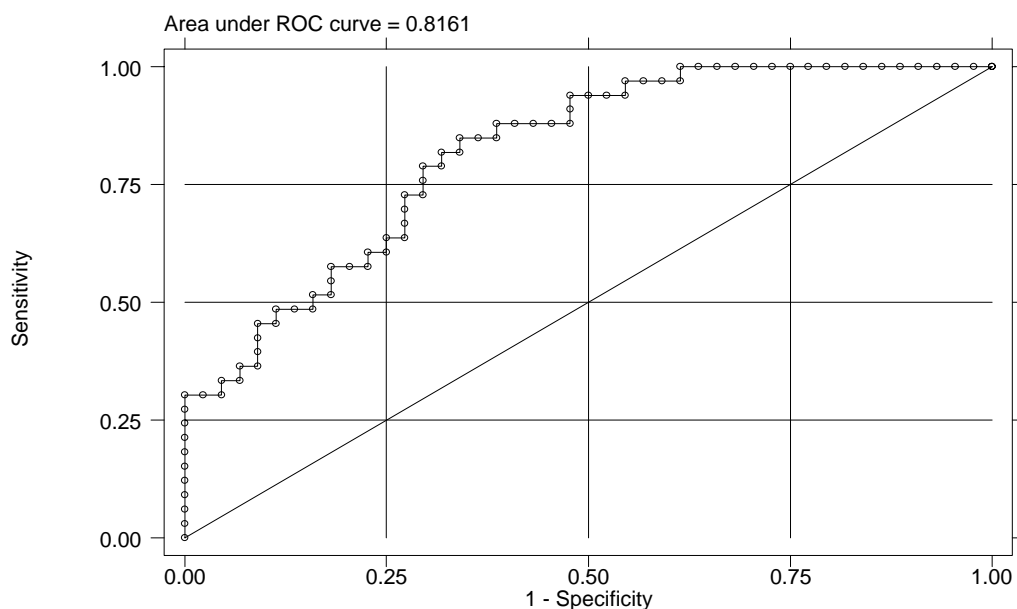
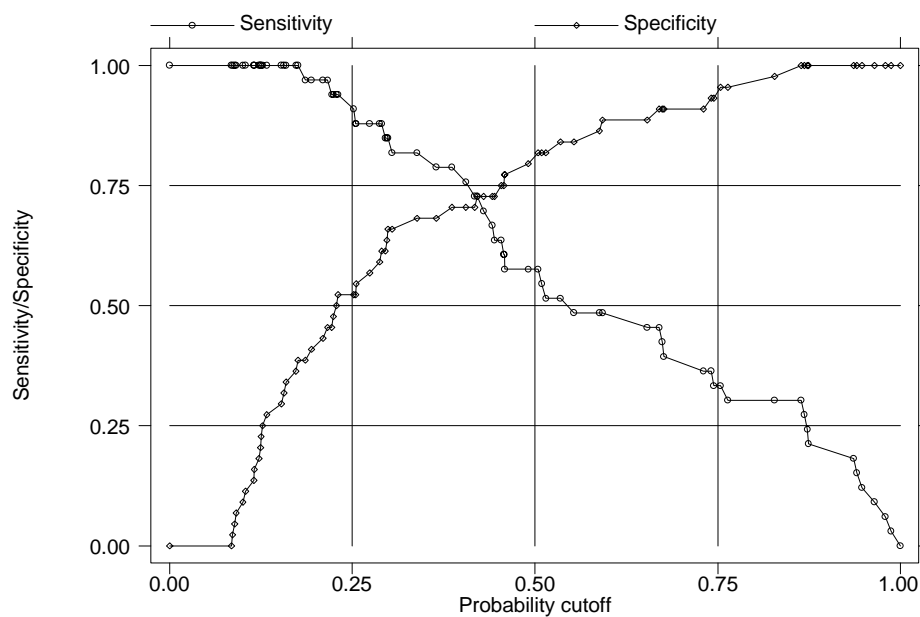


Gráfico 6 - Para a probabilidade de corte de 0,41, a sensibilidade é de 75,8% e a especificidade é de 70,5%



4.11.3 - Atividade inflamatória lobular

As variáveis selecionadas para compor o modelo logístico foram Tempo de abstinência, IMC, ALT, AST, GGT, IgG e IgM.

Considerando os dois níveis de atividade inflamatória lobular em relação às variáveis acima descritas, os únicos fatores preditivos independentes de atividade inflamatória lobular intensa (3 / 4) foram AST e GGT. As variáveis tempo de abstinência, IMC, ALT, IgG e IgM não se mostraram estatisticamente significantes ($p > 0,05$).

De acordo com a Tabela 30, quando a AST aumenta em uma unidade, a chance de haver atividade inflamatória lobular intensa aumenta, aproximadamente em 2 vezes ($p = 0,002$). Quando a GGT aumenta em uma unidade a chance de haver atividade inflamatória lobular intensa aumenta 1,9 vezes ($p = 0,014$).

	Odds Ratio (OR)	I. C. 95%	p-valor
AST	2,049	[1,304 ; 3,221]	0,002
GGT	1,866	[1,134 ; 3,069]	0,014

Tabela 30 - Modelo logístico para Atividade Inflamatória Lobular

Abaixo apresentamos os Gráficos 7 e 8 com a curva ROC e a sensibilidade e especificidade de AST e GGT em relação a atividade inflamatória lobular intensa (graus 3 e 4), respectivamente.

Gráfico 7 - Curva ROC de AST E GGT para predizer atividade inflamatória lobular intensa

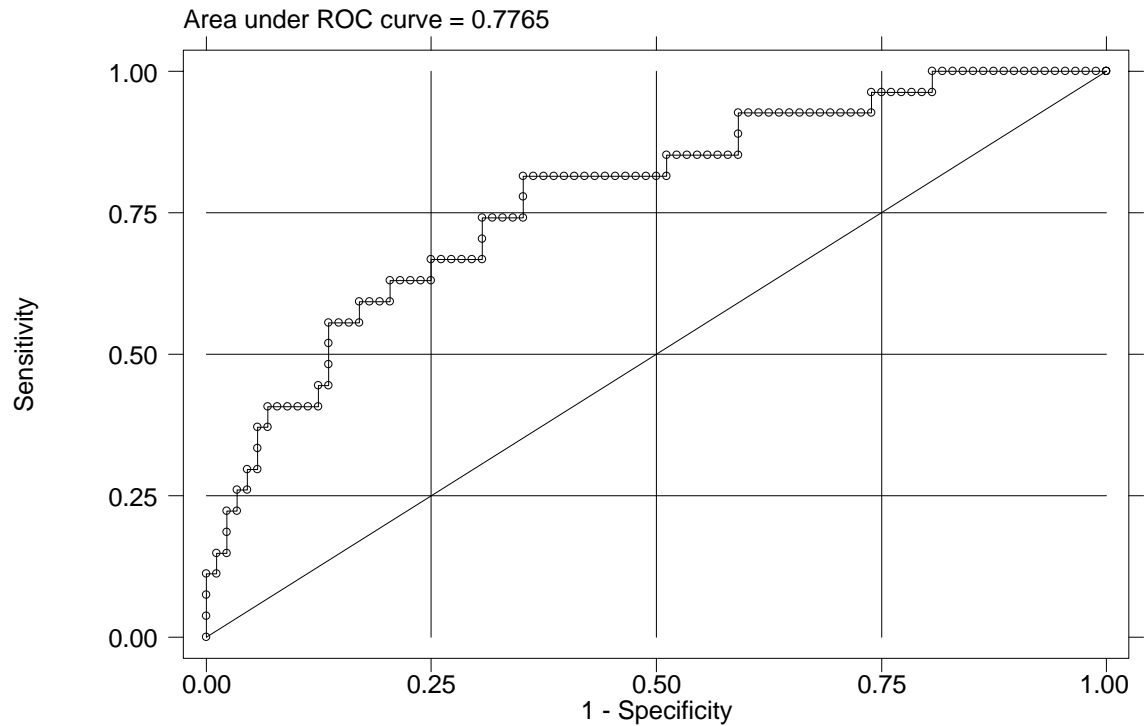
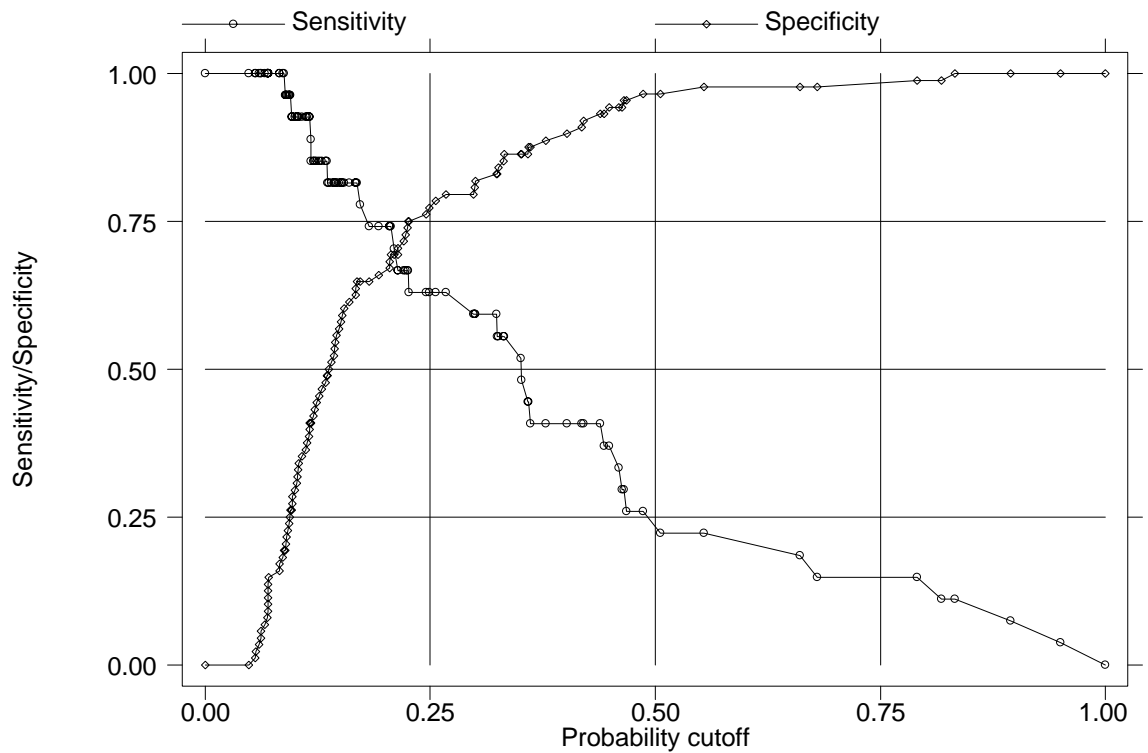


Gráfico 8 - Para uma probabilidade de corte de 0,21 a sensibilidade é de 66,7% e a especificidade é de 70,5%



4.11.4 - Infiltrado inflamatório portal

As variáveis selecionadas para compor o modelo logístico foram idade, uso de droga, tempo de ingestão alcoólica, AST e plaquetas.

Considerando os níveis leve e intenso de infiltrado inflamatório portal, os únicos fatores preditivos independentes de infiltrado inflamatório portal intenso foram idade e uso de droga injetável. As variáveis tempo de ingestão alcoólica, AST e plaquetas não se mostraram estatisticamente significantes ($p > 0,05$)

De acordo com a Tabela 31, quando a idade aumenta em um ano, a chance de haver infiltrado inflamatório portal intenso (3 / 4) aumenta aproximadamente 1,1 vezes ($p=0,001$). A chance de apresentar infiltrado inflamatório portal intenso (3 / 4) nos pacientes que utilizaram droga injetável é, aproximadamente 2,9 vezes mais do que aquela observada nos pacientes que apresentaram infiltrado inflamatório portal leve (0 / 1 / 2) ($p=0,036$).

	Odds Ratio (OR)	I. C. 95%	p-valor
Idade	1,071	[1,028 ; 1,115]	0,001
Droga (Sim x Não)	2,891	[1,070 ; 7,810]	0,036

Tabela 31 - Modelo logístico para infiltrado inflamatório portal

Abaixo apresentamos os Gráficos 9 e 10 com a curva ROC e a sensibilidade e especificidade de idade e uso de droga injetável em relação a infiltrado inflamatório portal intenso (graus 3 e 4), respectivamente.

Gráfico 9 - Curva ROC de idade e uso de droga injetável para predizer infiltrado inflamatório portal intenso

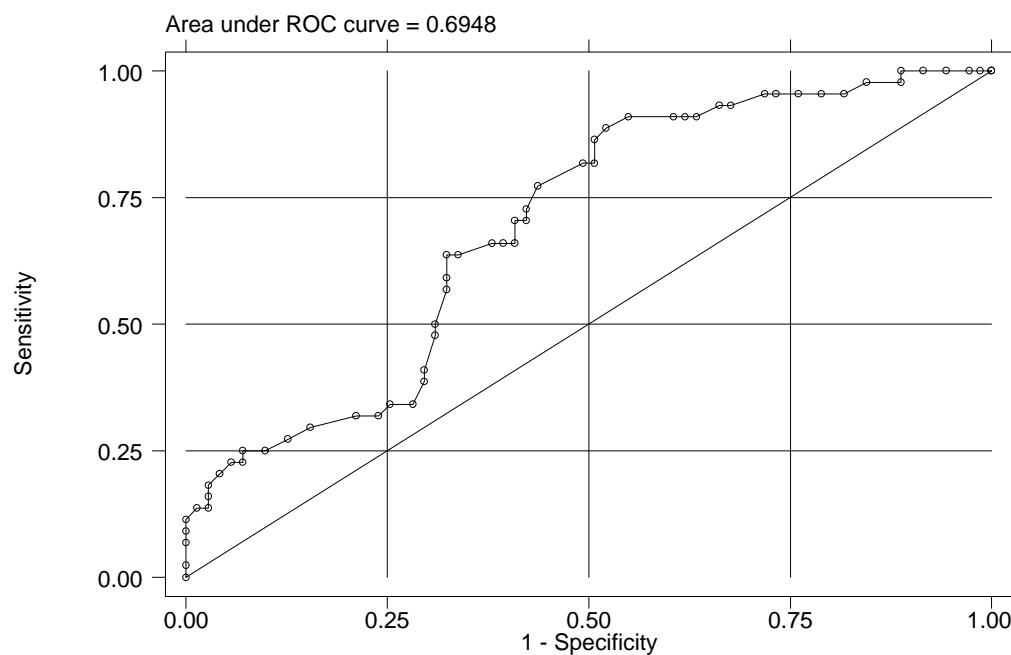
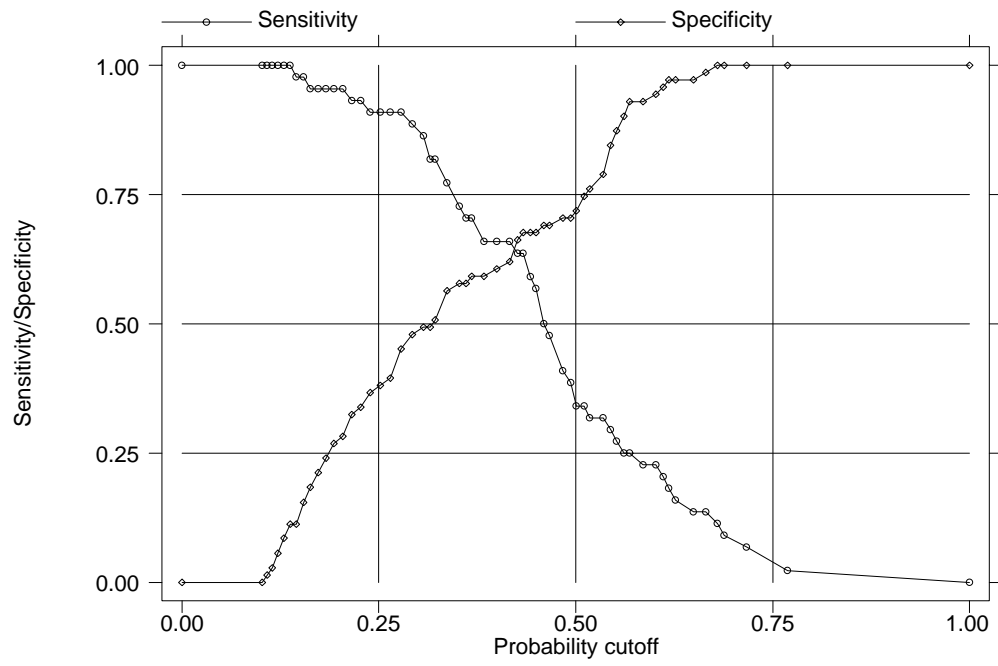


Gráfico 10 - Para uma probabilidade de corte de 0,43 a sensibilidade é de 63,6% e a especificidade é de 67,6%



5 DISCUSSÃO



5.1. Fibrose hepática e consumo alcoólico

A hepatite C crônica caracteriza-se por processo inflamatório imunomediado onde predominam células T CD4+ acompanhado de menor número de macrófagos, células T CD8+ e células plasmáticas⁸⁴. Com a progressão da doença, vai ocorrendo deposição de colágeno periportal que substitue os hepatócitos destruídos, proporcionando uma aparência estrelada às áreas portais que se observa na coloração do tecido conjuntivo. O preenchimento de fibrose nas áreas portais é uma alteração precoce vista nas hepatites C crônicas e é descrita como expansão fibrótica portal. Este é o primeiro estágio de fibrose reconhecido nos diversos sistemas de classificação das hepatites crônicas^{78,80}. No entanto, a inflamação portal, e fundamentalmente a hepatite de interface, que é também graduada separadamente, são algumas das características precoces mais notáveis na história natural da hepatite C e precedem a fibrose.

Nosso estudo mostrou que em doadores de sangue com hepatite C, os parâmetros histopatológicos como fibrose, atividade inflamatória lobular e infiltrado inflamatório portal não apresentaram diferenças significantes quando foram comparados grupos com diferentes graus de ingestão alcoólica. Somente a atividade inflamatória periportal foi, de modo relevante, mais intensa, graus 3 e 4, no grupo de consumo alcoólico acentuado. Como propagado amplamente na literatura médica, o parâmetro mais freqüentemente usado para avaliar a progressão da doença hepática é a fibrose⁸⁵, e muitos estudos têm indicado que o alcoolismo acentuado é um

fator de risco independente para progressão de fibrose na hepatite C crônica^{23,86,87}. Por outro lado, estes achados não têm sido unânimes⁶⁵ e a relação entre álcool e hepatite C necessita de melhor investigação.

Como a nossa amostra incluiu somente doadores de sangue selecionados pela positividade do VHC e portanto, doença mais leve e com menor percentual de cirrose, os nossos resultados podem refletir uma fase mais inicial da doença. De fato, como o processo inflamatório antecede o desenvolvimento de fibrose, é perfeitamente compreensível que tenhamos observado diferença estatisticamente significativa para atividade inflamatória periportal e não para a fibrose.

As lesões histológicas observadas em nossos pacientes foram relacionadas, fundamentalmente, à infecção pelo VHC, sendo escassos ou ausentes os parâmetros histológicos indicativos de lesão pelo álcool. Além disso, a lesão histopatológica característica de uso abusivo de álcool é predominante na zona 3 do ácino de Rappaport⁸⁸, incluindo esteatose, fibrose pericelular, balonização de hepatócitos e hialinos de Mallory. Estes parâmetros histopatológicos, que sugerem lesão decorrente do álcool, são diferentes daqueles encontrados nas hepatites virais⁸⁹, onde os fenômenos inflamatórios predominam nas regiões portal e periportal, sendo que as alterações parenquimatosas também se apresentam com características diversas e infiltrado inflamatório com predomínio de mononucleares⁹⁰.

Outra possibilidade que pode explicar a ausência de diferença significativa na fibrose quando comparamos abstêmios com consumo alcoólico leve e acentuado é o erro beta. Nós tivemos apenas 13 pacientes que

apresentaram grau 4 de alterações estruturais, ou seja, cirrose, sendo a maioria deles, oito de 13 pacientes (61,5%) pertencentes ao grupo de consumo alcoólico acentuado. Assim sendo, podemos supor que em uma população maior, uma diferença significativa possa ser detectada, como demonstrada por outros autores^{23, 30}.

5.2. Parâmetros demográficos, clínicos e consumo alcoólico

A comparação dos parâmetros demográficos e clínicos entre os grupos de consumo alcoólico mostrou diferenças interessantes. O sexo feminino foi predominante no grupo abstêmio, confirmando que as mulheres bebem em menor proporção do que os homens, segundo levantamento populacional sobre o comportamento do alcoolismo⁹¹.

Em relação aos fatores de contaminação, os dois principais fatores de risco para infecção pelo VHC foram prevalentes em grupos diferentes: o grupo abstêmio teve mais frequência de transfusão de sangue, enquanto o uso de drogas injetáveis foi maior no grupo de consumo alcoólico acentuado. Não se sabe porque os alcoolistas têm maior probabilidade de infectar-se com VHC. É possível que diferenças no consumo alcoólico possam refletir outros comportamentos de risco nos indivíduos infectados com VHC. Assim, aqueles que apresentam ingestão alcoólica acentuada teriam maior tendência a usar drogas injetáveis ou outros tipos de exposições ao vírus^{92,93}. Embora os mecanismos para explicar esta maior prevalência não estejam bem estabelecidos, aventam-se outras hipóteses. Uma delas é que os alcoolistas

teriam maior susceptibilidade a infecções⁹⁴, provavelmente devido à diminuição na função imunológica⁹⁵.

5.3. Variáveis histológicas e idade

Diferentemente de outros estudos, nós analisamos separadamente as variáveis histopatológicas como fibrose, atividade inflamatória periportal, atividade inflamatória lobular e infiltrado inflamatório portal em relação aos parâmetros demográficos, clínico-epidemiológicos e laboratoriais, a fim de avaliar fatores prognósticos de progressão da doença.

A avaliação detalhada desses diversos parâmetros nos permitiu confirmar um comportamento amplamente corroborado em muitos estudos epidemiológicos^{51,96}, nos quais a idade mais avançada é um fator de risco independente associado à fibrose intensa. Além disso, demonstramos que a idade mais avançada também se relacionou com atividade inflamatória periportal e infiltrado inflamatório portal. Porém, não houve relação com a atividade inflamatória lobular.

Nós observamos que na análise univariada, somente a idade do paciente na época da biópsia e não o tempo provável da contaminação foi associada com os parâmetros histopatológicos citados acima. Quando realizada análise multivariada, a idade na época da biópsia foi fator preditivo independente de infiltrado inflamatório portal intenso. Curiosamente, a quantidade de infiltrado inflamatório portal não é levada em consideração em várias das classificações das hepatites crônicas^{81,97}, mas é considerada na

classificação das hepatites crônicas fundamentada por Gayotto e col.⁷⁸. Acreditamos ser este o primeiro relato da associação entre idade mais avançada e maior infiltrado inflamatório portal na hepatite C.

Ainda em relação à idade, a relevante associação com a gravidade da hepatite crônica pode traduzir alterações qualitativas e quantitativas na resposta imune que ocorre em decorrência da idade mais avançada, ou provavelmente, indicar uma duração maior da doença ⁹⁸.

Quando conhecido o fator de risco para a infecção, podemos definir a época provável na qual o paciente se contaminou e calcular o tempo provável de contaminação. Este tempo é um importante parâmetro de progressão da doença, descrito em estudos de comunidade, quando a infecção pelo VHC persiste na maioria das pessoas durante décadas, sem causar doença hepática, clinicamente evidente⁹⁹. Na nossa casuística, a média do tempo provável de contaminação foi menor de 20 anos, e não houve diferença significativa em relação aos grupos de consumo alcoólico, ou às variáveis histopatológicas. Esta falta de diferença pode estar relacionada à população de doadores de sangue, que apresentaram doença hepática mais leve.

5.4. Esteatose e progressão da hepatite C

A obesidade tem sido associada com graus mais avançados de fibrose na hepatite C crônica⁵⁹. Foi demonstrado que o IMC acima de 25 em pacientes com níveis aumentados de ALT foi fator preditivo independente de fibrose. De modo semelhante, na nossa amostra, o IMC mostrou valor médio

acima de 25, e foi estatisticamente significativa com maior fibrose, como também com atividade inflamatória lobular intensa. O aumento do IMC tem papel relevante na patogênese da esteatose nos pacientes com hepatite C e tem sido relatado a associação de IMC e fibrose⁶⁰.

Em nossa casuística, 38,3% dos pacientes apresentaram esteatose, sendo semelhante a outros estudos histopatológicos de hepatite C crônica que mostraram depósitos de gordura em hepatócitos, tanto macrovesicular como microvesicular, em 31% a 72% dos pacientes¹⁰⁰⁻¹⁰². Outra condição freqüentemente relacionada com esteatose é o alcoolismo recente, pois a abstinência prolongada cursa com seu desaparecimento. Na nossa casuística, os grupos com alcoolismo leve e acentuado apresentavam abstinência total de seis meses em percentuais baixos, respectivamente 22,2% e 30,2%. Porém, os índices de esteatose nesses grupos foram semelhantes àqueles encontrados no grupo de abstêmios. Finalmente, tem sido descrito que mesmo pequena quantidade de ingestão alcoólica pode ter efeito sinérgico sobre a presença de esteatose na infecção pelo VHC e piorar a progressão de fibrose¹⁰³. Portanto, embora não seja possível afastar totalmente o álcool como fator etiológico da esteatose encontrada, também não é possível afirmá-lo.

Os mecanismos fundamentais para o desenvolvimento da esteatose em pacientes com hepatite pelo VHC não são completamente conhecidos. A esteatose pode ser resultado de alterações no metabolismo lipídico hepático. O consumo de álcool excessivo, drogas, o diabetes e infecções, entre outros fatores, podem interferir com a peroxidação lipídica¹⁰⁴. A infecção do VHC

com genótipo 3 é fator de risco independente para esteatose¹⁰⁵, sugerindo que o próprio VHC possa induzir à esteatose hepática, provavelmente através de efeito específico da proteína “core” do VHC¹⁰⁶. Em nossa casuística, 69,4% dos pacientes com genótipo 3 apresentaram esteatose.

5.5. Enzimas hepáticas e progressão da hepatite C

A avaliação bioquímica dos pacientes com hepatite C é freqüentemente realizada pelos níveis de aminotransferases, pelo fato de serem consideradas marcadoras de lesão hepatocelular. Entretanto, alguns estudos têm relatado que níveis elevados de GGT estão associados a graus mais intensos de fibrose, sugerindo que esta enzima, isoladamente, ou em conjunto a outros testes bioquímicos, possa ter papel de marcador substituto de fibrose¹⁰⁷⁻¹⁰⁹.

Pacientes positivos para o Anti-VHC, confirmados pelo RNA-PCR inicialmente são avaliados pela determinação dos níveis de ALT no soro. Se os valores de ALT estiverem abaixo do LSN, os pacientes serão seguidos e monitorizados a intervalos regulares através das enzimas hepáticas e habitualmente não serão considerados para tratamento antiviral. Entretanto, em casos de ALT normal, como naqueles com ALT elevada, apenas a biópsia do fígado permite avaliação segura de gravidade da lesão hepática.

Caracteristicamente, os níveis das aminotransferases séricas costumam apresentar flutuações durante a evolução da hepatite C crônica e esta variabilidade pode conduzir a interpretações da atividade e gravidade da

doença hepática. A ALT é freqüentemente usada como marcador de dano e inflamação hepáticos, apesar de nem sempre correlacionar com as alterações histopatológicas⁴⁸. No nosso estudo, níveis elevados de ALT foram associados com fibrose, atividade periportal e atividade lobular, quando de sua análise univariada. Estudo de Kronenberger et al.¹¹⁰ demonstrou que pacientes com hepatite C crônica e níveis de aminotransferases normais têm taxas menores de proliferação de hepatócitos e mostram tendência a taxas menores de apoptose, em comparação a pacientes com aminotransferases aumentadas.

Níveis altos tanto de ALT, como de AST e GGT têm sido relacionados com fibrose intensa⁷⁰. Nos nossos pacientes, níveis elevados de AST e GGT, assim como os de ALT, foram estatisticamente significantes com três dos parâmetros histopatológicos: fibrose, atividade inflamatória periportal e atividade inflamatória lobular. Dentre as aminotransferases, entretanto, apenas os níveis de AST foram fatores preditivos independentes de fibrose, atividade inflamatória periportal e atividade inflamatória lobular. A regressão logística permitiu-nos avaliar níveis de sensibilidade e especificidade de alguns parâmetros preditivos de maior evolução para graus acentuados de fibrose. Entre eles a AST e contagem de plaquetas alcançaram níveis elevados, com sensibilidade de 78,8% e especificidade de 71,3%.

Uma das possíveis razões para explicar valores altos de AST poderia ser devido à lesão hepática induzida pelo VHC na fração mitocondrial dos hepatócitos, onde a enzima está presente, sendo indicativa de cronicidade da lesão hepatocelular ou ainda à presença de ingestão

alcoólica⁷², embora as análises comparativas com o grupo de abstinência alcoólica não tenham mostrado diferenças significativas, o que enfraquece esta última hipótese.

5.6. Plaquetas e APRI como fatores preditivos de evolução

Valores baixos da contagem de plaquetas têm sido utilizados para avaliar, de modo não invasivo, a gravidade da doença hepática crônica¹¹¹. A contagem de plaquetas, neste estudo, separou os estágios mais tardios de fibrose tanto quanto o grau de atividade inflamatória. Embora o VHC, por si só, possa estar relacionado a menor número de plaquetas, muitos autores têm tido resultados semelhantes aos nossos^{23,112,113}.

Por outro lado, a análise de regressão logística demonstrou que a contagem de plaquetas foi fator preditivo independente somente para a variável fibrose. Níveis baixos de plaquetas relacionaram-se com fibrose intensa. A origem deste achado poderia estar relacionada com hipertensão portal, cujo baço aumentado promove seqüestro e destruição das plaquetas¹¹⁴. Entretanto, em nossa casuística, a prevalência de cirrose foi baixa e além disso, os nossos casos não apresentavam quaisquer indícios de hipertensão portal.

No sentido de ressaltar a relação oposta entre os níveis elevados de AST e a baixa contagem de plaquetas para determinar o estágio de fibrose, foi recentemente proposto um novo índice denominado “AST to platelet ratio index” (APRI)¹¹⁵. Os resultados de nossa casuística corroboram àqueles

encontrados no estudo original. Além disso, utilizando esse mesmo índice na avaliação de outros parâmetros histopatológicos, verificamos que ele se correlacionou com maior atividade inflamatória periportal e maior consumo alcoólico.

5.7. Carga viral e genotipagem

Várias infecções virais, entre elas a hepatite pelo VHB e a infecção pelo HIV, têm na quantidade de vírus circulante um importante fator de progressão da doença¹¹⁶. De forma semelhante, especula-se que os genótipos possam influir na evolução de uma doença viral¹¹⁷.

A carga viral sérica nos casos de hepatite C, determinada pela quantificação do RNA do VHC, reflete a quantidade de vírus circulante, que pode ou não corresponder à replicação viral. A quantificação do RNA-VHC em tecido hepático poderia ser parâmetro mais fidedigno de replicação viral propriamente dita, o que nos levou a estudar ambas as determinações em nossos pacientes¹¹⁸.

Em pacientes não tratados, a carga viral do VHC costuma manter-se estável por longos períodos, embora possa flutuar em alguns pacientes¹¹⁹. Segundo alguns estudos^{62,120}, a ingestão alcoólica acelera a doença hepática e piora o prognóstico em pacientes com hepatite C, sendo demonstrado que os níveis de carga viral sérica em alcoolismo acentuado foram maiores do que em casos de alcoolismo leve ou eventual³¹. O estudo de Pessione et al.³⁰ também demonstrou aumento significativo da viremia associado a maior

consumo alcoólico, embora esta associação não tenha sido confirmada por outros autores^{87,121}. Comparando os grupos de abstêmios com os dois outros, que já haviam feito uso de álcool, não encontramos qualquer indício de aumento da carga viral sérica. Entretanto, deve-se levar em consideração a grande heterogeneidade desses grupos, em termos de idade, lesão histológica e mesmo alterações laboratoriais. O desvio padrão encontrado demonstra esta heterogeneidade, impossibilitando conclusões em termos de contradizer os dados da literatura.

Quando da análise da carga viral intra-hepática, os dados foram igualmente conflitantes. Rubbia-Brandt et al.¹²² observaram níveis aumentados de carga viral intra-hepática em pacientes infectados pelo genótipo tipo 3 e não pelo genótipo tipo 1. No presente estudo não se encontrou relação entre genótipo e carga viral sérica ou hepática, sugerindo que o nível de replicação do VHC não está relacionado ao genótipo¹²³.

Em conclusão, nossos achados embora não confirmem que a ingestão alcoólica aumenta carga viral, são condizentes com a literatura no que tange à falta de relação entre carga viral ou genótipo e progressão da lesão hepatocelular pelo VHC¹²⁴.

6 CONCLUSÕES

1. Consumo alcoólico não se correlacionou com maiores graus de fibrose, mas com atividade periportal. Esta pode ser considerada marcador precoce de pior evolução, devido ao álcool.
2. Idade mais avançada relacionou-se com gravidade da doença.
3. As enzimas hepáticas (ALT, AST e GGT), na análise univariada, mostraram-se preditivas de lesões histopatológicas mais avançadas.
4. Fatores preditivos independentes de fibrose foram: níveis elevados de AST e níveis baixos de plaquetas.
5. Determinação de carga viral sérica e hepática, assim como do genótipo não se correlacionaram com evolução da hepatite C.

7 REFERÊNCIAS*

* De acordo com: *Vancouver Style (Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals)*. Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com: *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

1. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*. 1989;244:359-62.
2. Liang TJ, Reherman B, Seeff LB, Hoofnagle JH. Pathogenesis, natural history, treatment and prevention of hepatitis C. *Ann Intern Med*. 2000;132:296-305.
3. Conceição OJG, Sette Jr H, Sabino E, Bassit L, Nitrini DR, Lomar AV, Lorenço R, Souza FV, Kiffer CRV, Santos EB, Gonzales MP, Sáez-Alquézar A, Riscal JR, Chamone DAF. Estimated prevalence of viral hepatitis in the general population of the municipality of São Paulo, measured by a serologic survey of a stratified, randomized and residence-based population. *Brazilian Journal of Infections Diseases*. 2:269-84.
4. Gordon SC, Eloway RS, Long JC, Dumchowski CF. The pathology of hepatitis C as a function of transmission: blood transfusion versus intravenous drug abuse. *Hepatology*. 1993;18:1338-43.
5. Tong MJ, El-Farre NS, Reikes AR, Co TL. Clinical outcomes after transfusion associated hepatitis C. *N England J Med*. 1995;332:1463-6.
6. Kiyosawa K, Sodeyama T, Tanaka E, Gibo Y, Yoshizawa K, Nakano Y, Furuta S, Akahane Y, Nishioka K, Purcell H. Interrelationship of blood transfusion, NANB hepatitis and hepatocellular carcinoma: analysis by detection of antibody to hepatitis C virus. *Hepatology*. 1990;12 (4 pt 1):671-5.

7. Yano M, Kumada H, Kage M, Ikeda K, Shimamatsu K, Inoue O, Hashimoto E, Lefkowitz JH, Ludwig J, Okuda K. The long-term pathological evolution of chronic hepatitis C. *Hepatology*. 1996;23:1334-40.
8. Niederau C, Lange S, Heintges T, Erhardt A, Buschkamp M, Hurter D, Nawrocki M, Kruskal L, Hensel F, Petriy W, Haussinger D. Prognosis of chronic hepatitis C: results of a large prospective cohort study. *Hepatology*. 1998;28:1687-95.
9. Di Bisceglie AM, Goodman ZD, Ishak KG, Hoofnagle JH, Melpolder JJ, Alter HJ. Long-term clinical and histopathological follow-up of chronic post-transfusion hepatitis. *Hepatology*. 1991;14:969-74.
10. Tremolada F, Cassin C, Alberti A, Drago C, Tagger A, Ribero ML, Realdi G. Long-term follow-up of NANB (type C) post-transfusion hepatitis. *J Hepatol*. 1992;16:273-81.
11. Koretz RL, Abbey H, Coleman E, Gitnick G. NANB post-transfusion hepatitis: looking back on the second decade. *Ann Intern Med*. 1993;119:110-5.
12. Mattson L, Sonnerborg A, Weiland O. Outcome of acute asymptomatic NANB hepatitis: a 13-year follow-up study of hepatitis C virus markers. *Liver*. 1993;13:274-8.
13. National Institutes of Health Consensus Development. Conference statement: management of hepatitis C: 2002 - June 10-12, 2002. *Hepatology*. 2002;36 (5,suppl 1):S3-S14.

14. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C in the West. *Semin Liver Dis.* 1995;15(1):5-14.
15. Thomas DL, Zenilman JM, Alter HJ, Shih JW, Galai N, Carella AV, Quinn TC. Sexual transmission of hepatitis C virus among patients attending sexually transmitted diseases clinics in Baltimore - an analysis of 309 sex partnerships. *J Infect Dis.* 1995;171(4):768-75.
16. Wasley A, Alter MJ. Epidemiology of Hepatitis C: geographic differences and temporal trends. *Semin Liver Dis.* 2000;20(1):1-16.
17. Roudot-Thoraval F, Bastie A, Pawlotsky J-M, Dhumeaux D, and the Study Group for the prevalence and the epidemiology of hepatitis C virus. *Hepatology.* 1997;26(2):485-90.
18. Fernandes HS. *Avaliação do anticorpo contra o vírus da hepatite C em doadores de sangue* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo;1998.
19. Kobayashi M, Tanaka E, Sodeyama T, Urushihara A, Matsumoto A, Kiyosawa K. The natural course of chronic hepatitis C: a comparison between patients with genotypes 1 and 2 hepatitis C viruses. *Hepatology.* 1996;23:695-9.
20. Tassopoulos NC, Papatheodoridis GV, Katsoulidou A, Delladetsima JK, Sypsa V, Touloumi G, Nikandros M, Hatzakis A. Factors associated with severity and disease progression in chronic hepatitis C. *Hepatogastroenterology.* 1998;45:1678-83.

21. Silini E, Bottelli R, Asti M, Bruno S, Candusso ME, Brambilla S, Bono F. Hepatitis C virus genotypes and risk of hepatocellular carcinoma in cirrhosis: a case control study. *Gastroenterology*. 1996;111:199-205.
22. Dusheiko G, Schmilovitzweiss H, Brown D, McOmish F, Yap PL, Sherlock S, McIntyre N, Simmonds P. Hepatitis C virus genotypes – an investigation of type-specific differences in geographic origin and disease. *Hepatology*. 1994;19:13-8.
23. Poynard T, Bedossa P, Opolon P, for the OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet*. 1997;349:825-32.
24. Wiese M, Berr F, Lafrenz M, Porst H, and UTE OESEN for the East German hepatitis C study group. Low frequency of cirrhosis in a hepatitis C (genotype 1b) single-source outbreak in Germany: a 20-year multicenter study. *Hepatology*. 2000;32:91-6.
25. Adinolfi LE, Utili R, Andreana A, Tripodi F, Marracino M, Gambardella M, Giordano M, Ruggiero G. Serum HCV RNA levels correlate with histological liver damage and concur with steatosis in progression of chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci*. 2001;46(8):1677-83.
26. Anand BS, Velez M. Assessment of correlation between serum titers of hepatitis C virus and severity of liver disease. *World J Gastroenterol*. 2004;10(16):2409-11.
27. Romero-Gomez M, Grande L, Nogales MC, Fernandez M, Chavez M, Castro M. Intrahepatic hepatitis C virus replication is increased in

- patients with regular alcohol consumption. *Dig Liver Dis.* 2001;33:698-702.
28. Bellentani S, Pozzato G, Saccoccio G, Crovatto M, Croce LS, Mazzoran L, Masutti F, Cristianini G, Tiribellei C. Clinical course and risk factors of hepatitis C virus related liver disease in the general population: report from the Dionysos study. *Gut.* 1999;44:874-80.
 29. Khan KN, Yatsunami H. Effect of alcohol consumption on the progression of hepatitis C virus infection and risk of hepatocellular carcinoma in Japanese patients. *Alcohol Alcohol.* 2000;35:286-95.
 30. Pessione F, Degos F, Marcellin P, Duchetelle V, Njapoum C, Martinot-Peignoux M, Degott C, Valla D, Erlinger S, Rueff B. Effect of alcohol consumption on serum hepatitis C virus RNA and histological lesions in chronic hepatitis C. *Hepatology.* 1998;27:1717-22.
 31. Oshita M, Hayashi N, Kasahara A, Hagiwara H, Mita E, Naito M, Katayama K, Fusamoto H, Kamada T. Increased serum hepatitis C virus RNA levels among alcoholic patients with chronic hepatitis C. *Hepatology.* 1994;20:1115-20.
 32. Cromie SL, Jenkins PJ, Bowden DS, Dudley FJ. Chronic hepatitis C: effect of alcohol on hepatitic activity and viral titre. *J Hepatol.* 1996;25:821-6.
 33. Forns X, Purcell RH, Bukh J. Quasispecies in viral persistence and pathogenesis of hepatitis C virus. *Trends Microbiol.* 1999;7(10):402-10.
 34. Naito M, Hayashi N, Moribe T, Hagiwara H, Mita E, Kanazawa Y, Kasahara A, Fusamoto H, Kamada T. Hepatitis C viral quasispecies in

- hepatitis C virus carriers with normal liver enzymes and patients with type C chronic liver disease. *Hepatology*. 1995;22:407-12.
35. Yuki N, Hayashi N, Moribe T, Matsushita Y, Tabata T, Inoue T, Kanazawa Y, Ohkawa K, Kasahara A, Fusamoto H, Kamada T. Relation of disease activity during chronic hepatitis C infection to complexity of hypervariable region 1 quasispecies. *Hepatology*. 1997;25:439-44.
 36. Leone F, Zylberberg H, Squadrito G, Le Guen B, Berthelot P, Pol S, Brechot C. Hepatitis C virus (HCV) hypervariable region 1 complexity does not correlate with severity of liver disease, HCV type, viral load or duration of infection. *J Hepatol*. 1998;29:689-94.
 37. Pawlotsky JM, Pellerin M, Bouvier M, Roudot-Thoraval F, Germanidis G, Bastie A, Darthuy F, Remire J, Soussy CJ, Dhumeaux D. Genetic complexity of the hypervariable region 1(HVR 1) of hepatitis C virus. Influence on the characteristics of the infection and the response to alpha-interferon therapy in patients with chronic hepatitis C. *J Med Virol*. 1998;54:256-64.
 38. Farci P, Shimoda A, Coiana A, Diaz G, Peddis G, Melpolder JC, Strazzera A, Chien DY, Munoz SJ, Balestrieri A, Purcell RH, Alter HJ. The outcome of acute hepatitis C predicted by the evolution of the viral quasispecies. *Science*. 2000;288:339-44.
 39. Seeff LB, Miller RN, Rabkin CS, Buskell-Bales Z, Straley-Eason KD, Smoak BL, Johnson LD, Lee SR, Kaplan EL. 45-year follow-up of

- hepatitis C virus infection in healthy young adults. *Ann Inter Med.* 2000;132:105-11.
40. Wright M, Goldin R, Fabre A, Lloyd J, Thomas H, Trepo C, Pradat P, Thursz M, HENCORE collaboration. Measurement and determinants of the natural history of liver fibrosis in hepatitis C virus infection: a cross sectional and longitudinal study. *Gut.* 2003;52(4):574-9.
 41. Makinodan T, Kay MMB. Age influence on the immune system. *Adv Immunol.* 1980;29:287-91.
 42. Kenny-Walsh E, for the Irish Hepatology Research Group. Clinical outcomes after hepatitis C infection from contaminated anti-D immune globulin. *N Engl J Med.* 1999;340:1228-33.
 43. Sasaki N, Matsui A, Momoi M, Tsuda F, Okamoto H. Loss of circulating hepatitis C virus in children who developed a persistent carrier state after mother-to-baby transmission. *Pediatr Res.* 1997;42:263-7.
 44. Vogt M, Lang T, Frosner G, Klingler C, Sendl AF, Zeller A, Wiebecke B, Langer B, Meisner H, Hess J. Prevalence and clinical outcome of hepatitis C infection in children who underwent cardiac surgery before the implementation of blood donor screening. *N Engl J Med.* 1999;341:866-70.
 45. Bellentani S, Tiribelli C. The spectrum of liver disease in the general population: lesson from the Dionysos study. *J Hepatol.* 2001;35:531-7.
 46. Alter MJ, Kniszon-Moran D, Nainan OV, McQuillan GM, Gao F, Moyer LA, Kaslow RA, Margolis HS. The prevalence of hepatitis C virus

- infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med.* 1999;341:556-62.
47. Jove J, Sanchez-Tapias JM, Bruguera M, Mas A, Costa J, Barrara JM, Rodes J. Post-transfusional vs. Sporadic non-A, non-B chronic hepatitis. A clinico-pathological and evolutive study. *Liver.* 1988;8(1):42-7.
 48. Alter MJ, Margolis HS, Krawczynski K, Judson FN, Mares A, Alexander WJ, Hu PY, Miller JK, Gerber MA, Sampliner RE. The natural history of community-acquired hepatitis C in the United States. *N Engl J Med.* 1992;327:1899-1905.
 49. Gordon SC, Elloway RS, Long JC, Dmuchowski CF. The pathology of hepatitis C as a function of mode of transmission: blood transfusion vs. intravenous drug use. *Hepatology.* 1993;18:1338-43.
 50. Gordon SC, Bayati N, Silverman AL. Clinical outcome of hepatitis C as a function of mode of transmission. *Hepatology.* 1998;28:562-7.
 51. Poynard T, Ratzu V, Charlotte F, Goodman Z, McHutchison J, Albrecht J. Rates and risk factors of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2001;34:730-9.
 52. Jonas MM, Baron MJ, Bresee JS, Schneider LC. Clinical and virologic features of hepatitis C virus infection associated with intravenous immunoglobulin. *Pediatrics.* 1996;98:211-5.
 53. Bjoro K, Froland SS, Yun Z, Samdal HH, Haaland T. Hepatitis C infection in patients with primary hypogammaglobulinemia after

- treatment with contaminated immune globulin. *N Engl J Med*. 1994;331:1607-11.
54. Badizadegan K, Jonas MM, Ott MJ, Nelson SP, Perez-Atayde AR. Histopathology of the liver in children with chronic hepatitis C viral infection. *Hepatology*. 1998;28:1416-23.
55. Christie JML, Healey CJ, Watson J, Wong VS, Duddridge M, Snowden N, Rosenberg WMC, Fleming KA, Chapel H, Chapman RWG. Clinical outcome of hypogammaglobulinaemic patients following outbreak of acute hepatitis C: 2 year follow-up. *Clin Exp Immunol*. 1997;110:4-8.
56. Benhamou Y, Bochet M, Di Martino V, Charlotte F, Azria F, Coutellier A, Vidaud M, Bricaire F, Opolon P, Katlama C, Poinard T. Liver fibrosis progression in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus infected patients. *Hepatology*. 1999;30:1054-8.
57. Tsai JF, Jeng JE, Ho MS, Chang WY, Lin ZY, Tsai JH. Independent and additive effect modification of hepatitis B and C virus infection on the development of chronic hepatitis. *J Hepatol*. 1996;24:271-6.
58. Smith BC, Grove J, Guzail MA, Day CP, Daly AK, Burt AD, Bassendine MF. Heterozygosity for hereditary hemochromatosis is associated with more fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 1998;27:1695-99.
59. Ortiz V, Berenguer M, Rayón JM, Carrasco D, Berenguer J. Contribution of obesity to hepatitis C-related fibrosis progression. *Am J Gastroenterol*. 2002;97:2408-14.
60. 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;29:1215-9.
61. Corrao G, Aricò S. Independent and combined action of hepatitis C virus infection and alcohol consumption on the risk of symptomatic liver cirrhosis. *Hepatology*. 1998;27:914-9.
 62. Ostapowicz G, Watson KJR, Locarnini SA, Desmond PV. Role of alcohol in the progression of liver disease caused by hepatitis C virus infection. *Hepatology*. 1998;27(6):1730-5.
 63. Donato F, Tagger A, Gelatti U, Parrinello G, Boffetta P, Decarli A, Trevisi P, Ribero ML, Martelli C, Porru S, Nardi G. Alcohol and hepatocellular carcinoma: the effect of lifetime intake and hepatitis virus infections in men and women. *Am J Epidemiol*. 2002;155(4):323-31.
 64. Patek Jr AL, Toth IG, Saunders MG, Castro GA, Engel JJ. Alcohol and dietary factors in cirrhosis. An epidemiological study of 304 alcoholic patients. *Arch Inter Med*. 1975;135(8):1053-7.
 65. Khan MH, Thomas L, Byth K, Kench J, Wetman M, George J, Liddle C, Farrell GC. How much does alcohol contribute to the variability of hepatic fibrosis in chronic hepatitis C? *J Gastroenterol Hepatol*. 1998;13(4):419-26.
 66. Marcellin P, Asselah T, Boyer N. Fibrosis and disease progression in hepatitis C. *Hepatology*. 2002;36:S47-S56.

67. Poynard T, Bedossa P. Age and platelet count: a simple index for predicting the presence of histological lesions in patients with antibodies to hepatitis C virus. METAVIR and CLINIVIR Cooperative Study Groups. *J Viral Hepat.* 1997;4(3):199-208.
68. Mathurin P, Moussalli J, Cadranel J-F, Thibault V, Charlotte F, Dumouchel P, Cazier A, Huraux J-M, Devergie B, Vidaud M, Opolon P, Poynard T. Slow progression rate of fibrosis in hepatitis C virus patients with persistently normal alanine transaminase activity. *Hepatology.* 1998;27:868-72.
69. Persico M, Persico E, Suozzo R, Conte S, De Seta M, Coppola L, Palmentieri B, Sasso FC, Torella R. Natural history of hepatitis C virus carriers with persistently normal aminotransferase levels. *Gastroenterology.* 2000;118:760-4.
70. Ghany MG, Kleiner DE, Alter H, Doo E, Khokar F, Promrat K, Herion D, Park Y, Liang TJ, Hoofnagle JH. Progression of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology.* 2003;124:97-104.
71. Pradat P, Alberti A, Poynard T, Esteban J-I, Weiland O, Marcellin P, Badalamenti S, Trépo C. Predictive value of ALT levels for histologic findings in chronic hepatitis C: A European Collaborative Study. *Hepatology.* 2002;36:973-7.
72. Assy N, Minuk GY. Serum aspartate but not alanine aminotransferase levels help to predict the histological features of chronic hepatitis C viral infections in adults. *Am J Gastroenterol.* 2000;95(6):1545-50.

73. Danta M, Dore GJ, Henessy L, Li Y, Vickers CR, Harley H, Ngu M, Reed W, Desmond PV, Sievert W, Farrell GC, Kaldor JM, Batey RG. Factors associated with severity of hepatic fibrosis in people with chronic hepatitis C infection. *Med J Aust.* 2002;177(5):240-5.
74. Giannini E, Botta F, Fasoli A, Romagnoli P, Mastracci L, Ceppa P, Comino I, Pasini A, Risso D, Testa R. Increased levels of gammaGT suggest the presence of bile duct lesions in patients with chronic hepatitis C: absence of influence of HCV genotype, HCV-RNA serum levels, and HGV infection on this histological damage. *Dig Dis Sci.* 2001;46:524-9.
75. Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, Charlotte F, Benhamou Y, Poynard T, Multivirc Group. Biochemical markers of liver fibrosis in patients C virus infection: a prospective study. *Lancet.* 2001;357:1069-75.
76. Olaso V, Cordoba J, Siles MS, Molina JM, Esteban RJ, Garijo R, Mora J, Nicolas D, Gobernado M, Berenguer J, Segovia M. ROC curve analysis of factors predictive of non-response to interferon treatment in patients with chronic hepatitis C, genotype 1. *Rev Esp Quimioter.* 2000;13:51-9.
77. Ebeling F, Lappalainen M, Vuoristo M, Nuutinen H, Leino R, Karvonen AL, Lehtola J, Julkunen R, Pohjanpelto P, Farkkila M. Factors predicting interferon treatment response in patients with chronic hepatitis C: late viral clearance does not preclude a sustained response. *Am J Gastroenterol.* 2001;96:1237-42.

78. Gayotto LCC e Comitê SBP/SBH. Visão histórica e consenso nacional sobre a classificação das hepatites crônicas. *GED*. 2000;19(3):137-40.
79. De Groote J, Desmet VJ, Gedigk P, Korb G, Popper H, Poulsen H, Scheuer PJ, Schmid M, Thaler H, Uehlinger E. A classification of chronic hepatitis. *Lancet*. 1968;2:626-8.
80. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, Kiernan TW, Wollman J. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology*. 1981;1:431-5.
81. Bedossa P, Poynard T for the METAVIR Cooperative Study Group. An Algorithm for activity in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 1996;24:289-93.
82. Wajchenberg BL. *Tratado de endocrinologia clínica*. São Paulo, Roca:1992. Cap. 18, p.914.
83. Strauss E. Doença Hepática Alcoólica – Diagnóstico a apresentação clínica. In: Gayotto LCC, Alves VAF, editores. *Doenças do Fígado e Vias Biliares*. São Paulo: Atheneu;2001. p690-8.
84. Khakoo SI, Soni PN, Savage K, Brown D, Dhillon AP, Poulter LW, Dusheiko GM. Lymphocyte and macrophage phenotypes in chronic hepatitis C infection: correlation with disease activity. *Am J Pathol*. 1997;150:963-70.
85. Poynard T, Ratzu 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.

86. Peters MG, Terrault NA. Alcohol use and hepatitis C. *Hepatology*. 2002;36:S220-S225.
87. Wiley TE, McCarthy M, Breidi L, McCarthy M, Layden T. Impact of alcohol on the histological and clinical progression of hepatitis C infection. *Hepatology*. 1998;28:805-9.
88. Maddrey WC. Alcoholic hepatitis: clinicopathologic features and therapy. *Semin Liver Dis*. 1988;8:91-102.
89. Hall P de la M. Alcoholic liver disease. In: Mac Sween RNM, Anthony PP, Scheuer PJ, Portmann BC, Burt AD, editores. *Pathology of the Liver*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1994.
90. Kleiner DE, Pathology of hepatitis C. In: Liang TJ, Hoofnagle JH. editors. *Hepatitis C*. San Diego: Academic Press; 2000. p.107-124.
91. Blume SB. Women and alcohol. *JAMA*. 1986;256(11):1467-70.
92. Fong TL, Kanel GC, Conrad A, Valinluck B, Charboneau F Adkins RH. Clinical significance of concomitant hepatitis C infection in patients with alcoholic liver disease. *Hepatology*. 1994;19(3):554-7.
93. Mendenhall CL, Moritz T, Rouster S, Roselle G, Polito A, Quan S, Dinelle RK. Epidemiology of hepatitis C among veterans with alcoholic liver disease. The VA Cooperative Study Group 275. *Am J Gastroenterol*. 1993;88(7):1022-6.
94. MacGregor RR. Alcohol and immune defense. *JAMA*. 1986;256(11):1474-9.
95. Cook RT. Alcohol abuse, alcoholism, and damage to the immune system-a review. *Alcohol Clin Exp Res*. 1998;22(9):1927-42.

-
96. Lo Iacono O, DeCastro M, Garcia-Buey L, Garcia-Monzon C, Borque MJ, Sanz P, Garcia-Sanchez A, Moreno-Otero R. Epidemiological risk factors and clinico-pathological presentation in chronic hepatitis C. *Hepato-Gastroenterol.* 1998;45:1715-21.
 97. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology.* 1994;19(6):1513-20.
 98. Thomas DL, Astemborski J, Rai RM, Anania FA, Schaeffer M, Galai N, Nolt K, Nelson KE, Strahdee SA, Johnson L, Laeyendecker O, Boitnott J, Wilson LE, Vlahov D. The natural history of hepatitis C virus infection. Host, viral, and environmental factors. *JAMA.* 2000;284(4):450-6.
 99. Rodger AJ, Roberts S, Lanigan A, Bowden S, Brown T, Crofts N. Assessment of long-term outcomes of community-acquired hepatitis C infection in a cohort with sera stored from 1971 to 1975. *Hepatology.* 2000;32:582-7.
 100. Scheuer PJ, Ashrafzadeh P, Sherlock S, Brown D, Dusheiko GM. The pathology of hepatitis C. *Hepatology.* 1992;15:567-71.
 101. Bach N, Thung SN, Schaffner F. The histological features of chronic hepatitis C and autoimmune chronic hepatitis C: a comparative analysis. *Hepatology.* 1992;15:572-7.

-
102. Lefkowitz JH, Schiff ER, Davis RL, Perrillo RP, Lindsay K, Bodenheimer HC Jr, Balart LA, Ortego TJ, Payne J, Dienstag JL. Pathological diagnosis of chronic hepatitis C : a multicenter comparative study with chronic hepatitis B. *Gastroenterology*. 1993;104:595-603.
103. Serfaty L, Poujol-Robert A, Carbonell N, Chazouillères O, Poupon RE, Poupon R. Effect of the interaction between steatosis and alcohol intake on liver fibrosis progression in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol*. 2002;97:1807-12.
104. Czaja AJ, Carpenter A, Santrach PJ, Moore SB. Host and disease-specific factors affecting steatosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 1998;29:198-206.
105. Mihm S, Fayyazi A, Hartmann H, Ramadori G. Analysis of histopathological manifestations of chronic hepatitis C virus infection with respect to virus genotype. *Hepatology*. 1997;25:735-9.
106. Moriya K, Yotsuyanagi H, Shintani Y, Fujie H, Ishibashi K, Matsuura Y, Miyamura T, Koike K. Hepatitis C virus core protein induces hepatic steatosis in transgenic mice. *J Gen Virol*. 1997;78:1527-31.
107. Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, Charlotte, Benhamou Y, Poynard T and The MULTIVIRC group. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *The Lancet*. 2001;357:1069-75.
108. Poynard T, Imbert-Bismut F, Ratziu V, Chevret S, Jardel C, Moussalli J, Messous D, Degos F, GERMED cyt04 group. Biochemical markers of

- liver fibrosis in patients infected by hepatitis C virus:longitudinal validation in a randomized trial. *J Viral Hepatol.* 2002;9:128-33.
109. Silva IS, Ferraz ML, Perez RM, Lanzoni VP, Figueiredo VM, Silva AE. Role of gamma-glutamyl transferase activity in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Gastroenterol Hepatol.* 2004;19(3):314-8.
110. Kronenberger B, Ruster B, Lee JH, Sarrazin C, Roth WK, Hermann G, Zeuzem S. Hepatocellular proliferation in patients with chronic hepatitis C and persistently normal or abnormal aminotransferase levels. *J Hepatol.* 2000;33(4):640-7.
111. Pohl A, Behling C, Oliver D, Kilani M, Monson P, Hassanein T. Serum aminotransferase levels and platelet counts as predictors of degree of fibrosis in chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol.* 2001;96(11):3142-6.
112. Bauduer F, Marty F, Larrouy M, Ducout L. Immunologic thrombocytopenic purpura as presenting symptom of hepatitis C infection. *Am J Hematol.* 1998;57(4):338-40.
113. Streiff MB, Mehta S, Thomas DL. Peripheral blood count abnormalities among patients with hepatitis C in the United States. *Hepatology.* 2002;35(4):947-52.
114. Aster R. Pooling of platelets in the spleen: role in the pathogenesis of "hypersplenic" thrombocytopenia. *J Clin Invest.* 1996;45:645-57.
115. Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, Lok AS. A simple noninvasive index can predict both

- significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;38:518-26.
116. Fattovich G. Natural history and prognosis of hepatitis B. *Sem Liver Dis* 2003;23:47-58.
117. Boyer N, Marcellin P. Pathogenesis, diagnosis and management of hepatitis C. *J Hepatol* 2000; 32 (suppl 1): 98-12.
118. Pawlotsky J-M. Hepatitis C: viral markers and quasispecies. In: Liang TJ, Hoofnagle JH. Editor. *Hepatitis C*. San Diego: Academic Press; 2000. p.25-52.
119. Nguyen TT, Sedghi-Vaziri A, Wilkes LB, Mondala T Pockros PJ, Lindsay KL, McHutchison JG. Fluctuations in viral load (HCV-RNA) are relatively insignificant in untreated patients with chronic HCV infection. *J Viral Hepat*. 1996;3:75-8.
120. Smith BC, Chapman CE, Burt AD, Toms GL, Bassendine MF. Outcome of post-transfusion hepatitis C: disease severity in blood-component recipients and their implicated donors. *QJM* 1997;90(9):587-92.
121. Tamai T, Seki T, Shiro T, Nakagawa T, Wakabayashi M, Imamura M, Nishimura A, Yamashiki N, Takasu M, Inoue K, Okamura A. Effects of alcohol consumption on histological changes in chronic hepatitis C: a clinicopathological study. *Alcohol Clin Exp Res*. 2000;24(4):1065-115.
122. Rubbia-Brandt L, Quadri R, Abid K, Giostra E, Male PJ, Mentha G, Spahr L, Zarski JP, Bonsch B, Hadengue A, Negro F. Hepatocyte steatosis is a cytopathic effect of hepatitis C virus genotype 3. *J Hepatol*. 2000;33:106-15.

123. Martinot-Peignoux M, Marcellin P, Gournay J, Gabriel F, Courtois F, Branger M, Wild AM, Erlinger S, Benhamou JP. Detection and quantitation of serum HCV-RNA by branched DNA amplification in anti-HCV positive blood donors. *J Hepatol.* 1994;20:676-8.
124. Yamada M, Kakumu S, Yshioka K, Higashi Y, Tanada K, Ishikawa T, Kakayanagi M. Hepatitis C virus genotypes are not responsible for development of serious liver disease. *Dig Dis Sci* 1994;39:234-9.

APÊNDICES



Nome:				HC-Rg:	
Idade:	Sexo: M () F ()	Estado civil: S () C () O ()	Profissão:		
Naturalidade:				Data nascimento:	
Endereço:				nº	apto
Bairro:	CEP:	Cidade:	UF:		
Fone:	Res () Com () Recado () :				
Anamnese: / /					
Fatores de risco :					
Transfusão sanguínea:	Não () Sim ()	quando:			
Drogas IV/ Inalatórias:	Não () Sim ()	quando:			
Tatuagem:	Não () Sim ()	quando:			
Acupuntura:	Não () Sim ()	quando:			
Contato com Hepatite:	Não () Sim ()	obs:			
Trabalho na área Saúde:	Não () Sim ()	obs:			
Tratamento dentário:	Não () Sim ()	quando:			
Cirurgias:	Não () Sim ()	quando:			
Atividade sexual:	Hetero () Homo ()	Nº de parceiros/ano:			
Etilismo:	Não () Sim ()				
Tempo de ingesta:	Interrupção:	g/dia de etanol puro			
Cardiopatía prévia:	Não () Sim ()	obs:			
Antecedentes Familiares:					
Outras doenças:					
Exame Físico :					
Estado geral:	B () R () M ()	Peso:	Altura:	IMC:	
Nutrição:	B () R () M ()	PA:	x	Pulso :	
Eritema Palmar:	Sim () Não ()	Spiders	Sim () Não ()		
Fígado:	cm RCD	Normal ()	Endurecido ()		
	cm AX	Ascite:	(1 a 4+)		
Baço	cm RCE	Edemas:	(1 a 4+)		
Outros achados:					
Exames Diagnósticos : N = negativo, P = positivo, NR = não realizado					
(/ /)	Anti-VHC:	N () P ()	Método:	CO/DO:	GENÓTIPO:
(/ /)	Imunoblot:	NR () N () P ()	Frações:	-----	
(/ /)	RNA VHC:	Método:			
(/ /)	RNA VHC:				
(/ /)	AgHBs :	AntiHBs:	AntiHBcIgG:	CO/DO	
AghBe:	AntiHBe:	DNA VHB (/ /):			
(/ /)	Anti-HIV:	Auto Anticorpos (/ /): AAN:			
AML:	AMFR-1:				
US Abdome (/ /):					
Biópsia Hepática Nº					
	Data:	/ /	Diagnóstico:		
Alter.Estruturais:	Inf.Portal:	Ativ.Periportal:	Ativ.Lob.:		
Marcadores Etiológicos:					

GRUPO ABSTÊMIO

Nº	Nome	Sexo	Idade	T Contam/a	IMC	Trans- fusão	Droga	Cirurgia
1	RMDN	F	20	10	21,0	1990	-	-
2	MAS	F	47	14	24,8	1987	-	-
3	MMAA	F	61	36	29,3	1964	-	-
4	AD	F	25	7	17,9	1993	-	-
5	CSC	M	28	-	24,9	-	-	-
6	LJSB	F	40	21	27,1	1980	-	-
7	NK	M	47	-	24,7	-	-	-
8	RDC	F	35	-	28,1	-	-	-
9	RGS	M	19	-	26,8	-	-	-
10	SMO	F	52	25	22,9	-	-	1976
11	LTGS	F	42	-	28,1	-	-	-
12	ARM	M	39	25	26,4	1976	-	-
13	MLFF	F	49	13	33,5	-	-	1988
14	JM	M	32	17	24,8	-	-	-
15	MPP	F	50	18	30,4	-	-	1983
16	MRN	F	54	18	25,4	-	-	1983
17	GAC	F	38	22	29,7	1979	-	-
18	MYRM	F	56	24	24,5	1977	-	-
19	ISJ	M	40	21	28,3	-	-	-
20	RFSP	F	41	17	21,7	-	-	1984
21	ECFi	M	36	21	22,5	-	1980	-
22	AM	M	61	10	28,8	1991	-	-
23	MO	F	32	-	22,9	-	-	-
24	WRP	F	39	31	22,3	1970	-	-
25	BAS	M	32	19	21,7	1982	-	-
26	SCN	M	30	19	20,8	1982	-	-
27	BAC	F	43	23	24,0	-	-	1978
28	RPV	M	53	-	26,0	-	-	-
29	ARRi	F	52	28	27,5	1973	-	-
30	JND	F	51	22	27,0	1979	-	-
31	ADV	M	20	19	19,0	1982	-	-
32	HBSJ	M	26	2	25,0	-	2000	-
33	FGS	M	27	-	23,0	-	-	-
34	CASV	F	53	22	23,0	-	-	1979
35	WRP	M	45	19	28,0	-	-	1982
36	ACT	M	24	24	21,0	1977	-	-
37	MDVBS	F	55	24	27,0	-	-	1978
38	WSJ	F	59	41	26,0	-	-	1961
39	MJSS	F	39	10	37,1	-	-	1992
40	JVN	F	38	-	22,2	-	-	-
41	MFA	M	46	12	23,1	1989	-	-

GRUPO ABSTÊMIO

Nº	Nome	Fibrose	APP	Ativ. Lobular	Infilt. Portal
1	RMDN	1	1	1	1
2	MAS	2	2	2	2
3	MMAA	1	3	2	3
4	AD	1	1	1	1
5	CSC	1	0	1	1
6	LJSB	1	2	2	2
7	NK	3	3	3	3
8	RDC	1	1	1	2
9	RGS	1	1	1	2
10	SMO	2	2	2	2
11	LTGS	0	1	1	3
12	ARM	1	1	1	1
13	MLFF	4	3	3	3
14	JM	2	3	4	3
15	MPP	3	3	3	2
16	MRN	4	4	4	3
17	GAC	3	3	3	4
18	MYRM	1	3	2	3
19	ISJ	0	2	2	3
20	RFSP	0	1	2	3
21	ECFi	1	2	2	2
22	AM	4	-	-	-
23	MO	3	2	3	2
24	WRP	3	3	2	2
25	BAS	1	2	1	2
26	SCN	1	0	0	0
27	BAC	3	3	-	2
28	RPV	3	3	2	3
29	ARRi	3	2	2	2
30	JND	1	1	1	1
31	ADV	1	2	1	2
32	HBSJ	1	1	1	1
33	FGS	1	2	2	2
34	CASV	2	3	3	2
35	WRP	2	2	2	2
36	ACT	1	2	1	2
37	MDVBS	1	3	2	2
38	WSJ	1	2	2	2
39	MJSS	1	2	2	2
40	JVN	1	3	2	3
41	MFA	2	3	2	3

GRUPO CONSUMO ALCOÓLICO LEVE

Nº	Nome	Sexo	Idade	Trans-fusão	Droga	Cirurgia	Tinfecção /a	IMC
1	MVS	M	21	-	-	-	-	26,1
2	ALO	M	45	-	-	-	-	27,6
3	GS	M	47	-	-	-	-	32,3
4	LFMO	M	41	-	GE/IV	1987	20	31,0
5	MSS	M	37	-	-	-	-	29,6
6	PPCD	M	39	-	-	-	-	25,5
7	GPL	M	35	-	1990	1982	11	23,2
8	JRP	F	21	-	-	-	-	20,6
9	RS	M	45	-	-	1980	21	30,8
10	ZMS	F	39	1984	-	-	17	24,0
11	CTAC	M	25	-	-	1989	12	24,7
12	HSGM	M	18	-	-	-	-	22,8
13	RCO	M	22	1979	-	-	22	33,6
14	DAS	F	25	-	-	-	-	27,7
15	EPB	M	23	1979	-	-	22	21,0
16	ZBP	F	56	1981	-	-	20	27,0
17	FGO	M	35	-	-	-	-	23,0
18	JTF	M	44	-	-	-	-	24,0
19	MB	M	34	-	1992	-	10	30,0
20	JTS	M	47	-	-	1992	10	29,7
21	VFM	M	32	-	1987	-	15	23,0
22	CN	F	35	-	-	-	-	30,0
23	VCS	M	48	-	-	-	-	32,2
24	ERAR	F	29	-	-	1989	13	23,0
25	PFS	M	31	-	-	-	17	23,8
26	LPS	F	60	-	-	1979	23	20,9
27	SRVS	F	39	1981	-	-	21	27,9
28	JSAL	M	37	-	-	-	-	22,0
29	IGB	M	30	-	-	1997	5	20,5
30	NAG	M	30	-	-	1999	3	24,3
31	CJF	M	41	-	1978	1981	24	22,4
32	SJL	F	51	-	-	1973	29	29,4
33	ACN	M	42	-	1982	-	20	27,3
34	RMS	F	27	-	-	1996	6	18,4
35	JMS	M	52	-	-	2000	2	22,4
36	MRRF	F	40	1980	-	-	22	26,0

GRUPO CONSUMO ALCOÓLICO LEVE

Nº	Nome	g/etanol	T. etanol/a	Fibrose	APP	Ativ. lobular	Infilt. portal
1	MVS	10,0	3	1	0	1	1
2	ALO	19,2	21	1	2	2	2
3	GS	37,7	5	3	2	2	3
4	LFMO	33,6	16	1	2	2	2
5	MSS	10,0	5	1	1	1	2
6	PPCD	38,4	10	1	1	1	2
7	GPL	37,8	4	3	2	3	3
8	JRP	10,0	10	0	1	0	1
9	RS	12,9	5	1	2	2	2
10	ZMS	10,0	10	3	3	3	3
11	CTAC	10,0	5	1	2	3	3
12	HSGM	10,0	2	0	0	2	1
13	RCO	39,6	5	1	2	2	2
14	DAS	10,0	5	1	2	2	2
15	EPB	10,0	5	1	2	2	3
16	ZBP	10,0	30	2	2	1	2
17	FGO	10,0	3	1	2	2	2
18	JTF	39,5	10	1	2	2	2
19	MB	21,12	15	3	2	3	2
20	JTS	38,3	24	4	4	4	4
21	VFM	17,6	10	2	2	2	3
22	CN	10,0	10	3	3	3	2
23	VCS	17,9	30	3	4	3	3
24	ERAR	20,0	1	1	0	1	2
25	PFS	10,0	10	1	2	1	2
26	LPS	10,0	40	2	3	2	3
27	SRVS	10,0	19	1	3	2	3
28	JSAL	10,0	17	2	3	1	3
29	IGB	10,0	10	2	2	2	3
30	NAG	10,0	10	1	0	2	2
31	CJF	30,4	10	4	2	2	3
32	SJL	10,0	30	1	3	2	2
33	ACN	25,2	22	2	3	2	3
34	RMS	10,0	7	0	0	1	1
35	JMS	23,2	28	3	2	2	2
36	MRRF	10,0	20	2	3	2	3

GRUPO CONSUMO ALCOÓLICO ACENTUADO

Nº	NOME	Sexo	Idade	Trans-fusão	Droga	Cirurgia	g/etanol	T etanol/a
1	MF	M	24	-	-	-	142,6	5
2	MVA	M	45	1978	-	-	47,5	32
3	RSG	M	30	-	1992	-	99,2	8
4	EM	M	46	1961	-	-	59,4	4
5	VPS	M	48	1972	-	-	120,0	16
6	AFP	M	37	-	1991	-	72,0	15
7	IPS	M	33	-	-	1993	400,0	11
8	FT	M	24	-	-	-	72,0	4
9	ASDP	M	31	1980	1985	-	72,0	10
10	JWIS	M	34	1986	-	-	66,9	4
11	SMS	M	26	1983	-	-	90,0	15
12	LSB	M	57	-	-	1986	63,8	15
13	WSM	M	23	-	1990	1996	96,0	9
14	SF	M	60	-	-	1972	159,6	35
15	PS	M	52	-	-	1998	60,4	15
16	SAS	M	36	-	-	-	110,4	14
17	JFF	M	47	-	-	1982	242,4	20
18	MRLO	M	26	-	-	1992	246,3	12
19	JMS	M	35	-	1985	-	331,2	16
20	CM	M	46	-	1976	-	60,5	13
21	RFB	M	37	-	1981	1990	220,8	15
22	EEBR	M	37	-	1991	1978	475,2	3
23	CPS	M	48	1982	1972	-	190,0	20
24	MPF	M	33	-	1984	1997	274,6	8
25	WCS	M	22	-	-	2001	40,3	7
26	ISS	M	36	-	-	1979	106,6	8
27	PAS	M	34	-	1990	-	164,0	22
28	LP	M	50	1991	-	-	72,0	25
29	LAR	M	34	-	1987	-	475,2	20
30	MGS	M	42	-	-	1989	114,5	20
31	PTAL	M	53	-	-	1982	102,7	35
32	NRR	M	48	-	1990	1970	41,0	20
33	ELPG	M	30	1992	-	-	132,6	5
34	JSA	M	48	1986	-	-	93,0	28
35	ALN	M	31	-	1994	1983	87,4	10
36	EBP	M	52	-	1974	1987	417,6	20
37	ABS	M	36	-	-	1987	251,0	15
38	FTC	M	28	-	-	-	50,0	6
39	JN	M	48	-	-	-	131,2	11
40	MOG	F	52	-	-	-	99,4	30
41	NG	M	35	1981	-	-	45,0	16
42	MSP	F	38	1985	1996	-	22,1	23
43	JMF	M	38	-	1991	1981	226,7	15

GRUPO CONSUMO ALCOÓLICO ACENTUADO

Nº	NOME	Tinfecção /a	IMC	Fibrose	APP	Ativ. lobular	Infilt. portal
1	MF	-	24,30	2	3	2	2
2	MVA	22	36,29	3	4	3	3
3	RSG	8	28,73	4	3	4	2
4	EM	39	30,00	4	3	3	3
5	VPS	29	25,79	2	3	3	3
6	AFP	10	27,42	0	1	1	2
7	IPS	8	26,89	1	3	3	2
8	FT	-	20,57	1	3	2	2
9	ASDP	21	24,07	2	3	2	4
10	JWIS	15	24,90	0	0	1	1
11	SMS	18	26,00	1	0	1	1
12	LSB	15	22,70	1	3	2	3
13	WSM	11	17,99	1	2	3	2
14	SF	29	24,16	1	1	1	1
15	PS	3	27,18	1	3	3	3
16	SAS	25	32,50	1	1	2	2
17	JFF	19	24,51	4			
18	MRLO	10	19,00	2	2	2	2
19	JMS	17	28,00	1	2	1	2
20	CM	25	24,00	1	2	2	3
21	RFB	21	24,00	1	2	2	2
22	EEBR	11	26,00	4	3	3	3
23	CPS	20	22,00	2	3	2	3
24	MPF	18	24,40	3	3	-	-
25	WCS	1	26,10	0	0	1	1
26	ISS	23	21,90	1	2	2	2
27	PAS	12	29,40	1	2	2	3
28	LP	11	24,70	1	3	2	2
29	LAR	15	25,90	4	4	3	3
30	MGS	13	26,60	3	4	2	3
31	PTAL	20	21,70	4	3	2	2
32	NRR	12	26,30	2	3	2	3
33	ELPG	10	25,20	1	2	2	2
34	JSA	16	31,60	3	4	3	3
35	ALN	8	25,60	0	-	-	-
36	EBP	28	29,90	4	3	2	3
37	ABS	15	24,60	4	4	4	3
38	FTC	-	26,14	1	2	1	2
39	JN	-	24,70	1	2	2	2
40	MOG	-	23,17	2	3	3	2
41	NG	20	24,99	3	3	2	2
42	MSP	17	40,00	2	2	2	2
43	JMF	11	32,00	1	1	1	1

PROTOCOLO HEPATITE C - BIÓPSIA HEPÁTICA

Nome: _____ Rg: _____

Biópsia Hepática Nº: _____ Data: _____

N.º de espaço porta: _____

Estadiamento: Alterações Estruturais: _____

Infiltrado inflamatório portal: _____

Atividade inflamatória periportal: _____

Atividade inflamatória lobular: _____

Grau de Fibrose: I () II () III () IV ()

Marcadores etiológicos: Esteatose: 0 () I () II () III () IV ()

Agregados Linfóides: 1. Pouco ()

2 Muito ()

Folículos linfóides: 3. Pouco ()

4. Muito ()

Alteração do epitélio ductal: 0. Ausente ()

1. Pouco ()

2. Muito ()

Pigmento: _____

Obs: fotografar: () _____

Outros: _____

Quadro 1 - Descrição dos iniciadores utilizados na PCR *nested* da região 5'NCR

Denominação	Seqüência de iniciadores do HCV na região 5'-NCR
NCR1 (outer)	5' –GTA TCT CGA GGC GAC ACT CCA CCA TAG- 3'
NCR2 (outer)	5' –ATA CTC GAG GTG CAC GGT CTA CGA GAC– 3'
NCR3 (inner)	5' –CCA CCA TAG ATC TCT CCC CTG T– 3'
NCR4 (inner)	5' – CAC TCT CGA GCA CCC TAT CAG GCA GT–3'

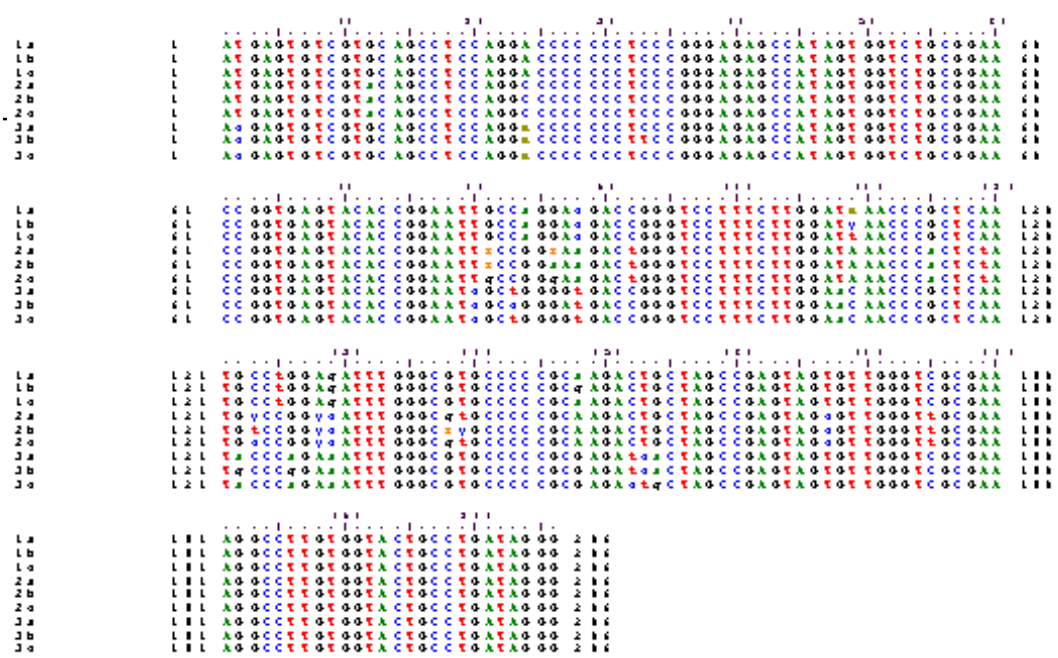


Figura 1. Alinhamento de parte da 5'NCR do genoma do HCV marcada com as posições importantes dos nucleotídeos (letras minúsculas) específicos para os tipos e subtipos do HCV. As posições que diferenciam os 3 tipos foram 12, 24, 88 e 129; 84 e 125 para o tipo 1; 92, 115, 119, 128, 167 e 175 para o tipo 2 e 2 e 80 para o tipo 3. Os subtipos foram agrupados conforme o nucleotídeo nas posições 109 e 148 (1a, 1b e 1c), 81, 86, 123 (2a , 2b e 2c) e 83, 87, 122, 126, 152, 153, 154 (3a, 3b e 3c).

Métodos dos exames :

- Alanina aminotransferase (ALT): através do método cinético-ultravioleta, utilizando reagente Roche Diagnostic Systems, Inc, em equipamento Cobas Mira Plus, também Roche Diagnostic Systems, Inc..

Valor de Referência: Homens : 10 - 44 U/L

Mulheres: 10 – 36 U/L.

- Aspartato aminotransferase (AST): através do método cinético-ultravioleta, com reagente Roche Diagnostic Systems, em equipamento Cobas Mira Plus.

Valor de Referência: Homens : 10 - 34 U/L

Mulheres:10–30U/L.

- GGT: método cinético-ultravioleta, com reagente Roche Diagnostic Systems, em equipamento Cobas Mira Plus.

Valor de Referência: Homens : 11 - 50 U/L

Mulheres: 7 – 32 U/L.

- Contagem de plaquetas: através de contagem automatizada utilizando impedância elétrica, em analisador hematológico Cell-Dynn 3000, Abbott Diagnostic, Chicago, Illinois.

Valor de Referência: Homens : 140.000 a 450.000/mm³.

- Ferritina: através do ensaio turbitimétrico, com reagente Roche Diagnostic Systems.
Valor de Referência: Homens : 30 a 300 ng/mL
Mulheres: 10 a 200 ng/mL.

- Ferro sérico: através de método através do ensaio turbitimétrico, com reagente Roche Diagnostic Systems.
Valor de Referência: 50 – 159 µg/dL. IgG: através do método t

- Imunoglobulina M (IgM): através do método turbitimétrico, com reagente com reagente Roche Diagnostic Systems.
Valor de Referência: 57 a 285 mg/dL.

- Imunoglobulina G (IgG): através do método turbitimétrico, com reagente com reagente Roche Diagnostic Systems.
Valor de Referência: 675 a 1440 mg/dL.

Figura 2. Posição de identificação dos nucleotídeos específicos para os tipos e subtipos da 5'NCR do genoma do HCV

Posição	2	12	24	80	81	83	84	86	87	88	92	109	115	119	122	123	125	126	128	129	148	152	153	154	167	175
Subtipo																										
1 ^a	T	r	a	T	G	C	a	G	A	y	C	m	G	A	G	C	t	G	A	g	a	C	T	G	T	C
1b	T	r	a	T	G	C	a	G	A	y	C	y	G	A	G	C	t	G	A	g	g	C	T	G	T	C
1c	T	r	a	T	G	C	a	G	A	y	C	t	G	A	G	C	t	G	A	g	a	C	T	G	T	C
2 ^a	T	a	C	T	r	C	G	r	A	a	t	Y	a	t	G	y	C	G	y	c	A	C	T	G	c	t
2b	T	a	C	T	r	C	G	a	A	a	t	Y	a	t	G	t	C	G	y	c	A	C	T	G	c	t
2c	T	a	C	T	G	C	G	g	A	a	t	Y	a	t	G	e	C	G	y	c	A	C	T	G	c	t
3a	c	G	m	c	G	t	G	G	g	t	C	C	G	A	a	C	C	a	A	a	R	t	c	a	T	C
3b	c	G	m	c	G	c	G	G	a	t	C	C	G	A	g	C	C	g	A	a	R	t	c	a	T	C
3c	c	G	m	c	G	t	G	G	g	t	C	C	G	A	a	C	C	a	A	a	R	c	t	g	T	C

r = a/g
m = c/a
y = c/t