

**ROBERTO JOSÉ DE CARVALHO FILHO**

**IMPACTO CLÍNICO-HISTOLÓGICO DA INFECÇÃO OCULTA  
PELO VÍRUS DA HEPATITE B EM PORTADORES  
CRÔNICOS DO VÍRUS DA HEPATITE C**

Tese apresentada à Universidade  
Federal de São Paulo – Escola  
Paulista de Medicina, para obtenção  
do Título de Doutor em Ciências.

**Orientador: Prof. Dr. Antonio Eduardo B. Silva**

**SÃO PAULO**

**2006**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Carvalho Filho, Roberto José de  
**Impacto Clínico-histológico da Infecção Oculta pelo Vírus da Hepatite B em Portadores Crônicos do Vírus da Hepatite C**/Roberto José de Carvalho Filho.-- São Paulo, 2006.  
xvi, 160f.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Paulo.  
Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Gastroenterologia.

Título em inglês: Clinical and histological impact of occult hepatitis B infection in hepatitis C virus chronic carriers.

1.Hepatite B 2.Infecção oculta 3.Hepatite C 4.Co-infecção.

*Esta tese é dedicada ao meu pai, co-responsável por sua realização:*

*Sem querer, a inspirou...*

*À distância, deu-me forças para continuar...*

*Ao meu lado, comemorará sua conclusão.*

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor Antonio Eduardo B. Silva, meu orientador, exemplo vivo de que é possível mesclar qualidade acadêmica, habilidade técnica e experiência clínica e, ao mesmo tempo, manter um indelével senso de humanidade. A ele, meu profundo agradecimento por ter sido merecedor de sua sincera amizade.

À Professora Maria Lucia Gomes Ferraz, que me acolheu com respeito e atenção e a mim confiou responsabilidades que desconhecia ser capaz de corresponder. Sua perspicácia, didática e objetividade raras sempre serão fonte de inspiração.

Ao Professor Aécio Flávio Meirelles de Souza, que com seu tirocínio e experiência, estimulou e guiou meus primeiros passos no fascinante mundo da Hepatologia. De suas palavras de motivação deriva grande parte da gana e obstinação necessárias para a conclusão desta tese.

Ao Professor Júlio Maria Fonseca Chebli, primeiro incentivador e responsável direto por minha vinda a São Paulo. De sua astúcia clínica e louvável produção científica, advêm admiração e respeito profundos. De sua simplicidade, otimismo e entusiasmo, nasceu sólida e sincera amizade.

Ao Professor Pedro Duarte Gaburri, profissional exemplar e amigo confidente, cuja sabedoria tem me provido valiosos conselhos ao longo dos anos.

Aos Professores Ricardo da Rocha Bastos e Kalil Abraão Hallack, mentores *lato sensu*, que, com sua atitude modelar, sedimentaram minha paixão pela arte médica.

Aos grandes amigos de Juiz de Fora, Karla Oliveira Cimino e Lincoln Eduardo Vieira Vilela de Castro Ferreira, cujo suporte, ainda que à distância, valeu-me sobremaneira nos momentos mais difíceis.

Aos amigos Fernando de Moraes e Alexander Moreira de Almeida, que há 25 anos têm tolerado minhas manias e fornecido, de forma irrestrita, companhia para compartilhar as alegrias e ombro amigo para toda a sorte de lamúrias. Este árduo avanço em minha vida, também devo a vocês.

À Professora Valéria Pereira Lanzoni, por seu zelo e visceral senso de responsabilidade, que não de guiar minha postura médica.

Aos colegas da Pós-graduação, Adalgisa Ferreira, Alessandra Bisio, Ana Cláudia Oliveira, Ana Cristina Amaral, Carla Adriana de Matos, Cláudio Gusmão de Figueiredo Mendes, Cristina Melo Rocha, Dauana de Oliveira Bastos, Evandro Antônio Bentes de Oliveira Júnior, Fábio Heleno de Lima Pace, Fátima Lovatti Almeida, Genimari Arruda da Silva, Graziela Lanzara, Iandra Maciel Pinheiro, Ivonete S. Silva, Janaína Luz Narciso, Lara Vianna de Barros Lemos, Leandro Martins, Leonardo de Lucca Schiavon, Luciana Oliveira Souza, Maurício Pacheco, Patrícia Marinho Oliveira, Renata de Mello Perez, Renata Moutinho, Ricardo Alvariz, Rosilene das Graças Badiani, Sandra Tuma Khouri, Teresa Arrais, Virgínia Maria Figueiredo, Vitória Régia Rabelo Becker, Vitorio Luís Kemp e Wagner Chiarella Godoy. Cada um a seu modo, com afinidades e divergências, ajudou-me a crescer como profissional e, principalmente, como pessoa.

À equipe do Laboratório do Setor de Hepatites, Mara Castilho, Genimari Arruda da Silva, Fátima Lovatti Almeida e Luciana Oliveira Souza, por sua participação decisiva na feitura desta tese e, principalmente, pela enorme compreensão dispensada à minha ansiedade.

Aos meus queridos alunos e amigos preceptores da Liga de Hepatites. Com vocês, aprendi muito mais do que ensinei. Incontáveis foram as vezes em que minhas baterias foram recarregadas naquelas agradáveis tardes de quinta-feira. A vocês, devo anos de jovialidade e a manutenção de minha fé no magistério.

À equipe de enfermagem, Denize Vieira Barbosa, Maria Goreti S. Santos, Vera Lucia Silva, Érica Rodrigues Fernandes, Iolanda Nunes, José Carlos Vicente, Lídia Gonçalves de Moura, pela dedicação incondicional aos pacientes e pela humanização freqüente (e necessária) de nosso automatismo médico.

Aos secretários e demais funcionários da Disciplina de Gastroenterologia, Magali, Valdir, Josy, Rosa, Renato, Marcelo, Ivani e Marcinha, pela assistência e suporte nas diversas tarefas da pós-graduação.

À Professora Nora Manoukian Forones – chefe da Disciplina de Gastroenterologia – e demais professores, que mantêm um serviço de alta qualidade de ensino, pesquisa e extensão, a despeito das dificuldades estruturais comuns às universidades públicas federais.

Aos companheiros do Serviço de Saúde do Corpo Discente da Disciplina de Medicina Preventiva da Escola Paulista de Medicina – UNIFESP, Dr. Benjamin, Amélia, Nair, Marisa, Ana, Léia, Cássio, Christian, Bel, Lídia, Milton, Truzzi, Carmem, Francisca, Odair, Bete, Zé e demais colegas, pelo acolhimento carinhoso, agradabilíssima companhia e pela oportunidade benfazeja de exercer a medicina extra-hepática.

A Manyr Assad, meu “paidrasto”, por seu apoio e incentivo incontestes desde os primeiros anos em Juiz de Fora, sem os quais toda minha caminhada teria sido inviável.

À minha irmã, cuja dedicação acadêmica reverbera em minha memória desde o ensino fundamental até os dias de hoje. Seu esforço foi sempre motivo de orgulho e modelo a ser seguido.

À Juju, Vida, minha Mozi e a mais amada do planeta, que trouxe de volta (e definitivamente) a paz e as alegrias que nunca tive. Com carinho e meiguice sem fim, prova, todos os dias e quantas vezes forem necessárias, que podemos e merecemos a felicidade. Meu amor repousará eternamente no seu “coim”.

À minha mãe, cuja importância em minha formação pessoal e profissional transcende a capacidade de expressão de meu vocabulário. A ela, devo o gosto pela leitura, pela ciência e pelo ensino, além de minha clareza vocacional. Acima de tudo, credito a você meu jeito Poliana de ser, o qual, apesar de freqüentemente me gerar problemas, traz sempre algumas vantagens...

Este trabalho foi financiado pela FAPESP (Projeto Temático 2002/05260-6), pelo CNPq e pela Disciplina de Gastroenterologia da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina.



*“Existe somente uma idade para a gente ser feliz,  
somente uma época na vida de cada pessoa em que é possível sonhar e fazer planos  
e ter energia bastante para realizá-los a despeito de todas as dificuldades e obstáculos.  
Uma só idade para a gente se encantar com a vida e viver apaixonadamente  
e desfrutar tudo com toda intensidade sem medo nem culpa de sentir prazer.  
Fase dourada em que a gente pode criar e recriar a vida à nossa própria imagem e  
semelhança  
e vestir-se com todas as cores e experimentar todos os sabores  
e entregar-se a todos os amores sem preconceito nem pudor.  
Tempo de entusiasmo e coragem,  
em que todo desafio é mais um convite à luta que a gente enfrenta  
com toda disposição de tentar algo novo, de novo e de novo  
e quantas vezes for preciso.  
Essa idade tão fugaz na vida da gente chama-se PRESENTE  
e tem a duração do instante que passa.”*

***Idade, a de ser feliz – Mario Quintana***

## Sumário

Dedicatória.....	iii
Agradecimentos.....	iv
Listas.....	x
Resumo.....	xvi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	26
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	27
4 RESULTADOS.....	35
5 DISCUSSÃO.....	67
6 CONCLUSÕES.....	97
7 ANEXOS.....	99
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	102
Abstract	
Anexo	

## Lista de figuras

Figura 1.	Estrutura do vírus da hepatite C.....	5
Figura 2.	Estrutura genômica do vírus da hepatite C.....	5
Figura 3.	Distribuição dos 111 portadores de infecção crônica pelo HCV, de acordo com o modo provável de aquisição.....	38
Figura 4.	Distribuição dos valores de ALT, AST, GGT, atividade de protrombina (AP) e albumina (Alb) nos 111 portadores de infecção crônica pelo HCV.....	39
Figura 5.	Distribuição dos 111 portadores de infecção crônica pelo HCV conforme a reatividade dos marcadores sorológicos do HBV.....	41
Figura 6.	Distribuição do diagnóstico histológico nos 111 portadores de infecção crônica pelo HCV.....	42
Figura 7.	Gradação da fibrose hepática e da atividade histológica pela classificação METAVIR nos 111 portadores de infecção crônica pelo HCV.....	42
Figura 8.	Distribuição dos 111 portadores de infecção crônica pelo HCV, conforme a positividade do anti-HBc total.....	48
Figura 9.	Distribuição dos 111 portadores de infecção crônica pelo HCV, conforme a intensidade da atividade histológica.....	55
Figura 10.	Curvas ROC ( <i>receiver operator characteristic</i> ) para ALT e GGT na identificação de atividade histológica moderada/acentuada .....	57
Figura 11.	Distribuição dos 111 portadores de infecção crônica pelo HCV, conforme a extensão da fibrose hepática.....	58
Figura 12.	Distribuição da fibrose hepática conforme a positividade do anti-HBc total e da idade à época da infecção pelo HCV (n = 111).....	61
Figura 13.	Distribuição dos 111 portadores de infecção crônica pelo HCV, conforme a taxa de progressão da fibrose hepática.....	62
Figura 14.	Tempo estimado até o desenvolvimento de cirrose hepática, conforme a idade na aquisição do HCV e a positividade do anti-HBc total (n = 111).....	66

## Lista de tabelas

Tabela 1.	Características clínico-epidemiológicas dos portadores de infecção crônica pelo HCV (n = 111).....	36
Tabela 2.	Características clínico-epidemiológicas dos portadores de infecção crônica pelo HCV, conforme o gênero (n = 111).....	37
Tabela 3.	Valores de média, desvio-padrão, mediana e faixa de variação dos testes bioquímicos nos portadores de infecção crônica pelo HCV (n = 111).....	39
Tabela 4.	Distribuição dos genótipos nos portadores de infecção crônica pelo HCV (n = 81).....	40
Tabela 5.	Distribuição dos genótipos nos portadores de infecção crônica pelo HCV, conforme o gênero (n = 81).....	40
Tabela 6.	Fibrose hepática, atividade histológica, taxa de progressão da fibrose hepática (TPF) e tempo de evolução para cirrose hepática (TF4) estimados para os portadores de infecção crônica pelo HCV avaliados (n = 111).....	43
Tabela 7.	Prevalência dos marcadores histológicos sugestivos de infecção pelo HCV nos 111 pacientes avaliados.....	44
Tabela 8.	Análise comparativa entre pacientes com anti-HBc isolado e pacientes com anti-HBc total e anti-HBs positivos, conforme as características clínico-epidemiológicas (n = 31).....	45
Tabela 9.	Análise comparativa entre pacientes com anti-HBc isolado e pacientes com anti-HBc total e anti-HBs positivos, conforme as características bioquímicas (n = 31).....	46
Tabela 10.	Análise comparativa entre pacientes com anti-HBc isolado e pacientes com anti-HBc total e anti-HBs positivos, conforme o genótipo do HCV (n = 19).....	47
Tabela 11.	Análise comparativa entre pacientes com anti-HBc isolado e pacientes com anti-HBc total e anti-HBs positivos, conforme o grau de atividade histológica e o escore de fibrose hepática, pela classificação de METAVIR (n = 31).....	47

Tabela 12. Análise comparativa da taxa de progressão da fibrose hepática (TPF) e do tempo estimado até o desenvolvimento de cirrose hepática (TF4) entre os pacientes com anti-HBc isolado e pacientes com anti-HBc total e anti-HBs positivos (n = 31).....	48
Tabela 13. Análise comparativa entre os grupos 1 e 2, conforme as características clínico-epidemiológicas (n = 111).....	49
Tabela 14. Análise comparativa entre os grupos 1 e 2, conforme as características bioquímicas (n = 111).....	50
Tabela 15. Análise comparativa entre os grupos 1 e 2, conforme a distribuição de genótipos do HCV (n = 81).....	51
Tabela 16. Análise comparativa do grau de atividade histológica e do escore de fibrose hepática entre os grupos 1 e 2, pela classificação de METAVIR (n = 111).....	52
Tabela 17. Análise comparativa da proporção de pacientes com atividade histológica e fibrose hepática significativas nos grupos 1 e 2, de acordo com a classificação de METAVIR (n = 111).....	52
Tabela 18. Análise comparativa da proporção de pacientes com marcadores histológicos sugestivos de infecção crônica pelo HCV nos grupos 1 e 2 (n = 111).....	53
Tabela 19. Análise comparativa da taxa de progressão da fibrose hepática (TPF) e do tempo estimado até o desenvolvimento de cirrose hepática (TF4) entre os grupos 1 e 2 (n = 111).....	54
Tabela 20. Análise univariada dos fatores associados à presença de atividade histológica significativa (A2/3) em portadores crônicos do HCV (n = 111).....	56
Tabela 21. Análise multivariada por regressão logística dos fatores associados à presença de atividade histológica significativa (A2/3) em portadores crônicos do HCV (n = 111).....	57
Tabela 22. Análise univariada dos fatores associados à presença de fibrose hepática significativa (F2/3/4) em portadores crônicos do HCV (n = 111).....	59

Tabela 23. Análise multivariada por regressão logística dos fatores associados à presença de fibrose hepática significativa (F2/3/4) em portadores crônicos do HCV, usando 40 anos como ponto de corte para a idade na infecção (n = 111).....	60
Tabela 24. Análise multivariada por regressão logística dos fatores associados à presença de fibrose hepática significativa (F2/3/4) em portadores crônicos do HCV, usando 30 anos como ponto de corte para a idade na infecção (n = 111).....	60
Tabela 25. Análise univariada dos fatores associados à presença de taxa de progressão de fibrose acelerada (TPF > 0,133 unidade de fibrose/ano) em portadores crônicos do HCV (n = 111).....	63
Tabela 26. Análise multivariada por regressão logística dos fatores associados à presença de TPF acelerada (> 0,133 unidade de fibrose/ano) em portadores do HCV, usando 40 anos como ponto de corte para a idade na infecção (n = 111).....	64
Tabela 27. Análise multivariada por regressão logística dos fatores associados à presença de TPF acelerada (> 0,133 unidade de fibrose/ano) em portadores do HCV, usando 30 anos como ponto de corte para a idade na infecção (n = 111).....	64
Tabela 28. Análise comparativa da taxa de progressão da fibrose hepática (TPF) conforme a idade na aquisição do HCV e a reatividade do anti-HBc total (n = 111).....	65

## Lista de abreviaturas e símbolos

A	Atividade necroinflamatória
Alb	Albumina
ALT	Alanina aminotransferase
anti-HBc	Anticorpos contra o antígeno core do vírus da hepatite B
anti-HBe	Anticorpo contra o antígeno e do vírus da hepatite B
anti-HBs	Anticorpo contra o antígeno de superfície do vírus da hepatite B
anti-HCV	Anticorpos contra o vírus da hepatite C
AP	Atividade de protrombina
AST	Aspartato aminotransferase
cccDNA	DNA circular covalentemente fechado ( <i>covalently closed circular DNA</i> )
CHC	Carcinoma hepatocelular
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DO	Densidade óptica
DP	Desvio-padrão
EIA	Ensaio imunoenzimático
F	Fibrose hepática
g	Grama
GGT	Gama-glutamilttransferase
HAV	Vírus da hepatite A
HBeAg	Antígeno e do vírus da hepatite B
HBsAg	Antígeno de superfície do vírus da hepatite B
HBV	Vírus da hepatite B
HBV-DNA	Ácido desoxirribonucléico do vírus da hepatite B
HCV	Vírus da hepatite C
HCV-RNA	Ácido ribonucléico do vírus da hepatite C
HDV	Vírus da hepatite delta
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HLA	Antígeno leucocitário humano
HPT	Hepatite pós-transfusional
IC 95%	Intervalo de confiança de 95%
IST	Índice de saturação de transferrina

LSN	Limite superior do normal
Md	Mediana
MEIA	Ensaio imunoenzimático com micropartículas
mg/dL	Miligramas por decilitro
MHC	Complexo de histocompatibilidade molecular
mm <sup>3</sup>	Milímetros cúbicos
mUI	Miliunidades internacionais
NL	Necrose lobular
NSB	Necrose em saca-bocados
°C	Graus Celsius
OR	<i>Odds ratio</i>
PCR	Reação em cadeia da polimerase
pg/mL	Picogramas por mililitro
RIA	Radioimunoensaio ( <i>radioimmunoassay</i> )
RIBA	Ensaio por imunoblot recombinante ( <i>recombinant immunoblot assay</i> )
RNA	Ácido ribonucléico
SBH	Sociedade Brasileira de Hepatologia
THD	Transfusão de hemoderivados
TMA	Amplificação mediada por transcrição
TNF $\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa
TPF	Taxa de progressão da fibrose
U/L	Unidades por litro
UD	Uso de drogas
UI	Unidades internacionais
UNIFESP	Universidade Federal de São Paulo
WHsAg	Antígeno de superfície do vírus da hepatite de marmotas



## RESUMO

**Introdução:** Define-se como infecção oculta pelo vírus da hepatite B (HBV) a detecção de HBV-DNA no soro ou tecido hepático de pacientes com HBsAg negativo. Estudos sugerem que portadores do vírus da hepatite C (HCV) com esta infecção exibem fibrose hepática mais extensa, pior resposta ao tratamento com interferon alfa e maior risco de desenvolvimento de hepatocarcinoma. Achados similares foram descritos em portadores de HCV com marcadores de infecção prévia pelo HBV (anti-HBc positivo, com ou sem anti-HBs), independentemente da detecção de HBV-DNA. Entretanto, tais estudos não exerceram controle adequado para variáveis associadas à progressão da fibrose na hepatite C, como tempo de infecção, etilismo e idade no momento da infecção. **Objetivos:** Determinar a prevalência e o impacto da infecção oculta e da infecção prévia pelo HBV nas características clínicas, bioquímicas, virológicas e histológicas de portadores de infecção crônica pelo HCV. **Material e Métodos:** Estudo caso-controle que avaliou pacientes não-etilistas com HBsAg e anti-HIV negativos e HCV-RNA positivo. Todos os casos possuíam exposição parenteral como provável modo de contaminação pelo HCV (antecedentes transfusionais ou drogadição). Amostras séricas coletadas em intervalo de até 6 meses da biópsia hepática foram submetidas à pesquisa de HBV-DNA por ensaio comercial baseado em PCR, com limite de detecção de  $10^3$  cópias/mL (Amplicor HBV MONITOR® Test, Roche). A classificação de METAVIR foi usada para análise histológica. **Resultados:** Cento e onze pacientes foram incluídos, sendo 46% do gênero masculino e 82% com transfusão prévia. As médias da idade na infecção e do tempo de infecção pelo HCV foram de  $25,5 \pm 12,4$  e  $21,9 \pm 6,5$  anos, respectivamente. O anti-HBc foi positivo em 31 indivíduos (28%) e nenhuma amostra foi positiva para o HBV-DNA. Pacientes com anti-HBc positivo foram comparáveis aos com anti-HBc negativo com relação ao gênero, idade na infecção pelo HCV, tempo de infecção, raça, modo de aquisição do HCV e prevalência de descompensação hepática. A distribuição de genótipos do HCV foi semelhante entre os dois grupos. Entretanto, indivíduos com anti-HBc positivo mostraram níveis mais baixos de albumina ( $P = 0,001$ ) e menor atividade de protrombina ( $P = 0,046$ ) e maiores níveis de ALT ( $P = 0,052$ ), AST ( $P = 0,004$ ) e GGT ( $P = 0,010$ ). Estes pacientes também demonstraram maior atividade histológica ( $P < 0,001$ ), maior escore de fibrose hepática ( $P = 0,001$ ) e taxa de progressão de fibrose (TPF) mais rápida ( $P = 0,002$ ) do que aqueles com anti-HBc negativo. Na análise multivariada, ALT  $> 2$  vezes o limite superior do normal (xLSN) (OR = 4,460;  $P = 0,002$ ), GGT  $> 1,5$  xLSN (OR = 7,582;  $P < 0,001$ ) e anti-HBc positivo (OR = 4,009;  $P = 0,019$ ) foram preditivos de atividade necroinflamatória moderada ou acentuada (A2/A3). A positividade do anti-HBc (OR = 3,364;  $P = 0,017$ ) e a aquisição do HCV após 30 anos de idade (OR = 4,252;  $P = 0,002$ ) foram independentemente associados à fibrose significativa (F2/F3/F4). Os fatores associados à rápida progressão da fibrose, definida como TPF  $> 0,133$  unidade de fibrose/ano, foram idade na infecção  $> 30$  anos (OR = 2,913;  $P = 0,033$ ) e anti-HBc positivo (OR = 3,241;  $P = 0,015$ ). O tempo esperado até o surgimento de cirrose hepática foi de 26 anos (20 a 44 anos) para indivíduos anti-HBc-positivo que se infectaram com o HCV com idade  $> 30$  anos. Aqueles com anti-HBc negativo contaminados com menos de 30 anos de idade desenvolveriam cirrose após 80 anos de infecção (60 a 93 anos) ( $P < 0,001$ ). **Conclusões:** A infecção prévia pelo HBV é encontrada em cerca de um terço dos portadores do HCV e pode exercer impacto negativo sobre a história natural da infecção crônica pelo HCV. Este efeito parece independe da presença da infecção oculta pelo HBV.

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Hepatite C – Histórico

A associação entre a transfusão de hemoderivados e o desenvolvimento de hepatite clinicamente manifesta foi descrita pela primeira vez em 1943 (Beeson, 1943; Morgan & Williamson, 1943). Posteriormente, este achado acabou por determinar a identificação de dois grupos de hepatites epidemiologicamente distintos: a “hepatite infecciosa – tipo MS-1”, de transmissão entérica; e a “hepatite sérica – tipo MS-2”, de transmissão parenteral (Krugman et al, 1967).

Apenas em 1974, após completa caracterização das hepatites A e B, cunhou-se o termo “hepatite não-A, não-B”, que passaria a caracterizar os casos de comprometimento hepático de provável natureza infecciosa, não associados aos dois vírus hepatotrópicos até então conhecidos (Prince et al, 1974).

Nos anos que se seguiram, importantes avanços foram obtidos para uma melhor compreensão epidemiológica da nova entidade. Já em 1975, surgiram evidências de que a hepatite não-A, não-B fosse transmissível por transfusões de sangue ou plasma e responsável por 75% das hepatites associadas à transfusão de hemoderivados (Feinstone et al, 1975). Naquele mesmo ano, casos esporádicos da doença foram descritos na Costa Rica (Villarejos et al, 1975) e, cinco anos depois, uma suposta epidemia não associada aos vírus A ou B foi descrita na Índia (Wong et al, 1980). Desta forma, houve quem definisse três formas de hepatite não-A, não B, de acordo com o provável modo de aquisição da doença: parenteral, epidêmica e esporádica (Seeff, 1990). A suspeita de que a hepatite não-A, não-B seria causada por um agente transmissível se consolidou com o sucesso da reprodução da doença em chimpanzés, após a inoculação de sangue proveniente de pacientes com hepatite pós-transfusional (HPT) (Alter et al, 1978; Tabor et al, 1978; Hollinger et al, 1978; Bradley et al, 1979).

Uma segunda onda de achados importantes trouxe significativas informações acerca da natureza do agente etiológico, tais como a presença de envelope lipídico (Bradley et al, 1983) e a sensibilidade do agente à formalina, ao calor e à luz ultravioleta (Bradley et al, 1985), além do tamanho da partícula infecciosa – 30 a 60 nm (He et al., 1987). Todas essas características sugeriam se tratar de um vírus.

Esta série de achados culminou no primeiro isolamento de DNA complementar do novo vírus hepatotrópico (Choo et al, 1989). No mesmo periódico, foi apresentado o

primeiro ensaio imunoenzimático (EIA) capaz de detectar anticorpos contra proteínas virais no novo clone (Kuo et al, 1989). Uma análise retrospectiva das amostras de soro de pacientes com HPT mantidas no *National Institutes of Health* e no *Center for Disease Control and Prevention* mostrou que 70 a 90% das HPT não-A, não-B mostravam reatividade contra o vírus (Alter HJ, 1989).

Apenas um ano após o seu isolamento, todo o genoma do vírus foi seqüenciado e passou a ser chamado de “vírus da hepatite C” (Alter, 1999).

## **1.2 Epidemiologia da Infecção pelo Vírus da Hepatite C**

A Organização Mundial da Saúde estima que 3% da população mundial, cerca de 170 milhões de pessoas, sejam portadoras crônicas do vírus da hepatite C (HCV) (WHO, 1999; Wasley & Alter, 2000). A distribuição geográfica da infecção pelo HCV é ampla e variada, distinguindo-se quatro grupos de regiões envolvidas, segundo a sua prevalência: (a) muito baixa (inferior a 0,1%), como ocorre na Grã-Bretanha e nos países escandinavos; (b) baixa (entre 0,2% e 1%), tal como verificado na Europa Ocidental, na Austrália e na África do Sul; (c) intermediária (entre 1% e 5%), onde se alocam os países do Leste Europeu, Mediterrâneo, Oriente Médio, Subcontinente Indiano e partes da África e da Ásia, além dos Estados Unidos da América (EUA); e (d) alta (superior a 5%), como Líbia (7%) e Egito, sendo esse último o país de maior prevalência em todo o mundo, onde 17% a 36% da população são infectados pelo HCV (Wasley & Alter, 2000).

Embora a escassez de estudos provenientes de amostras populacionais não-selecionadas possivelmente subestime os números reais, o Brasil é considerado um país de prevalência intermediária de infecção pelo HCV, exibindo taxas que variam entre 0,65% e 2,12% entre candidatos a doadores de sangue nas diversas regiões do país (Vasconcelos et al, 1994; SBH, 1999) e 2,7% em profissionais de saúde (Vanderborcht et al, 1995). Vale citar estudo populacional realizado na cidade de São Paulo, que estimou prevalência de 1,42% (Focaccia et al, 1998). A importância da infecção pelo HCV como grave problema de saúde pública no Brasil é reforçada pela constatação de que a cirrose hepática associada a este vírus representa a principal indicação de transplante hepático em nosso país (SBH, 2001).

Dados advindos de estudos prospectivos e do tipo caso-controle demonstraram que os principais fatores de risco para a aquisição do HCV envolvem formas variadas de exposição parenteral, tais como transfusão de hemoderivados ou transplante de órgãos sólidos provenientes de doadores contaminados, uso intravenoso de drogas ilícitas (mormente quando há compartilhamento de agulhas ou seringas), exposição ocupacional a sangue contaminado e terapia por hemodiálise (risco estimado de aquisição de 10% ao ano) (Alter HJ et al, 1989; Aach et al, 1991; Pereira et al, 1992; Makris et al, 1993; Lanphear et al, 1994; Seelig et al, 1994; Puro et al, 1995; Garfein et al, 1996; Carvalho et al, 1999; Thorpe et al, 2000; Diaz et al, 2001; Fabrizi & Martin, 2001). Condições adicionais com potencial pequeno de risco, identificadas em estudos retrospectivos, incluem o contato sexual com múltiplos parceiros ou com parceiro com hepatite C, além de nascimento a partir de mães portadoras desta infecção, a chamada transmissão vertical (Alter MJ et al, 1989; Piazza et al, 1997; Gibb et al, 2000; Yeung et al, 2001).

Outras exposições potencialmente associadas, como procedimentos cruentos médicos e/ou odontológicos, tatuagens, *piercings* e acupuntura, embora revestidas de plausibilidade biológica, não foram identificadas com freqüência incontestada entre pacientes com hepatite C (Wasley & Alter, 2000; Alter, 2002). Isto contribui para que a participação destes tipos de exposição na transmissão do HCV permaneça controversa. É possível que a limpeza e a desinfecção inadequadas dos equipamentos utilizados durante estes procedimentos, realidade freqüente em várias regiões, possam lhes reforçar o papel epidemiológico em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento.

Estatísticas norte-americanas demonstram um claro declínio na participação da transfusão de hemoderivados nas infecções adquiridas antes da década de 90, em relação aos casos registrados entre os anos de 1995 e 2000 (Alter, 2002). Portanto, enquanto 10% dos casos de hepatite C adquiridos ao final dos anos 80 estavam associados a hemotransfusões, infecções relacionadas a esta exposição constituem raridade nos dias atuais, com um risco estimado de transmissão da ordem de 1:100.000 unidades de sangue transfundidas nos EUA e de 1:200.000 unidades na Alemanha (Schreiber et al, 1996; Koerner, 1998). Em estudo realizado no Sul do Brasil, o risco de transmissão de HCV por sangue contaminado foi estimado em 1:13.721 unidades (Kupek, 2001). As principais causas desta redução foram a adoção de seleção mais cuidadosa de candidatos a doadores de sangue e a utilização de EIA de

terceira geração no rastreamento em bancos de sangue, a partir de 1993. Embora este risco tenha sido reduzido cerca de trinta vezes durante a última década, configura um valor sete e catorze vezes superior aos encontrados nos Estados Unidos e na Alemanha, respectivamente (Schreiber et al, 1996; Koerner, 1998).

Com o rastreamento sorológico adequado dos candidatos à doação de sangue, os usuários de drogas ilícitas de administração intravenosa passaram a constituir o principal grupo de risco para aquisição do HCV, respondendo por 68% dos casos novos da doença nos EUA (Alter, 2002). Nesse país, os fatores associados a maior risco de infecção são o uso freqüente de drogas, compartilhamento de seringas e agulhas, uso de cocaína e primeira utilização conjunta com usuário de longa data (Villano et al, 1997; Garfein et al, 1998). Entre os toxicômanos, a aquisição do HCV se dá de maneira mais rápida do que ocorre com outros patógenos hemotransmissíveis, tais como o vírus da imunodeficiência humana (HIV) e o vírus da hepatite B (HBV). Desta forma, com apenas três meses de uso, 50% dos indivíduos já possuem anti-HCV positivo, o que se verifica em 80% dos usuários ao final do primeiro ano de vício (Garfein et al, 1996).

A despeito de todo o conhecimento epidemiológico acumulado sobre o HCV, não é possível identificar a fonte de contaminação em 9% dos casos, os quais são classificados como “casos esporádicos” (Alter, 2002).

### **1.3 O Vírus da Hepatite C**

A organização genômica similar aos pestivírus e aos flavivírus garantiu a inclusão do HCV em um terceiro gênero da família *Flaviviridae*: os hepacivírus (Robertson et al, 1998).

A partícula do HCV consiste em um nucleocapsídeo contido no interior de um envelope lipoprotéico derivado da membrana celular dos hepatócitos do próprio hospedeiro, na qual se inserem duas glicoproteínas codificadas pelo vírus (E1 e E2) (Penin, 2003). O nucleocapsídeo, por sua vez, é composto pela proteína do core (proteína C) e pelo RNA genômico, representado por uma fita simples de RNA com polaridade positiva, contendo aproximadamente 9.600 nucleotídeos e uma única fase aberta de leitura (ORF, do inglês *open reading frame*). A ORF codifica uma poliproteína composta de aproximadamente 3.000 aminoácidos (variando entre 3.010 e 3.033, dependendo do genótipo). Na membrana do retículo endoplasmático, esta poliproteína

é posteriormente processada por proteases virais e do hospedeiro com o objetivo de produzir os elementos necessários para a formação completa do vírion (Figuras 1 e 2) (Penin, 2003).

Tal como ocorre com os retrovírus, erros aleatórios na seqüência de nucleotídeos são freqüentemente introduzidos no genoma do HCV durante sua replicação. Essas mutações podem ser letais ou podem ser compatíveis com o ciclo de vida do vírus. Nesta segunda hipótese, as mutações podem não conferir qualquer vantagem adaptativa ou podem resultar em melhor eficiência replicativa ou maior resistência à resposta imunológica do hospedeiro e, assim, podem gerar variantes mais virulentas (Duarte et al, 1994; Domingo, 1996; Domingo, 1998; Pawlotsky, 2003b).

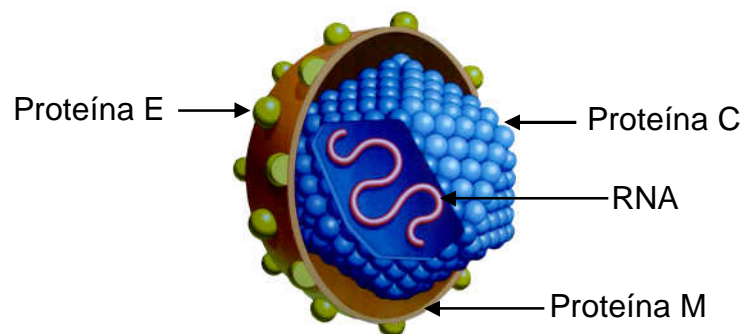


Figura 1 – Estrutura do vírus da hepatite C

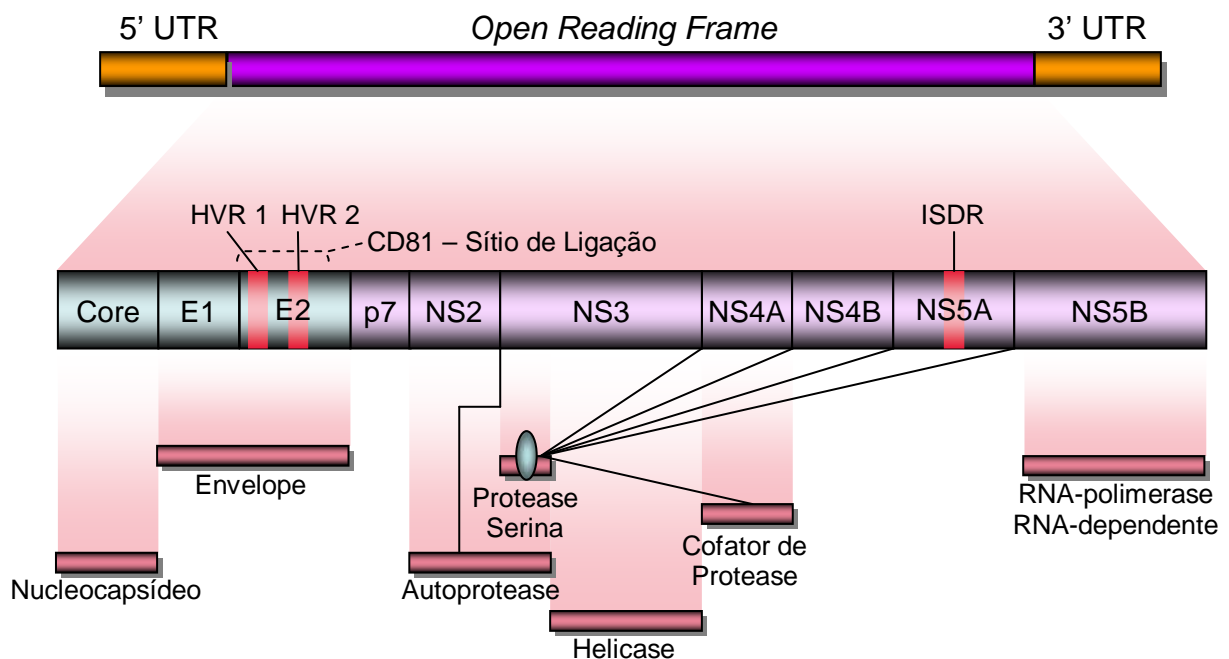


Figura 2 – Estrutura genômica do vírus da hepatite C

A notável heterogeneidade genômica do HCV é expressa por dois conceitos correlatos: os genótipos e as quasiespécies. O termo genótipo se refere à variabilidade das seqüências de nucleotídeos entre as variantes do HCV, refletindo o acúmulo de mutações ocorridas durante a longa evolução do vírus, enquanto as quasiespécies representam a variação genômica que surge entre subpopulações de HCV que infectam um dado indivíduo, resultando da infecção primária com inóculo heterogêneo e das mutações ocorridas ao longo da infecção (Martell et al, 1992; Bukh, Muller & Purcell, 1995; Simmonds, 1995). A reduzida diversidade das quasiespécies em situações de imunossupressão, tais como pós-transplante hepático, co-infecção com vírus da imunodeficiência humana (HIV) e hipogamaglobulinemia sugere que a geração de múltiplas quasiespécies resultaria de uma maior pressão imunológica sobre a população viral (Martell et al, 1994; Lawal et al, 1997; Toyoda et al, 1997; Booth et al, 1998).

As variantes do HCV são classificadas de acordo com o percentual de homologia entre as seqüências de nucleotídeos, sendo esta homologia dependente da região genômica estudada. Assim, baseando-se em regiões relativamente conservadas como o core, e as regiões E1 e NS5B, as variantes que apresentam homologia inferior a 70% são consideradas como pertencentes a genótipos distintos e aquelas com homologia intermediária (entre 70% e 85%) são alocadas em diferentes subtipos, dentro do mesmo genótipo. Os vírus de uma mesma quasiespécie devem apresentar homologia entre 98% e 100% entre as seqüências das regiões conservadas, sendo necessária a análise de seqüências provenientes de regiões hipervariáveis, como a região HVR1, para distinguir as quasiespécies (Major & Feinstone, 1997).

A análise da seqüência de nucleotídeos das regiões conservadas do core, das regiões E1 e NS5 gerou a designação de seis genótipos distintos – 1, 2, 3, 4, 5 e 6 – subdivididos em vários subtipos dentro de cada genótipo (1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 3a, 4a, 5a, 6a, etc) (Simmonds et al, 1994). A freqüência destes genótipos e subtipos varia geograficamente, inclusive entre regiões de um mesmo país (Bukh, Miller & Purcell, 1995). Nos EUA, os genótipos mais prevalentes são o genótipo 1 (73%), 2 (14%) e 3 (8%), sendo o subtipo 1a, o mais comum (39%). O genótipo 1b possui ampla distribuição mundial, sendo considerado o mais prevalente em todo o mundo, principalmente na Europa, Japão e Taiwan. Os genótipos 2a e 2b também são comuns (10% a 30% dos casos), sendo particularmente encontrados no Japão e no Norte da Itália. O genótipo 3 é mais freqüente na Índia, Paquistão, Austrália e Escócia,

apresentando prevalência crescente nos EUA (8%). Já o genótipo 4 prevalece na África e no Oriente Médio, enquanto os genótipos mais raros, tipos 5 e 6, possuem maior prevalência no Sul da África e em Hong Kong/Macau, respectivamente (Simmonds, 1995; Blatt et al, 2000; Hoofnagle, 2002).

No Brasil, dados epidemiológicos acurados sobre a distribuição dos genótipos do HCV na população geral são escassos. Campiotto e cols., analisando 1.688 amostras provenientes de diversos estados brasileiros, mostraram que 64,9% das genotipagens corresponderam ao genótipo 1. Os genótipos 3 e 2 foram identificados em 30,2% e 4,6% dos casos, respectivamente. Os genótipos 4 e 5, em conjunto, representaram apenas 0,3% dos testes (Campiotto et al, 2005). Inquérito promovido pela SBH sugeriu maior prevalência dos genótipos 1b e 3a, variando, nos diversos estados, entre 50 e 88% e entre 9 e 41%, respectivamente (SBH, 1999).

## **1.4 Aspectos Clínicos e Diagnósticos da Infecção pelo Vírus da Hepatite C**

### **1.4.1 Apresentação Clínica**

A infecção pelo HCV pode resultar em hepatites aguda e crônica. Após um período de incubação médio de 7 semanas (variável entre 3 e 12 semanas), cerca de 30% dos pacientes agudamente infectados desenvolvem sintomas inespecíficos de febre baixa, astenia, hiporexia, cefaléia, mialgia, náuseas, desconforto abdominal, artralgias e outros. A forma clássica icterica surge em menos de um terço das infecções agudas, e é mais freqüente entre os indivíduos sintomáticos. Os sintomas gradualmente tornam-se menos intensos até alcançarem resolução completa, dentro de 1 a 3 meses (Alter et al, 1992; Alter & Seeff, 2000). Evoluções graves e prolongadas podem ocorrer, mas a capacidade do HCV de causar insuficiência hepática fulminante é motivo de controvérsia (Farci, et al, 1996).

Embora a taxa de cronificação da infecção pelo HCV não tenha sido avaliada por estudos prospectivos metodologicamente adequados, estudos retrospectivos e transversais sugerem que 75 a 85% dos indivíduos infectados pelo HCV tornam-se portadores crônicos do vírus (Alter et al, 1999; Alter & Seeff, 2000; Bellentani & Tiribelli, 2001; Seeff, et al, 2001). Menor idade (inferior a 20 ou 25 anos), gênero feminino, raça não-negra e sintomatologia intensa durante a infecção aguda (principalmente quando há icterícia) são fatores associados com menor risco de cronificação (Hoofnagle, 2002). Os motivos pelos quais há resolução espontânea em alguns casos, enquanto outros



evoluem com infecção persistente não são conhecidos. Entretanto, uma resposta imune de padrão Th1 vigorosa e diversificada parece ser essencial para o clareamento viral (Gruner et al, 2000; Lechner et al, 2000).

Tal como ocorre nas formas agudas, a maioria dos pacientes com infecção crônica pelo HCV é assintomática ou apresenta sintomas inespecíficos, leves e intermitentes, tais como fadiga, dor em quadrante superior direito do abdome, hiporexia e náuseas. Contudo, um subgrupo de portadores exibe manifestações extra-hepáticas, dentre as quais se destacam sintomas reumatológicos e cutâneos, tais como artralgias, mialgias, parestesias, prurido ou fenômeno de Raynaud. Condições de maior impacto clínico podem surgir ao longo da infecção, sendo exemplos a glomerulonefrite membranoproliferativa, a sialadenite linfocítica (com ou sem síndrome *Sicca*), os distúrbios tireoidianos auto-imunes, o líquen plano e a porfiria cutânea tarda (Poynard et al, 2003).

Fenômenos biológicos extrahepáticos são comuns, embora apenas ocasionalmente sejam acompanhados de manifestações clínicas. Dentre estas anormalidades, crioglobulinas, anticorpos antinucleares (FAN), anticorpos anti-músculo liso e níveis séricos reduzidos de tiroxina constituem as mais frequentes (prevalência superior a 5%). A crioglobulinemia mista (sintomática ou não) é a manifestação extra-hepática mais comum, podendo ser identificada em até 40% dos portadores crônicos do HCV, embora apenas 2 a 3% apresentem-se de forma sintomática com artralgias, púrpura palpável ou sinais de vasculite sistêmica (Zignego & Bréchet, 1999; Poynard et al, 2003; Agnello & De Rosa, 2004).

Outras doenças têm sido consideradas como potencialmente associadas à infecção pelo HCV, como linfomas de células B, trombocitopenia auto-imune, fibrose pulmonar idiopática, neuropatias periféricas e, até mesmo, diabetes mellitus (Agnello & De Rosa, 2004).

Icterícia, ascite, edema de membros inferiores, encefalopatia hepática, telangiectasias, eritema palmar e outros sinais e sintomas sugestivos de insuficiência hepática crônica podem surgir em indivíduos cirróticos, geralmente após duas décadas de infecção (Zignego & Bréchet, 1999; Poynard et al, 2003; Agnello & De Rosa, 2004).

A diversidade genética, mediada ou não pelo sistema HLA, e sua interação com fatores de ordem ambiental provavelmente contribuem para o polimorfismo clínico da infecção crônica pelo HCV (Obermayer-Straub & Manns, 2001).

### 1.4.2 Diagnóstico Laboratorial

Os testes diagnósticos utilizados para o manejo dos portadores de hepatite C crônica podem ser divididos em duas categorias: (1) testes indiretos, que identificam anticorpos específicos contra antígenos do HCV (anticorpos anti-HCV); e (2) testes diretos, que são capazes de detectar, quantificar e caracterizar componentes da partícula viral do HCV (Pawlotsky, 2003a). De modo geral, os testes indiretos se prestam a identificar contato prévio com o HCV, sendo geralmente utilizados para rastreamento populacional em grupos de risco ou em bancos de sangue. Por outro lado, os testes diretos são utilizados para identificar portadores crônicos (ao confirmar a replicação viral), e definir características da infecção que podem determinar o tipo e a duração da terapia antiviral, além de monitorizar a resposta terapêutica (Pawlotsky, 2003c).

Os principais testes indiretos são os EIA que detectam anticorpos contra epitopos do core e das regiões NS3, NS4 e NS5. Atualmente, o EIA de terceira geração é o teste de rastreamento mais utilizado em todo o mundo, com especificidade e sensibilidade estimadas superiores a 99% (Colin et al, 2001). Os ensaios do tipo *immunoblot* – como o RIBA – detectam anticorpos específicos contra o HCV usando antígenos virais individualmente adsorvidos em tiras de nitrocelulose, sendo, portanto, considerados também como testes indiretos. As sensibilidades do EIA de terceira geração e do RIBA são comparáveis. Embora seja eventualmente utilizado como teste suplementar, o teste RIBA possui custo relativamente alto. Deste modo, tem sido substituído pelos testes diretos no manejo da infecção pelo HCV (Carithers, Marquardt & Gretch, 2000).

Entre os testes diretos, temos a detecção qualitativa do HCV-RNA, a quantificação da carga viral do HCV; a genotipagem do HCV e a detecção e quantificação do antígeno core total do HCV. A pesquisa qualitativa do HCV-RNA é baseada na amplificação do RNA viral por técnica de PCR ou de TMA. Ambas as técnicas possuem especificidade entre 98 e 99% e são mais sensíveis do que a maioria dos ensaios quantitativos disponíveis no momento. Já estes últimos quantificam a carga viral por amplificação direta (PCR ou TMA) ou por amplificação de sinal (ensaio tipo DNA ramificado ou *branched DNA*), com especificidade semelhante aos testes qualitativos, independentemente do genótipo. A genotipagem emprega o seqüenciamento de certas regiões do genoma viral ou utiliza hibridização reversa de amplicons em fita de

nitrocelulose revestida com sondas de oligonucleotídeos genótipo-específicas (INNOLiPA) (Pawlotsky, 2003a). Por fim, foi descrito recentemente um EIA capaz de detectar e quantificar o antígeno core total do HCV, cujo título em pg/mL se correlaciona com a carga viral do HCV. Em geral, 1 pg/mL do antígeno core total equivale à cerca de 8.000 UI de HCV-RNA por mL (Bouvier-Alias et al, 2002). Contudo, estudos adicionais são necessários para confirmar sua acurácia e aplicabilidade.

### **1.4.3 Aspectos Histológicos**

A análise histológica de material obtido por biópsia hepática constitui prática fundamental para a condução clínica da hepatite C, na medida em que fornece informações importantes de caráter prognóstico, ao permitir a estimativa da progressão da doença. Além disso, auxilia na definição da necessidade de instituir terapia antiviral e permite o diagnóstico diferencial com outras doenças hepáticas (Dienstag, 2002).

Embora não sejam achados específicos da hepatite C crônica, são encontrados graus variados de infiltrado inflamatório linfomononuclear e de atividade necroinflamatória, que habitualmente são mais proeminentes nas zonas periportais, embora alterações degenerativas sejam freqüentes em hepatócitos intra-acinares. Da mesma forma, diversos estádios de fibrose hepática podem ser encontrados, desde fibrose restrita aos espaços-porta até fibrose extensa com desarranjo evidente da arquitetura lobular, configurando a cirrose hepática. Algumas características histológicas, por serem mais freqüentemente encontradas na infecção crônica pelo HCV, sugerem esta etiologia, tais como a presença de esteatose hepática (predominantemente macrovesicular), formação de agregados linfóides e lesões de ductos biliares (Goodman & Ishak, 1995).

A fim de viabilizar análise adequada da resposta histológica às diversas terapêuticas e possibilitar estudos comparativos entre populações diferentes, foram criados sistemas de escores baseados em avaliações semiquantitativas de certas variáveis histológicas. Os sistemas mais freqüentemente usados são o índice de atividade histológica de Knodell, a classificação de Ishak (modificação do escore de Knodell) e o escore de METAVIR (Knodell et al, 1981; Ishak et al, 1995; Bedossa & Poynard, 1996).

#### **1.4.4 Marcadores Não-invasivos de Fibrose Hepática**

Considerando a indefinição sobre a capacidade da análise dos fragmentos obtidos por biópsia hepática em prever a resposta à terapia antiviral, a possibilidade de inadequações amostrais, a variabilidade intra e interobservador e os riscos potenciais envolvidos no procedimento, tem havido um interesse crescente pelo estudo de marcadores não-invasivos de fibrose hepática. Esses poderiam ser úteis em casos selecionados, como naqueles em que a biópsia hepática é contra-indicada ou quando há recusa do paciente ao procedimento (Fontana & Lok, 2002). Desta forma, diversos marcadores indiretos como a relação AST/ALT, contagem de plaquetas, tempo de protrombina e marcadores diretos (enzimas envolvidas na biossíntese ou degradação da matriz extracelular) foram avaliados em estudos clínicos, mostrando acurácias variadas. Uma recente revisão sistemática demonstrou que o uso isolado das aminotransferases possui valor modesto em estimar a presença de fibrose hepática à biópsia. A mesma revisão indicou que marcadores diretos como ácido hialurônico e laminina podem ter algum papel em prever a presença de fibrose hepática significativa. Contudo, a utilização de testes combinados em painéis exibe os maiores valores preditivos positivos (Imbert-Bismut et al, 2001; Gebo et al, 2002; Poynard et al, 2002).

A despeito dos avanços obtidos com a pesquisa destes marcadores, aqueles descritos e avaliados até o momento possuem algum valor discriminativo entre a fibrose ausente/mínima ou fibrose avançada/cirrose, com pequeno valor preditivo para estádios intermediários de fibrose hepática (Gebo et al, 2002).

#### **1.5 Aspectos Evolutivos da Infecção pelo Vírus da Hepatite C**

Embora a persistência da infecção tenha sido definida como o desfecho provável da infecção aguda pelo HCV, a história natural da infecção crônica pelo HCV ainda permanece indefinida. Diversos estudos publicados sobre o tema têm mostrado resultados altamente variáveis acerca da proporção de portadores crônicos que desenvolvem fibrose avançada, cirrose hepática, insuficiência hepatocelular terminal ou carcinoma hepatocelular. Esta discrepância de resultados pode ser explicada pela heterogeneidade das populações avaliadas em relação à distribuição dos fatores associados à progressão acelerada da fibrose hepática. Além disso, as características e limitações inerentes aos desenhos dos estudos epidemiológicos provavelmente

desempenham papel importante na estimativa da progressão da doença hepática associada à infecção pelo HCV. Assim, em estudos que avaliaram candidatos à doação de sangue e coortes pós-transfusionais, a proporção estimada de pacientes que evoluem para cirrose hepática após 20 anos de infecção varia entre 4% e 24%, respectivamente (Freeman et al, 2001).

Dados acurados sobre a evolução da infecção pelo HCV são fundamentais para o manejo individual de seus portadores e para o planejamento de políticas específicas de Saúde Pública, pois permitem a identificação daqueles que necessitam de intervenção terapêutica e dos subgrupos com maior risco de desenvolvimento de complicações relacionadas ao HCV.

A seguir, serão descritas características virológicas e fatores ligados ao hospedeiro que podem se associar à progressão rápida da fibrose hepática.

### **1.5.1 Características Viroológicas e a Evolução da Hepatite C Crônica**

A importância clínica da caracterização dos genótipos e das quasiespécies tem sido motivo de grande controvérsia no meio científico. Alguns estudos identificaram um impacto negativo do genótipo 1b nos achados histológicos da doença hepática causada pelo HCV (Nousbaum et al, 1995; Silini et al, 1995; Mihm et al, 1997). Entretanto, esses estudos foram passíveis de críticas, uma vez que importantes co-fatores não foram considerados, tais como tempo de infecção e uso abusivo de etanol. Além disso, tal relação não foi demonstrada por outros estudos (Zeuzem et al, 1996; Zhou et al, 1996; Poynard et al, 1997; Poynard et al, 2001; Ghany et al, 2003). Controvérsia semelhante se aplica a potencial associação entre genótipo 1 e maior risco de desenvolvimento de carcinoma hepatocelular (CHC), associação esta que foi identificada em alguns estudos (Nousbaum et al, 1995; Silini et al, 1996; Bruno et al, 1997), mas não em todos (Yotsuyanagi et al, 1995; Romeo et al, 1996). Outros autores verificaram maiores graus de esteatose hepática e de lesão de ductos biliares (Mihm et al, 1997; Rubbia-Brandt et al, 2001) e maiores níveis de ALT em pacientes com genótipo 3a (McOmish et al, 1993). Contudo, até o presente momento, não foram demonstradas diferenças significativas entre os diversos genótipos em relação à evolução ou prognóstico da doença hepática (Poynard et al, 1997; Datz et al, 1999; Seeff, 2002).

Se o impacto histológico dos diferentes genótipos ainda é incerto, os estudos são concordantes no que diz respeito ao papel da genotipagem na estratégia terapêutica da

hepatite crônica C. Desta forma, a eficácia terapêutica dos principais esquemas utilizados tem sido sensivelmente superior entre os portadores de HCV de genótipo 2 ou 3, quando comparada à eficácia alcançada com os portadores de genótipo 1. A maior sensibilidade dos genótipos não-1 se reveste de particular significado, na medida em que a resposta virológica sustentada pode ser alcançada com a utilização de doses menores de ribavirina e com uma duração reduzida de tratamento, em comparação àquelas necessárias para a obtenção de resposta ótima em portadores do genótipo 1 (McHutchison et al, 1998; Poynard et al, 1998; Manns et al, 2001; Fried et al, 2002). Tal como ocorre com a genotipagem, a carga viral do HCV não parece exercer impacto prognóstico, embora seja importante fator preditivo de resposta à terapia antiviral quando inferior a 800.000 UI/mL (Lau et al, 1993; McHutchison et al, 1998; Fanning et al, 1999; Zeuzem et al, 2000).

A diversidade de quasiespécies tem sido considerada por alguns autores como importante fator de persistência da infecção pelo HCV, permitindo o escape da resposta imune do hospedeiro, ao impedir a formação de anticorpos capazes de reconhecer todas as variantes existentes (Ray et al, 1999; Farci et al, 2000). Esta diversidade igualmente dificultaria a resposta à terapia antiviral e o desenvolvimento de vacinas contra o HCV (Pawlotsky et al, 1998; Gómez et al, 1999; Farci et al, 2002). Todavia, considerando-se a ausência de evidências inequívocas de impacto clínico ou prognóstico e, principalmente, as dificuldades técnicas envolvidas na pesquisa das quasiespécies, sua realização rotineira torna-se dispensável.

### **1.5.2 Características do Hospedeiro e a Evolução da Hepatite C Crônica**

A imensa maioria dos estudos tem demonstrado que as características do hospedeiro são os principais determinantes da história natural da infecção crônica pelo HCV. Deste modo, a idade à época da infecção, o gênero, a ingestão abusiva de etanol, a co-infecção com HIV e a infecção dupla HBV-HCV foram identificados como fatores fortemente associados a uma rápida taxa de progressão da fibrose hepática na hepatite C. Estudos recentes sugerem que co-fatores como obesidade, esteatose hepática e diabetes mellitus exerçam também efeito deletério na evolução dos portadores de HCV (Marcellin, Asselah & Boyer, 2002; Seeff, 2002; Poynard et al, 2003).

Os mecanismos responsáveis pela influência negativa da idade na progressão da fibrose hepática não são ainda conhecidos. Entretanto, vulnerabilidade ao estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e fluxo sanguíneo reduzido podem estar envolvidos (Wynne et al, 1989; Poynter & Daynes, 1998). Independentemente da idade, indivíduos do gênero feminino exibem taxas de progressão de fibrose (TPF) aproximadamente 10 vezes menores do que indivíduos masculinos (Poynard et al, 1997; Deuffic et al, 1999; Kenny-Walsh, 1999). Modelos experimentais sugeriram que estrogênios poderiam modular a fibrogênese (Wang et al, 1998; Yasuda et al, 1999).

Considerando o fato de que o álcool, *per se*, possui efeito fibrogênico, um efeito sinérgico nocivo entre a infecção pelo HCV e o abuso etílico seria esperado. A maioria dos estudos demonstrou uma associação independente entre TPF acelerada e ingestão diária de etanol superior a 50 g, o que não foi identificado com o consumo de quantidades pequenas ou moderadas de etanol (10 a 40 g/dia) (Poynard et al, 1997; Pessione et al, 1998; Wiley et al, 1998; Khan & Yatsushashi, 2000; Poynard et al, 2001).

Em média, portadores de hepatite C crônica co-infectados com o HIV possuem TPF duas vezes maior do que indivíduos unicamente infectados pelo HCV. Idade à época da contaminação superior a 25 anos, abuso etílico (superior a 50 g/dia) e baixa contagem de linfócitos CD4 (inferior a 250 células/ $\mu$ L) são fatores associados a TPF ainda mais acelerada (Soto et al, 1997; Benhamou et al, 1999; Mohsen et al, 2003). A melhora da resposta imunológica obtida com a utilização da terapia anti-retroviral altamente ativa parece desacelerar a progressão da fibrose hepática em co-infectados HCV-HIV (Benhamou et al, 2001).

Embora não seja adotada universalmente, a nomenclatura criada por Liaw (2001) para a infecção concomitante HBV-HCV utiliza critérios cronológicos análogos àqueles classicamente usados na infecção dupla HBV-HDV. Assim sendo, a infecção aguda simultânea pelo HBV e HCV é chamada de *co-infecção* e a infecção aguda por um dos vírus ocorrida em portador crônico do outro é denominada de *superinfecção*. Quando não é possível estabelecer a ordem cronológica das infecções, a condição é denominada *infecção concorrente, conjunta* ou simplesmente *infecção dupla HBV-HCV*. Já que o HBV e o HCV compartilham de vias de transmissão semelhantes, sendo agentes passíveis de transmissão parenteral, a infecção dupla HBV-HCV não deveria ser um evento raro. De fato, estudos de soroprevalência evidenciaram a presença de infecção pelo HCV em 10 a 18% dos portadores de hepatite B crônica (Fattovich et al, 1991; Fong et al, 1991; Crespo et al, 1994; Ohkawa et al, 1994; Dai et al, 2001) e

marcadores sorológicos de infecção prévia pelo HBV são encontrados em cerca de 40% dos pacientes com hepatite crônica C (Cacciola et al, 1999; Marusawa et al, 1999; De Maria et al, 2000). A infecção dupla HBV-HCV pode resultar na supressão replicativa de um dos vírus – HBV inibindo o HCV (Fong et al, 1991; Crespo et al, 1994; Ohkawa et al, 1994; Lau et al, 1998; Fukuda et al, 1999; Wang, Ng & Lo, 1999) ou HCV suprimindo o HBV (Mimms et al, 1993; François et al, 1994; Sato et al, 1994; Uchida et al, 1997; Zarski et al, 1998; Guido et al, 1999; Mathurin et al, 2000) – ou pode acarretar a inibição recíproca de ambos os vírus (Sagnelli et al, 2000). A ação inibitória de um vírus sobre o outro parece não ser estática, uma vez que estudos longitudinais sugerem a possibilidade de dominância alternada ao longo do tempo (Pontisso et al, 1993; Koike et al, 1995; Ohkawa et al, 1995). Apesar desta inibição recíproca, pacientes com infecção dupla HBV-HCV geralmente exibem apresentação clínica e achados histológicos mais graves, quando comparados a indivíduos mono infectados (Colombari et al, 1993; Crespo et al, 1994; Alberti et al, 1995; Zarski et al, 1998; Mathurin et al, 2000; Pace, 2001), embora estes achados não tenham sido corroborados por todos os estudos (Moraleda et al, 1991; Chan et al, 1991; Sato et al, 1994; Dai et al, 2001). Se, por um lado, a replicação significativa do HBV parece exercer dano hepático sinérgico na presença do HCV, o impacto clínico-histológico da replicação em baixos níveis do HBV em portadores crônicos do HCV é ainda incerto.

## **1.6 Infecção Oculta pelo Vírus da Hepatite B**

Após uma infecção aguda pelo HBV adquirida na vida adulta, cerca de 95% dos indivíduos obtêm resolução da infecção, normalização das aminotransferases, soroconversão HBeAg–anti-HBe e, finalmente, soroconversão HBsAg–anti-HBs. Desta forma, a negativação sérica do HBsAg associada ao surgimento do anticorpo anti-HBs são classicamente reconhecidos como marcadores de clareamento viral. Este desfecho é chamado de “infecção resolvida pelo HBV” e os indivíduos que desenvolvem este perfil sorológico são freqüentemente considerados como “curados”, não merecendo cuidados médicos específicos posteriores. Entretanto, vários estudos têm demonstrado que a recuperação de um episódio de hepatite B aguda ou mesmo a resposta virológica induzida por terapia antiviral podem não resultar em eliminação completa do HBV, havendo persistência de DNA viral em quantidade detectável por ensaios baseados em técnica de PCR de alta sensibilidade. A presença de HBV-DNA em



amostras séricas ou de tecido hepático em pacientes com HBsAg negativo tem sido chamada de **infecção oculta pelo HBV**. Esta condição, também chamada de “infecção latente pelo HBV”, “infecção silenciosa pelo HBV” ou ainda “infecção HBsAg-negativa pelo HBV”, já foi descrita em populações de perfis variados, desde indivíduos normais (população geral e doadores de sangue) até portadores de carcinoma hepatocelular (Grob et al, 2000; Bréchet et al, 2001; Conjeevaram & Lok, 2001; Hu, 2002; Torbenson & Thomas, 2002; Allain, 2004). A seguir, serão discutidos os aspectos epidemiológicos, possíveis mecanismos fisiopatogênicos e a relevância clínica desta entidade.

### **1.6.1 Aspectos Epidemiológicos da Infecção Oculta pelo HBV**

A inexistência de estudos de prevalência em populações não selecionadas, a diversidade de sensibilidades e a ausência de padronização das técnicas de Biologia Molecular utilizadas nos diversos estudos contribuem sobremaneira para que a real prevalência da infecção oculta pelo HBV não seja conhecida. Fato comum a estes estudos é a maior frequência de positividade em amostras de tecido hepático em comparação com as amostras séricas. Além disso, os estudos são igualmente concordantes em demonstrar que a infecção oculta pelo HBV cursa com baixos níveis de HBV-DNA, em geral, inferiores a  $10^4$  cópias/mL no soro e ao redor de 0,01 a 0,1 cópia/hepatócito (Paterlini et al, 1995; Cacciola et al, 2000; Weinberger et al, 2000; Bréchet et al, 2001). Assim, a prevalência da infecção oculta pelo HBV é dependente do tipo de material analisado e da sensibilidade do ensaio utilizado. Da mesma forma, aumenta na proporção direta da endemicidade da infecção crônica pelo HBV na região estudada, assim como varia significativamente em função do tipo de subgrupo avaliado (menor em pré-doadores de sangue e maior em indivíduos com indícios de hepatopatia ou infectados pelo HCV ou HIV).

Entre indivíduos com hepatite crônica HBsAg-negativa, o HBV-DNA pode ser identificado em 3,5 a 70% dos casos (média de 40%), com maior frequência na presença de anti-HBc positivo com ou sem anti-HBs do que entre pacientes com sorologia negativa para HBV (média de 43% vs. 37%) (Liang et al, 1991; Porchon et al, 1992; Sanchez-Quijano et al, 1993; Joller-Jemelka, Wicki & Grob, 1994; Scully et al, 1994; Zignego et al, 1994; Chung, Lai & Lok, 1995; Jilg et al, 1995; Fukuda et al, 1996; Attallah et al, 1998; Berasain et al, 2000; Chemin et al, 2001; Chaudhuri et al, 2004). Estudos envolvendo portadores de carcinoma hepatocelular HBsAg-negativos

detectaram a presença de infecção oculta pelo HBV em mais de 50% dos pacientes com anti-HBc positivo e em aproximadamente um terço dos indivíduos sem marcadores sorológicos de contato prévio com o HBV (Paterlini et al, 1990; Coursaget et al, 1991; Ruiz et al, 1992; Sheu et al, 1992; Paterlini et al, 1993; Zhang et al, 1993; Enriquez et al, 1994; Bréchet et al, 1998; Shiota et al, 2000; Yotsuyanagi et al, 2000; Pollicino et al, 2004). Ainda no campo das hepatopatias de etiologia indeterminada, 0 a 80% das amostras de soro e 0 a 50% dos fragmentos de tecido hepático, provenientes de pacientes com hepatite aguda idiopática, com ou sem insuficiência hepática aguda, têm o HBV-DNA detectável por PCR (Wright et al, 1992; Feray et al, 1993; Liang et al, 1993; Sallie et al, 1993; Thiers et al, 1993; Mutimer et al, 1995; Inokuchi et al, 1996; Mason et al, 1996; Uchida et al, 1997).

Outro contexto clínico em que a infecção oculta pelo HBV foi pesquisada diz respeito à persistência de HBV-DNA detectável após a aparente resolução da infecção aguda ou após a perda do HBsAg em portadores crônicos. Estudos com longos períodos de seguimento demonstraram que cerca de 65% dos indivíduos que haviam resolvido espontaneamente a infecção aguda pelo HBV possuíam HBV-DNA detectável no soro, 10 a 30 anos depois (Penna et al, 1996; Rehmann et al, 1996; Bläckberg & Kidd-Ljunggren, 2000; Yotsuyanagi et al, 1998). Já entre aqueles portadores crônicos do HBV que clarearam o HBsAg, de forma espontânea ou induzida por terapia antiviral, o HBV-DNA pode ser identificado em 28% e 94% das amostras de soro e tecido hepático, respectivamente (Adachi et al, 1992; Hsu et al, 1992; Kuhns et al, 1992; Mason et al, 1992; Fong et al, 1993; Chung, Lai & Lok, 1995; Bahn et al, 1997; Loriot et al, 1997; Huo et al, 1998; Gandhi et al, 2000; Kato et al, 2000; Ahn et al, 2005).

A infecção oculta pelo HBV não é restrita àqueles com doença hepática, podendo ser encontrada na ausência de sinais clínicos ou laboratoriais de hepatopatia. Estudos que avaliaram amostras populacionais aleatórias e pré-doadores de sangue evidenciaram taxas de positividade do HBV-DNA que variaram entre 0 a 58% e 0 a 50%, respectivamente (Shih et al, 1990; Coursaget et al, 1991; Pao et al, 1991; Chabaud et al, 1993; Jilg et al, 1995; Jurinke et al, 1998; Noborg et al, 2000; Sûnbûl et al, 2000; Weinberger et al, 2000). Neste contexto, a infecção oculta pelo HBV praticamente se restringe a indivíduos com HBsAg negativo, anti-HBc positivo com ou sem anti-HBs, à exceção de alguns casos descritos em indivíduos com sorologia negativa.

Indivíduos infectados pelo HCV ou pelo HIV, freqüentemente envolvidos em exposições parenterais, encontram-se sob risco aumentado de contato com o HBV e, portanto, poder-se-ia esperar que a prevalência da infecção oculta pelo HBV fosse elevada nestes subgrupos. De fato, cerca de 40% dos indivíduos com hepatite C crônica, com ou sem carcinoma hepatocelular, possuem o genoma viral do HBV detectável, principalmente na presença de anti-HBc total positivo. Tal como ocorre com estudos com outros subgrupos, a positividade da pesquisa de HBV-DNA é mais freqüente em fragmentos obtidos por biópsia hepática do que em amostras séricas (Ohkoshi, 1991; Ruiz et al, 1992; Sheu et al, 1992; Paterlini et al, 1993; Gonzalez et al, 1995; Villa et al, 1995; Lee et al, 1997; Takeuchi et al, 1997; Uchida et al, 1997; Zignego et al, 1997; Cacciola et al, 1999; Fukuda et al, 1999; Shibata et al, 1999; Sugawara, Makuuchi & Takada, 1999; Tamori et al, 1999; Sagnelli et al, 2000; Shintani et al, 2000; Gonçalves Júnior et al, 2003; Pollicino et al, 2004; Torbenson et al, 2004; Wagner et al, 2004; Hui et al, 2006). Já entre indivíduos HIV-positivo, o HBV-DNA foi detectado em 0 a 60% dos indivíduos com anti-HBc isolado, principalmente na presença de infecção dupla com HCV (Hofer et al, 1998; Núñez et al, 2002; Piroth et al, 2002; Gonçalves Júnior et al, 2003; Santos et al, 2003; Wagner et al, 2004; Neau et al, 2005; Mphahlele et al, 2006).

### **1.6.2 Mecanismos Fisiopatogênicos da Infecção Oculta pelo HBV**

A fisiopatogenia da infecção oculta pelo HBV é ainda apenas parcialmente compreendida sendo, provavelmente, multifatorial. Não é sabido se a presença de replicação residual do HBV traduz de fato um evento de relevância biológica ou se reflete meramente um epifenômeno cuja detecção tornou-se possível com o advento de novas técnicas de Biologia Molecular altamente sensíveis. Fatores imunológicos, interferência viral e mutações do HBV são alguns dos mecanismos possivelmente implicados.

### **Fatores Imunológicos**

O desfecho da infecção aguda pelo HBV – resolução ou cronificação – depende da cinética da interação vírus-hospedeiro, a qual é determinada, fundamentalmente, pela intensidade e qualidade da resposta imune do hospedeiro, inata e adaptativa, humoral e celular.

O fígado é um órgão rico em células envolvidas na resposta imune inata, tais como células *natural killer* (NK), células T *natural killer* (NKT), macrófagos especializados (células de Kupffer) e células dendríticas. Estas células podem promover a lise de hepatócitos infectados e são capazes de produzir diversas citocinas pró-inflamatórias que exercem atividade inibitória direta não-citolítica sobre a replicação viral. Assim, as células envolvidas na resposta imune inata são as responsáveis pela primeira etapa do controle viral, ainda no período de incubação. Nos casos em que o sistema imune obtém sucesso em controlar a infecção aguda pelo HBV e evita a persistência da infecção, o clareamento da maior parte dos vírions ocorre durante o período de incubação (Rehermann, 2003). Em seguida, há uma amplificação do infiltrado inflamatório no parênquima hepático, fenômeno que coincide com indícios clínicos de injúria hepática aguda. Este infiltrado é resultante da ação de macrófagos e células dendríticas que, além de promoverem a ativação e manutenção da resposta imune inata, produzem diversas citocinas capazes de recrutar e ativar um contingente adicional de células inflamatórias inespecíficas e antígeno-específicas.

Uma terceira e importante função da resposta imune inata é a de iniciar a resposta imune adaptativa (antígeno-específica), através da criação de um ambiente propício de citocinas e quimiocinas, recrutamento de células inflamatórias linfomonucleares e otimização da expressão de antígenos virais por meio de moléculas de MHC classe I. A resposta imune adaptativa reconhece especificamente os hepatócitos infectados pelo HBV e induz e perpetua a memória imunológica HBV-específica. Portanto, em última análise, a imunidade adaptativa é responsável pelo controle definitivo da replicação viral na infecção pelo HBV e pela proteção contra a re-infecção (Rehermann, 2003). Este controle se associa a uma resposta imune intensa, policlonal e multiespecífica mediada por linfócitos T CD4+ e CD8+, direcionada às diversas proteínas do HBV. Sinais indiretos da ação destas células podem ser identificados anteriormente à elevação das aminotransferases, ao clareamento do HBeAg e do HBsAg e à síntese de anticorpos neutralizantes (Rehermann et al, 1995; Maini et al, 1999). Os linfócitos T CD4+ promovem a ativação e a diferenciação dos linfócitos B para a produção de anticorpos HBV-específicos (resposta Th2, mediada por interleucinas 4, 5 e 6) e ativam macrófagos, que passam a fagocitar os hepatócitos infectados (resposta Th1, mediada por interferon  $\gamma$ , TNF $\alpha$  e interleucina 2). Já os linfócitos CD8+, ativados pelos linfócitos CD4+ (resposta Th2) e pelas células dendríticas, atuam em três frentes: lise de hepatócitos infectados, indução de apoptose (por contato direto) e inibição da

replicação e expressão gênica do HBV por mecanismos não-citolíticos, com a participação de  $TNF\alpha$  e interferon  $\gamma$  (Ando et al, 1994; Guidotti et al, 1996; Guidotti, et al 1999; Jung & Pape, 2002; Rehermann, 2003).

Após a resolução da hepatite B aguda, há uma redução drástica do número de linfócitos T CD4+ e CD8+ HBV-específicos, tanto no fígado quanto no sangue periférico. Entretanto, a responsividade das células restantes a uma eventual re-exposição a peptídeos virais é preservada por várias décadas após a recuperação clínica e sorológica completa da infecção aguda, havendo rápida proliferação de clones de linfócitos T e produção de citocinas (Penna et al, 1996; Rehermann et al, 1996; Maini et al, 1999). A manutenção da responsividade dos linfócitos CD4+ provavelmente decorre do estímulo antigênico contínuo, fornecido por antígenos virais retidos e apresentados por células dendríticas contidas em linfonodos regionais. Por outro lado, a ativação dos linfócitos CD8+ depende da apresentação de peptídeos derivados de proteínas de síntese endógena. Desta forma, a rápida resposta dos linfócitos CD8+ a um novo contato com antígenos do HBV vários anos ou décadas após a resolução do quadro agudo sugere a presença de partículas virais produzidas por transcrição ativa (Rehermann, 2003). Além disso, a persistência de pequenos níveis de HBV-DNA circulante correlacionou-se à intensidade da resposta imune induzida mediada por linfócitos T HBV-específicos (Rehermann et al, 1996).

Assim, a persistência da replicação do HBV em pequena escala pode prover, de forma contínua, o mínimo estímulo antigênico necessário para a manutenção de linfócitos T HBV-específicos. Estas células, por conseguinte, juntamente com anticorpos dirigidos contra o HBV, poderiam controlar a replicação viral, prevenindo o recrudescimento da doença hepática.

### **Interferência Viral**

Nos últimos vinte anos, vários estudos sobre infecções múltiplas por vírus hepatotrópicos têm documentado a capacidade de um vírus exercer efeito inibitório sobre a atividade replicativa do(s) outro(s). É sabido que o HDV exerce potente efeito inibitório sobre a replicação do HBV e, mais recentemente, postula-se que o HCV possa também exercer ação supressora sobre a replicação do HBV, mantendo-a em níveis mínimos. Esta inibição já foi demonstrada em modelos animais (chimpanzés) e em estudos em humanos, os quais detectaram níveis baixos de HBV-DNA e uma maior

freqüência de clareamento do HBsAg (Brotman et al, 1983; Mimms et al, 1993). Também estudos *in vitro* identificaram evidências moleculares da capacidade inibitória do HCV sobre a expressão de proteínas do HBV (Shih et al, 1993; Uchida et al, 1997). Além disso, a infecção dupla HBV-HCV parece favorecer o surgimento de deleção específica em uma região do gene X, mutação esta que não tem sido descrita em portadores de hepatite B crônica HBsAg-positiva (Fukuda et al, 1996; Uchida et al, 1997; Fukuda et al, 1999). Em um modelo de co-transfecção em culturas de células HuH-7, esta mutação foi associada a uma redução significativa da expressão de HBsAg nas células com HBV-DNA mutante co-transfectadas com HCV-RNA. Esta mutação também se associou a uma maior carga viral do HCV em indivíduos com infecção dupla HBV-HCV com HBsAg negativo, quando comparados àqueles com infecção apenas pelo HCV (Fukuda et al, 1999). Todavia, é improvável que esta mutação explique completamente a interferência do HCV sobre o HBV, considerando que cerca de 30% dos portadores daquela deleção também abrigam a variante nativa do HBV, o que deveria assegurar atividade replicativa próxima do habitual (Fukuda et al, 1999).

### **Mutações do HBV**

A variabilidade genética do HBV já foi detalhadamente descrita em indivíduos HBsAg-positivo e tal variabilidade poderia ser igualmente aplicada aos portadores de infecção oculta pelo HBV (Bréchet et al, 2001; Locarnini, McMillan & Bartholomeusz, 2003). Mutações nas regiões S, pré-S1 e pré-S2 têm sido associadas com prejuízo da capacidade replicativa, diminuição da infectividade das partículas virais e redução da expressão do HBsAg, o que poderia justificar os níveis baixos de HBV-DNA tipicamente encontrados em portadores da infecção oculta e a ausência de HBsAg detectável pelos métodos atualmente utilizados (Melegari, Bruno & Wands, 1994; Hou et al, 1995; Carman, 1997; Weinberger et al, 2000; Chaudhuri et al, 2004; Minuk et al, 2005). Além das mutações S/pré-S, uma deleção específica de oito nucleotídeos na região distal da fase de leitura aberta do gene X do HBV tem sido identificada em portadores crônicos do HCV com infecção oculta pelo HBV.

É fundamental ressaltar, entretanto, que outros estudos demonstraram que a maioria das infecções HBsAg-negativa se associavam a variantes nativas do HBV (Marusawa et al, 2000; Wagner et al, 2004). Além disso, as dificuldades técnicas

inerentes à manipulação de cargas virais baixas dificultam a amplificação de seqüências genômicas completas do HBV, o que inviabiliza a avaliação do impacto real destas mutações no contexto da infecção oculta pelo HBV (Bréchet et al, 2001; Hu, 2002).

### **Outros Mecanismos Fisiopatogênicos da Infecção Oculta pelo Vírus da Hepatite B**

Outros fatores poderiam estar envolvidos no desenvolvimento da infecção oculta pelo HBV, tais como a integração de seqüências de HBV-DNA no DNA cromossômico do hospedeiro (Lai et al, 1990; Paterlini et al, 1990), infecção de células mononucleares periféricas (Pasquinelli et al, 1986; Bouffard et al, 1990; Mason et al, 1992), formação de imunocomplexos HBsAg/anti-HBs (Shafritz et al, 1982; Joller-Jemelka, Wicki & Grob, 1994; Yotsuyanagi et al, 1998), mutações genótipo-específicas do HBV (Weinberger et al, 2000), etilismo (Nalpas et al, 1992; Ganne-Carrié et al, 1995) e outros ainda não identificados.

#### **1.6.3 Relevância Clínica da Infecção Oculta pelo HBV**

Embora a existência da infecção oculta pelo HBV tenha sido documentada há vários anos, a importância clínica desta entidade não foi ainda completamente compreendida. Existem indícios de que a infecção oculta pelo HBV possa exercer papel patogênico em diversos contextos clínicos, de forma direta ou em ação sinérgica com outros agentes.

Os primeiros indícios da existência da infecção oculta pelo HBV surgiram há mais de duas décadas, quando da observação de casos de hepatite B aguda pós-transfusional a partir de doadores com HBsAg negativo e anti-HBc positivo (Hoofnagle et al, 1978; Lander et al, 1978). Em seguida vários outros relatos de hepatite B aguda pós-transfusional foram descritos, envolvendo doadores sem marcadores sorológicos de infecção pelo HBV (Thiers et al, 1988; Larsen, Hetland & Skaug, 1990; Baginski, Chemin & Hantz, 1992; Thiers et al, 1993). O risco de transmissão transfusional do HBV é de 1/63.000 nos Estados Unidos da América, 1/260.000 na Inglaterra e 1/2.077 no Brasil (Schreiber et al, 1996; Kupek, 2001; Soldan et al, 2003). Embora este risco possa ser considerado pequeno, mantém-se muito superior ao risco de transmissão

transfusional do HCV. A infecção oculta pelo HBV poderia contribuir para esta discrepância (Hu, 2002).

A transmissibilidade do HBV a partir de portadores de infecção oculta não se restringe à via transfusional, tendo sido também observada em casos de hepatite B *de novo* após transplante hepático com utilização de enxertos provenientes de doadores HBsAg-negativo e anti-HBc-positivo (Chazouillères et al, 1994; Wachs et al, 1995; Dickson et al, 1997; Uemoto et al, 1998). O risco de aquisição do HBV neste contexto foi estimado entre 25 e 94% (Dickson et al, 1997; Uemoto et al, 1998; Chung, Feng & Delmonico, 2001).

Entre indivíduos com insuficiência renal crônica em hemodiálise, a prevalência de infecção oculta pelo HBV é variável, com taxas variando entre 0 a 36% (Dueymes et al, 1993; Cabrerizo et al, 1997; Besisik et al, 2003; Fabrizi et al, 2005). Contudo, o risco de aquisição do HBV após transplante renal com doador portador de HBV oculto parece ser menor do que aquele associado ao transplante hepático (Wachs et al, 1995).

A infecção oculta pelo HBV parece ser particularmente perigosa em imunossuprimidos (Pao et al, 1987). Nestes indivíduos, condições intrinsecamente imunossupressoras ou agentes citotóxicos podem promover a reativação da replicação viral, propiciando o recrudescimento da doença hepática. Embora a reativação da hepatite B crônica em imunodeprimidos com infecção oculta pelo HBV seja menos freqüente e menos grave do que em indivíduos previamente HBsAg-positivo, casos de insuficiência hepática aguda já foram descritos neste contexto (Lok et al, 1991; Chen et al, 1993; Lau et al, 1997; Iwai et al, 2000; Perrillo, 2001).

Conforme discutido anteriormente, a infecção oculta pelo HBV está freqüentemente implicada nas hepatites agudas idiopáticas e hepatopatias crônicas criptogênicas. A apresentação destas condições exhibe gravidade variável, tendo sido descritos casos de hepatites agudas benignas, de insuficiência hepática aguda, elevações persistentes e assintomáticas de aminotransferases associadas a lesões hepáticas mínimas e relatos de fibrose hepática progressiva e cirrose (Sallie et al, 1993; Inokuchi et al, 1996; Chemin et al, 2001; Berasain et al, 2000; Chaudhuri et al, 2000).

O HBV-DNA tem sido detectado em amostras de tecido hepático tumoral e não tumoral em portadores de carcinoma hepatocelular, sob forma episomal ou integrada, por ensaios baseados em PCR e técnicas otimizadas de *Southern Blot* (Paterlini et al, 1995; Urashima et al, 1997; Ohba et al, 2004). Embora possa também ser identificado



em pacientes sorologicamente negativos, parece ser mais prevalente entre indivíduos anti-HBc-positivo e/ou anti-HBs-positivo (Yu et al, 1997; Bréchet et al, 1998; Huo et al, 1998; Shiota et al, 2000; Pollicino et al, 2004). A alta prevalência de HBV-DNA em adultos e crianças com carcinoma hepatocelular HBsAg-negativo surgidos em fígados não-cirróticos sugere que o potencial oncogênico do HBV não possa ser totalmente explicado pelo desenvolvimento de cirrose hepática (Pontisso et al, 1992; Paterlini et al, 1995; Poussin et al, 1999). Deste modo, a persistência de genomas do HBV, ainda que em níveis baixos, se associa ao surgimento e manutenção de processo inflamatório no parênquima hepático, o qual pode promover o desenvolvimento de CHC (Bläckberg & Kidd-Ljunggren, 2000; Bréchet et al, 2000; Bréchet et al, 2001).

O impacto da infecção oculta pelo HBV em portadores de infecção crônica pelo HCV tem sido alvo de vários estudos. A similaridade de modos de transmissão favorece a ocorrência de infecção dupla HBV-HCV. De fato, 22 a 96% dos portadores crônicos do HCV apresentam evidências sorológicas de contato prévio com o HBV (Gonçales Júnior et al, 1993; Uchida et al, 1997; Koike et al, 1998; Cacciola et al, 1999; Marusawa et al, 1999; De Maria et al, 2000; Khan et al, 2000; Hope et al, 2001; Kao et al, 2002; Ortiz et al, 2002; Giannini et al, 2003; Myers, Thibault & Poynard, 2003; Fabris et al, 2004; Georgiadou et al, 2004; Torbenson et al, 2004; Wedemeyer et al, 2004).

Da mesma forma, a semelhança epidemiológica tornaria provável uma maior prevalência da infecção oculta pelo HBV em portadores do HCV. Corroborando esta hipótese, entre indivíduos HBsAg-negativos com hepatite C crônica, com ou sem carcinoma hepatocelular, o HBV-DNA foi detectado no soro em 20 a 30% dos casos e identificado em 40 a 50% dos fragmentos de tecido hepático (Bréchet et al, 2001).

Do ponto de vista diagnóstico, a ação inibitória do HCV sobre a expressão gênica do HBV poderia favorecer a redução dos títulos de HBsAg, prejudicar a resposta imune humoral HBV-específica e manter cargas virais baixas do HBV, dificultando a identificação da infecção. Estes eventos podem ser inferidos a partir de estudos que demonstraram menor reatividade à vacina contra HBV ou HAV em indivíduos com HCV (Keeffe et al, 1998; Wiedmann et al, 2000). A maior prevalência da infecção pelo HCV em portadores do perfil sorológico chamado de “anti-HBc isolado” igualmente sugere um efeito inibitório sobre o sistema imune humoral mediado pelo HCV (Jilg et al, 1995; Koike et al, 1998; Greub & Frei, 2000; Wedemeyer et al, 2004).

Já o impacto da presença do HBV oculto na apresentação clínica e evolução dos portadores crônicos do HCV é ainda motivo de grande controvérsia. Estudos têm

demonstrado que portadores crônicos do HCV com infecção oculta pelo HBV apresentam prevalência aumentada de fibrose hepática avançada (Villa et al, 1995; Cacciola et al, 1999; Stransky et al, 2000), pior resposta ao tratamento com interferon-alfa (Liaw et al, 1997; Zignego et al, 1997; Cacciola et al, 1999; Fukuda et al, 1999; De Maria et al, 2000; Fukuda et al, 2001) e maior risco de desenvolvimento de CHC (Sheu et al, 1992; Paterlini et al, 1993; Lee et al, 1997; Bréchet et al, 1998; Squadrito et al, 2006). Fato surpreendente é que estes achados foram também encontrados em portadores de hepatite crônica C com indícios sorológicos de infecção prévia pelo HBV – anti-HBc positivo com ou sem anti-HBs – independentemente da positividade do HBV-DNA (Shev et al, 1997; Zignego et al, 1997; Bonino, 1998; Marusawa et al, 1999; Shibata et al, 1999; Tagger et al, 1999; De Maria et al, 2000; Sagnelli et al, 2001; Giannini et al, 2003; Imazeki et al, 2003). Todavia, outros autores não identificaram tal sinergismo nocivo, observando doença hepática histologicamente semelhante e resposta à terapia antiviral equivalentes entre pacientes com infecção dupla HBV-HCV, portadores de HCV com anti-HBc positivo e mono infectados pelo HCV (Kazemi-Shirazi, Petermann & Müller, 2000; Khan et al, 2000; Nirei et al, 2000; Kao et al, 2002; Berberova et al, 2003; Myers, Thibault & Poynard, 2003; Silva et al, 2004; Hasegawa et al, 2005; Hui et al, 2006).

Considerando as taxas altas de prevalência de infecção dupla HBV-HCV e de contato prévio com o HBV entre portadores de HCV, os potenciais efeitos deletérios sinérgicos desta associação e os dados discrepantes da literatura, tornam-se relevantes a determinação da prevalência da infecção oculta e da infecção prévia pelo HBV em portadores crônicos do HCV em pacientes brasileiros e a caracterização do significado clínico destas condições.

## 2 OBJETIVOS

Nesta tese, que inclui portadores de infecção crônica pelo HCV, os seguintes objetivos foram propostos:

1. Determinar a prevalência de marcadores sorológicos de infecção prévia pelo HBV;
2. Determinar a prevalência da infecção oculta pelo HBV; e
3. Analisar as características clínicas, laboratoriais, virológicas e histológicas dos portadores crônicos do HCV com infecção prévia/oculta pelo HBV e compará-las com as dos pacientes infectados unicamente pelo HCV.

## 3 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 Desenho do Estudo

Estudo analítico retrospectivo, realizado por meio de revisão de prontuários.

### 3.2 Casuística

Foram elegíveis pacientes com infecção crônica pelo HCV acompanhados no Ambulatório de Hepatites da Escola Paulista de Medicina – UNIFESP entre os anos de 1998 e 2002 e cadastrados em banco de dados *Microsoft® Access para Windows*.

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital São Paulo, em 23 de novembro de 2001 (parecer n.º 1224/01).

A fim de selecionar os pacientes para análise no presente estudo, foram utilizados os critérios de inclusão e exclusão descritos a seguir.

#### 3.2.1 Critérios de Inclusão

- HCV-RNA qualitativo no soro positivo por PCR;
- Tempo de infecção pelo HCV presumível (exposição parenteral definida);
- Biópsia hepática com material adequado para análise histológica; e
- Ausência de tratamento antiviral anterior à biópsia hepática.

#### 3.2.2 Critérios de Exclusão

- Modo de aquisição do HCV desconhecido ou não-parenteral;
- Transfusão de hemoderivados após 1992;
- HBsAg positivo no soro;
- Infecção pelo HIV;
- Uso de drogas imunossupressoras;
- Insuficiência renal crônica (creatinina sérica > 2,0 mg/dL);
- Ingestão diária de álcool superior a 50 g (Peters & Terrault, 2002); e
- Registro insuficiente de dados clínicos e laboratoriais nos prontuários.

### 3.3 Métodos

Dados clínicos e laboratoriais foram coletados a partir de registros contidos no prontuário geral do Hospital São Paulo e em prontuário-padrão usado pelo Setor de Hepatites. Os pacientes incluídos no estudo foram analisados quanto às suas características clínico-epidemiológicas, laboratoriais e histológicas.

A planilha de dados encontra-se no Anexo 1.

#### 3.3.1 Variáveis Clínico-epidemiológicas

- Gênero;
- Raça;
- Modo provável de aquisição do HCV: uso parenteral de drogas com compartilhamento de material para injeção (drogas intravenosas ilícitas ou substâncias ditas “energéticas”) ou transfusão de hemoderivados;
- Tempo estimado de infecção pelo HCV, definido a partir do ano da primeira transfusão de hemoderivados ou do primeiro ano de uso parenteral de drogas (Thomas et al, 1995; Garfein et al, 1996);
- Idade à época da infecção;
- Idade na ocasião da biópsia hepática; e
- Indícios de descompensação hepática, definidos como a presença ou história de ascite, encefalopatia hepática, hemorragia digestiva alta (por ruptura de varizes esofágicas/gástricas ou gastropatia hipertensiva) ou carcinoma hepatocelular.

#### 3.3.2 Variáveis Laboratoriais

##### Testes Bioquímicos Hepáticos

- Alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST): analisadas por método cinético automatizado em equipamento Hitache 917 e com reagentes Beringher Mannheim<sup>®</sup>, com temperaturas entre 27° e 37°C. Os valores de referência para ALT são de até 41 U/L para homens e de até 31 U/L para mulheres. Para a AST, os valores normais são de até 38 U/L para indivíduos do gênero masculino e de até 32 U/L para indivíduos do gênero feminino; e

- Gama-glutamyltransferase (GGT): também analisada por método cinético automatizado, com temperaturas entre 27° e 37°C. Os valores de referência são de até 49 U/L para homens e de 32 U/L para mulheres.

### Testes de Função Hepática

- Atividade de protrombina (AP): analisada pelo método de Quick modificado. Valores entre 70 e 100% são considerados normais; e
- Albumina (Alb): obtida a partir dos resultados da eletroforese de proteínas em fitas de acetato de celulose. Valores normais iguais ou superiores a 3,5 g/dL.

Estas análises foram executadas no Laboratório Central do Hospital São Paulo da Escola Paulista de Medicina – UNIFESP.

Os resultados utilizados para análise foram obtidos pela média de pelo menos duas determinações realizadas em até seis meses da data da biópsia hepática. Tais resultados foram expressos sob a forma de um índice, definido pelo quociente entre a média dos valores obtidos e o limite superior do normal (LSN) para o gênero. Deste modo, um teste foi considerado elevado ao assumir valor igual ou superior a 1 vez o LSN. As variáveis AP e Alb foram expressas em seus valores absolutos.

### Testes Sorológicos e Moleculares

- anti-HCV: testado por EIA de 3.<sup>a</sup> geração com kits *HCV EIA 3.0*, que utiliza antígenos das regiões do core, NS3, NS4 e NS5 (Abbott Diagnostic, Chicago, IL, EUA);
- HCV-RNA qualitativo: detectado por técnica de PCR com kits comerciais *AMPLICOR<sup>®</sup> Hepatitis C Virus (HCV) Test, version 2.0* (Roche Molecular Systems, Branchburg, NJ, EUA). Este ensaio utiliza os *primers* KY78 e KY80 para definir uma seqüência de 244 nucleotídeos pertencente à região 5'-UTR do genoma do HCV. Seu limite inferior de detecção, definido pelo fabricante, é de 50 UI/mL;
- Determinação do genótipo do HCV (genotipagem): por meio de PCR seguida por RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) na região 5' NCR;

- HBsAg, anti-HBc total e anti-HBs: testados por ensaios imunoenzimáticos com micropartículas (MEIA; IMx® HBsAg, IMx® Core e IMx® AusAb, Abbott Laboratories, North Chicago, IL, EUA); e
- HBV-DNA quantitativo: com o uso de kits *Amplicor HBV MONITOR® Test* (Roche Molecular Systems, Branchburg, NJ, EUA). O alvo de amplificação deste teste é definido por dois pares de *primers* HBV-104UB e HBV-104D. Estes *primers* amplificam uma seqüência altamente conservada de 104 pares de bases na região pré-core/Core do genoma do HBV. A faixa dinâmica de detecção, definida pelo fabricante, é de 1.000 a 40.000.000 cópias/mL.

Os testes sorológicos e moleculares foram realizados no Laboratório do Setor de Hepatites da Disciplina de Gastroenterologia da Escola Paulista de Medicina – UNIFESP, a partir de amostras séricas adequadamente estocadas, que foram coletadas em até 6 meses da realização da biópsia hepática. A genotipagem foi feita no Centro de Genomas – Laboratório de Biologia Molecular (São Paulo, SP). Os testes foram realizados de acordo as especificações dos fabricantes e seus resultados foram expressos como positivo, negativo ou sob a forma de valor absoluto, conforme o caso.

A presença de HBV-DNA detectável em amostras de soro foi definida como **infecção oculta pelo HBV**. O achado de anti-HBc total positivo, com anti-HBs positivo ou negativo, na ausência de HBV-DNA detectável, foi caracterizado como **infecção prévia pelo HBV**.

### 3.3.3 Variáveis Histológicas

Conforme rotina adotada pelo Setor de Hepatites da Disciplina de Gastroenterologia da UNIFESP, a biópsia hepática foi indicada em todos os pacientes com HCV-RNA positivo, independentemente dos níveis séricos das aminotransferases.

Na rotina deste Setor, são contra-indicações para a realização da biópsia hepática: AP inferior a 50%, contagem plaquetária inferior a 50.000/mm<sup>3</sup> e anticoagulação sistêmica.

Os fragmentos de tecido hepático foram obtidos através de biópsia percutânea com agulha Tru-cut® e fixados em solução de formol a 10%. A seguir, os fragmentos foram submetidos à desidratação em álcool etílico e à diafanização em banhos de xilol, sendo posteriormente incluídos em blocos de parafina. Finalmente, cortes histológicos

de 3 a 4 µm de espessura, realizados em micrótomo convencional, foram corados pela hematoxilina-eosina, tricrômio de Masson, azul da Prússia (Método de Perls) e impregnação das fibras reticulares pela prata (Método de Gomory), conforme processamento padronizado pelo Departamento de Anatomia Patológica da UNIFESP.

Todas as lâminas de biópsia hepática foram analisadas por um único patologista, sem que o mesmo tivesse conhecimento dos dados clínicos dos pacientes.

A análise semiquantitativa das variáveis histológicas foi baseada na classificação de METAVIR (The French METAVIR Cooperative Study Group, 1994; Bedossa & Poynard, 1996), levando-se em conta a extensão da fibrose hepática e o grau de atividade necroinflamatória, os quais foram expressos sob a forma de escore, tal como descrito a seguir.

### **Classificação de METAVIR para Fibrose Hepática**

- F0: ausência de fibrose;
- F1: fibrose restrita aos espaços-porta, sem emissão de septos fibrosos;
- F2: fibrose portal com emissão de septo(s) entre dois espaços-porta, um espaço-porta e uma veia centrolobular ou entre duas veias centrolobulares. Um feixe fibroso claramente identificável no fragmento foi considerado como um septo fibroso, ainda que as estruturas ligadas pelo mesmo não fossem visíveis;
- F3: fibrose septal com regeneração nodular incompleta, ou seja, sem caracterização de cirrose hepática; e
- F4: cirrose hepática.

### **Classificação de METAVIR para Graduação da Atividade Necroinflamatória**

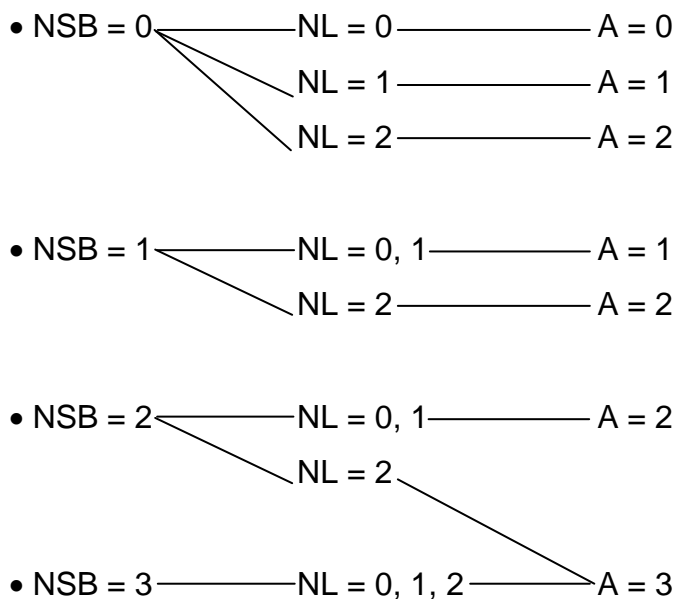
A graduação pelo sistema METAVIR avalia semiquantitativamente características histológicas consideradas como as mais representativas da atividade necroinflamatória hepática, atribuindo-lhes escores que são posteriormente combinados através de um algoritmo específico, que define o grau de atividade histológica.



### Características Histológicas

- Necrose lobular (NL):
  - 0: menos de um foco necroinflamatório por lóbulo;
  - 1: pelo menos um foco necroinflamatório por lóbulo; e
  - 2: vários focos necroinflamatórios por lóbulo, necrose confluyente ou necrose em ponte;
- Necrose em saca-bocados (NSB):
  - 0: ausente;
  - 1: alterações focais da placa limitante periportal em alguns espaços-porta;
  - 2: alterações difusas da placa limitante periportal em alguns espaços-porta ou alterações focais da placa periportal em todos os espaços-porta; e
  - 3: alterações difusas da placa limitante em todos os espaços-porta.

### Algoritmo para Avaliação do Grau de Atividade Histológica



### Graus de Atividade Histológica

- A0: ausência de atividade necroinflamatória;
- A1: atividade necroinflamatória leve;
- A2: atividade necroinflamatória moderada; e
- A3: atividade necroinflamatória acentuada.

Para análise comparativa, os escores de fibrose hepática (F) foram divididos em duas categorias: *fibrose ausente/discreta* – F0 ou F1 – e *fibrose clinicamente significativa* – F2, F3 ou F4.

Da mesma forma, os graus de atividade necroinflamatória (A) foram divididos em duas categorias: *atividade ausente/leve* – A0 ou A1 – e *atividade clinicamente significativa* – A2 ou A3.

A TPF foi calculada pelo quociente entre o escore de fibrose e o tempo estimado de infecção pelo HCV, sendo expressa por unidades de fibrose/ano. Indivíduos com TPF > 0,133 unidade de fibrose/ano, correspondente a um tempo estimado até o surgimento de cirrose hepática inferior a 30 anos, foram considerados “fibrosantes rápidos”. Aqueles com TPF  $\leq$ 0,133 unidade de fibrose/ano foram chamados de “fibrosantes lentos” (Poynard, Bedossa & Opolon, 1997).

Em todas as biópsias, foi avaliada a presença de achados histológicos sugestivos de agressão hepática pelo HCV – agregados linfóides, lesões ductais e esteatose hepática – que foram descritos como *ausentes* ou *presentes*.

### 3.4 Análise Estatística

As variáveis numéricas foram expressas por média, desvio padrão (DP), mediana e valores mínimo e máximo. A associação destas variáveis com os fatores de interesse foi verificada pelo teste *t* de *Student* para amostras com distribuição normal. Os testes de Mann-Whitney ou de Kruskal-Wallis foram utilizados nos casos de distribuição não normal, conforme apropriado. Testes não-paramétricos foram também utilizados para as análises envolvendo os graus de atividade necroinflamatória, escores de fibrose hepática e TPF, em conformidade com a natureza destas variáveis (Ishak et al, 1995; Poynard et al, 2000; Marcellin, Asselah & Boyer, 2002).

As variáveis qualitativas foram representadas por frequência absoluta (n) e relativa (%). Para a análise da possível associação dessas variáveis com os fatores de interesse, foram usados os testes de Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) ou exato de Fisher, quando necessário.

Para a identificação das variáveis independentemente associadas à presença de atividade necroinflamatória moderada/acentuada, fibrose septal/avançada e de TPF acelerada, foram construídos modelos de regressão logística. Nestes modelos, foram incluídas as variáveis que apresentaram  $P < 0,20$  na análise univariada. Curvas ROC

(*receiver operator characteristic*) foram construídas para se determinar o melhor “ponto” de sensibilidade e especificidade para a ALT e GGT na identificação de atividade histológica moderada/acentuada.

Foi adotado o nível de significância de 0,05 ( $\alpha = 5\%$ ). Níveis descritivos (P) inferiores a 0,05 foram considerados estatisticamente significantes. Todos os testes utilizados foram bi-caudais e executados pelo programa estatístico SPSS, versão 10.0 (SPSS, Chicago, IL, EUA).

## 4 RESULTADOS

No período de janeiro de 1998 a dezembro de 2002, 1.237 pacientes foram cadastrados no banco de dados do Ambulatório do Setor de Hepatites como portadores de infecção crônica pelo HCV. Estes indivíduos foram considerados elegíveis para o estudo e foram avaliados quanto aos critérios de inclusão e exclusão, pré-determinados durante a fase de planejamento. Após revisão individual dos dados contidos no prontuário geral do Hospital São Paulo e em prontuário-padrão usado pelo Setor de Hepatites, 111 pacientes satisfizeram os critérios de seleção e foram incluídos no estudo. Os motivos de desqualificação mais freqüentes foram o registro insuficiente de dados clínicos e laboratoriais nos prontuários, ingestão diária de álcool superior a 50 g, insuficiência renal crônica e modo de aquisição do HCV desconhecido ou não-parenteral, responsáveis pela exclusão de dois terços dos casos.

### 4.1 Análise Descritiva

#### 4.1.1 Análise das Características Clínico-epidemiológicas

Dos 111 pacientes estudados, 51 (46%) eram do gênero masculino e 60 (54%) do feminino. Quanto à raça, 88 (79%) eram brancos, 20 (18%) eram negros e três (3%) possuíam ascendência oriental. A idade à época da biópsia hepática variou entre 17 e 70 anos, com média e DP de  $47,3 \pm 11,5$  anos. Nesta amostra, a idade à época da aquisição do HCV e o tempo estimado de infecção pelo HCV apresentaram médias de  $25,5 \pm 12,4$  e  $21,9 \pm 6,5$  anos, respectivamente. Houve apenas dois casos de descompensação hepática prévia, sendo um episódio de ascite e outro de hemorragia digestiva alta varicosa (Tabela 1). Dois pacientes relataram história de hepatite B aguda icterica ocorrida 4 e 13 anos após a suposta contaminação pelo HCV.

Pacientes do gênero feminino, quando comparadas aos do gênero masculino, mostraram maiores médias de idade na aquisição do HCV ( $28,6 \pm 12,1$  vs.  $21,8 \pm 11,9$  anos;  $P = 0,004$ ) e de idade na biópsia hepática ( $49,5 \pm 11,4$  vs.  $44,7 \pm 11,4$  anos;  $P = 0,029$ ), porém com durações estimadas de infecção pelo HCV similares ( $21,0 \pm 5,5$  vs.  $22,9 \pm 7,5$  anos;  $P = 0,125$ ). A raça e a ocorrência de descompensação hepática não diferiram segundo o gênero (Tabela 2).

**Tabela 1 – Características clínico-epidemiológicas dos portadores de infecção crônica pelo HCV (n = 111)**

<b>Característica</b>	<b>Média ± DP</b>	<b>Mediana</b>	<b>Mín – Máx</b>
<b>Idade na biópsia hepática*</b>	47,3 ± 11,5	48	17 – 70
<b>Idade na infecção pelo HCV*</b>	25,5 ± 12,4	25	0 – 55
<b>Tempo de infecção pelo HCV*</b>	21,9 ± 6,5	21	9 – 37
	<b>n</b>	<b>%</b>	
<b>Gênero</b>			
Feminino	60	54,1	
Masculino	51	45,9	
<b>Raça</b>			
Branca	88	79,3	
Negra	20	18,0	
Oriental	3	2,7	
<b>Descompensação hepática</b>			
Sim	2	1,8	
Não	109	98,2	

\* Em anos; DP = desvio-padrão.

**Tabela 2 – Características clínico-epidemiológicas dos portadores de infecção crônica pelo HCV, conforme o gênero (n = 111)**

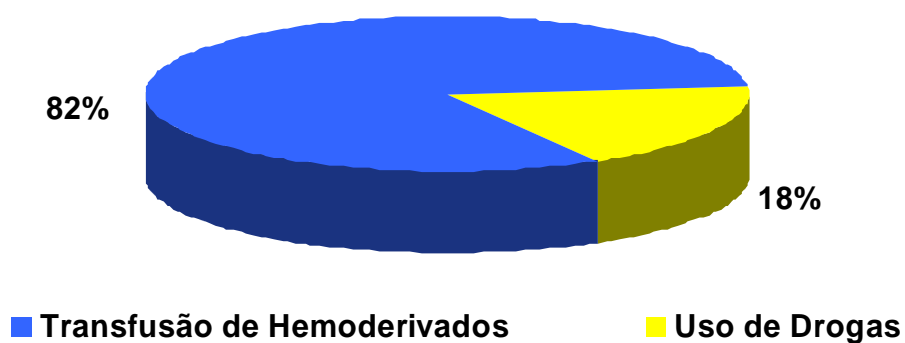
<b>Característica</b>	<b>Gênero Feminino (n = 60)</b>	<b>Gênero Masculino (n = 51)</b>	<b>P</b>	<b>IC 95%</b>
<b>Idade na biópsia hepática*</b>	49,5 ± 11,4 (Md = 50,0)	44,7 ± 11,4 (Md = 46,0)	0,029 <sup>#</sup>	0,5 – 9,1
<b>Idade na infecção pelo HCV*</b>	28,6 ± 12,1 (Md = 30,5)	21,8 ± 11,9 (Md = 21,0)	0,004 <sup>#</sup>	2,2 – 11,3
<b>Tempo de infecção pelo HCV*</b>	21,0 ± 5,5 (Md = 20,5)	22,9 ± 7,5 (Md = 22,0)	0,125 <sup>#</sup>	-4,5 – 0,6
<b>Raça</b>			0,501 <sup>§</sup>	-
Branca	49 (82%)	39 (77%)		
Não-branca	11 (18%)	12 (23%)		
<b>Modo de aquisição do HCV</b>			< 0,001 <sup>§</sup>	-
Uso de hemoderivados	58 (97%)	33 (65%)		
Uso de drogas	2 (3%)	18 (35%)		
<b>Descompensação hepática</b>			0,209 <sup>†</sup>	-
Sim	0 (0%)	2 (4%)		
Não	60 (100%)	49 (96%)		

\* Média ± desvio-padrão, em anos; Md = mediana; <sup>#</sup> Teste *t* de Student; <sup>§</sup> Teste de Qui-quadrado;

<sup>†</sup> Teste exato de Fisher; IC 95% = intervalo de confiança de 95% para as diferenças.

Quanto ao modo de aquisição do HCV, 91 (82%) pacientes já haviam recebido transfusão de hemoderivados e 20 (18%) possuíam história de uso parenteral de drogas com compartilhamento de material para injeção (Figura 3). A aquisição do HCV por meio do uso de drogas foi mais freqüente entre os homens (35% vs. 3%;  $P < 0,001$ ) (Tabela 2).

**Figura 3 – Distribuição dos 111 portadores de infecção crônica pelo HCV, de acordo com o modo provável de aquisição**



#### 4.1.2 Análise das Características Bioquímicas

Na amostra estudada, a média e o desvio padrão da ALT foram  $2,7 \pm 2,3$  xLSN, com mediana de 2,0 xLSN. Os valores da média, desvio-padrão, mediana e faixa de variação da ALT e das demais variáveis bioquímicas são mostrados na Tabela 3.

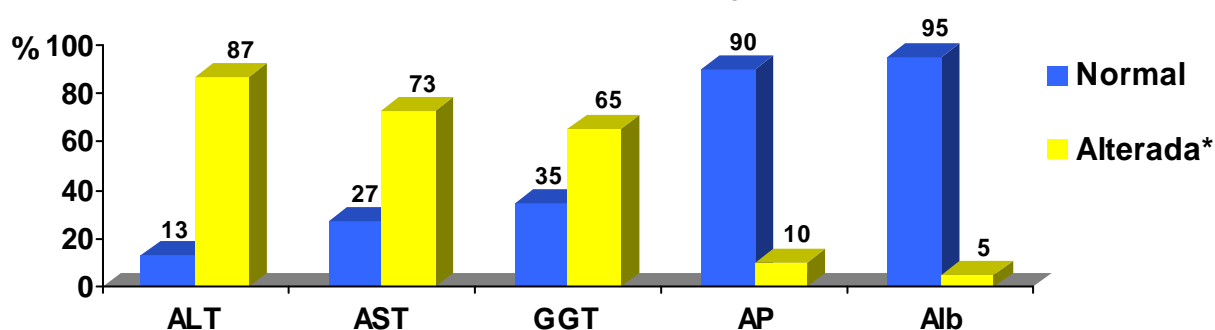
**Tabela 3 – Valores de média, desvio-padrão, mediana e faixa de variação dos testes bioquímicos nos portadores de infecção crônica pelo HCV (n = 111)**

Teste bioquímico	Média $\pm$ DP	Mediana	Mín – Máx
ALT (xLSN)	$2,7 \pm 2,3$	2,0	0,5 – 15,1
AST (xLSN)	$2,2 \pm 2,1$	1,5	0,6 – 16,0
GGT (xLSN)	$2,1 \pm 2,2$	1,5	0,3 – 12,3
Atividade de protrombina (%)	$87,9 \pm 11,9$	91	49,1 – 100
Albumina (g/dL)	$4,2 \pm 0,4$	4,2	3,2 – 5,2

xLSN = vezes o limite superior do normal; DP = desvio-padrão.

Entre os 111 pacientes avaliados, 97 (87%) apresentaram índice de atividade da ALT acima do limite superior do normal ( $>1$  xLSN). A proporção de pacientes com testes bioquímicos com valores anormais está representada na Figura 4.

**Figura 4 – Distribuição dos valores de ALT, AST, GGT, atividade de protrombina (AP) e albumina (Alb) nos 111 portadores de infecção crônica pelo HCV**



\* $>1$ xLSN para ALT, AST e GGT,  $<70\%$  para AP e  $<3,5$  g/dL para Alb.



### 4.1.3 Análise das Características Sorológicas e Moleculares

Oitenta e um dos 111 pacientes (73% da amostra) foram submetidos à genotipagem do HCV, sendo que 62 indivíduos (76%) apresentaram genótipo 1 e 19 (24%) possuíam genótipos 2 ou 3 (Tabela 4). Não foram observados casos de infecção por genótipos 4, 5 ou 6. Não houve diferença entre os gêneros em relação à distribuição dos genótipos do HCV (Tabela 5).

**Tabela 4 – Distribuição dos genótipos nos portadores de infecção crônica pelo HCV (n = 81)**

<b>Genótipo</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
1	62	76
2	2	3
3	17	21
<b>Total</b>	<b>81</b>	<b>100</b>

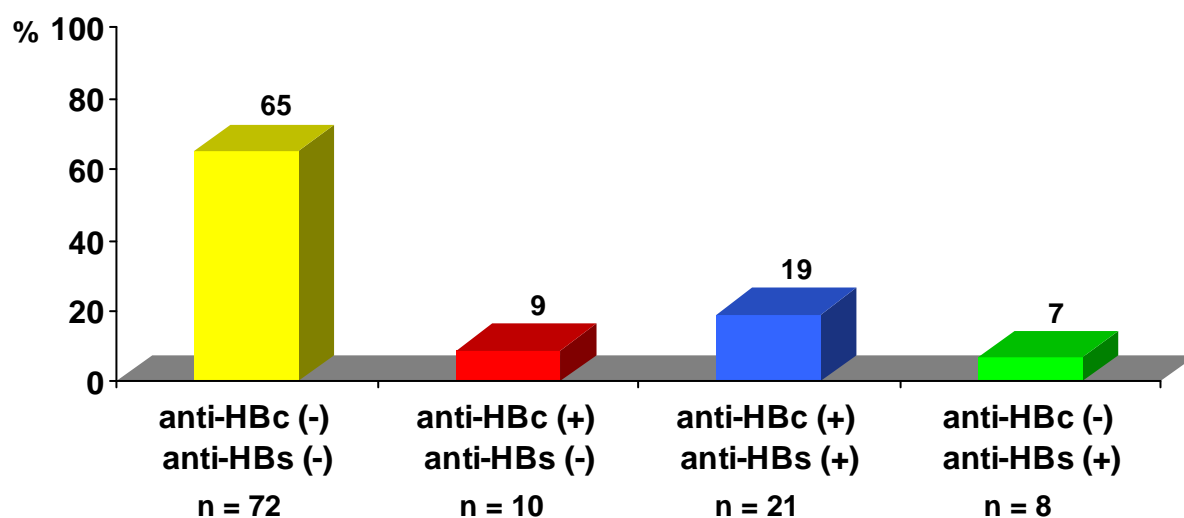
**Tabela 5 – Distribuição dos genótipos nos portadores de infecção crônica pelo HCV, conforme o gênero (n = 81)**

<b>Genótipo</b>	<b>Gênero Feminino (n = 44)</b>	<b>Gênero Masculino (n = 37)</b>	<b>P</b>
1	37 (84%)	25 (68%)	0,080 <sup>§</sup>
Não-1	7 (16%)	12 (32%)	
<b>Total</b>	<b>44 (100%)</b>	<b>37 (100%)</b>	

<sup>§</sup> Teste de Qui-quadrado.

Em relação aos marcadores sorológicos do HBV, nenhum marcador foi detectado em 72 pacientes (65%), enquanto 31 indivíduos (28%) apresentaram anti-HBc total positivo e 29 (26%) exibiam positividade para o anti-HBs. Dentre esses últimos, 8 indivíduos (7%) possuíam história pregressa de imunização ativa contra o HBV, mostrando reatividade apenas para o anti-HBs. O padrão conhecido como “anti-HBc isolado” foi encontrado em 10 pacientes (9%), com testes em duplicata (Figura 5).

**Figura 5 – Distribuição dos 111 portadores de infecção crônica pelo HCV conforme a reatividade dos marcadores sorológicos do HBV**

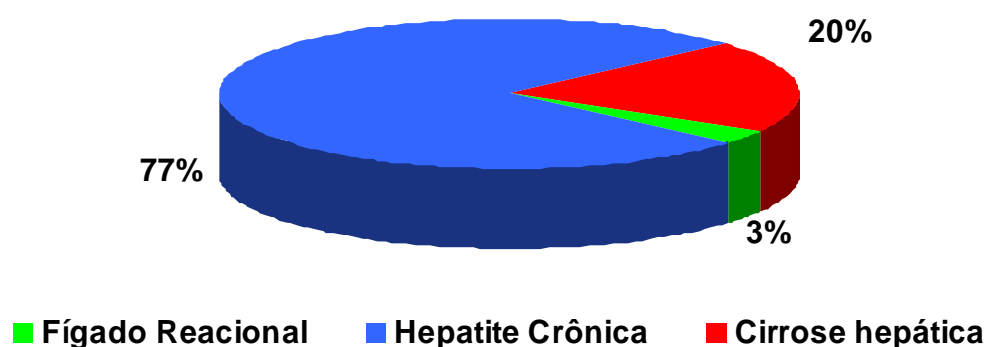


O HBV-DNA por PCR quantitativo não foi detectado nas 111 amostras séricas testadas.

#### 4.1.4 Análise Histológica

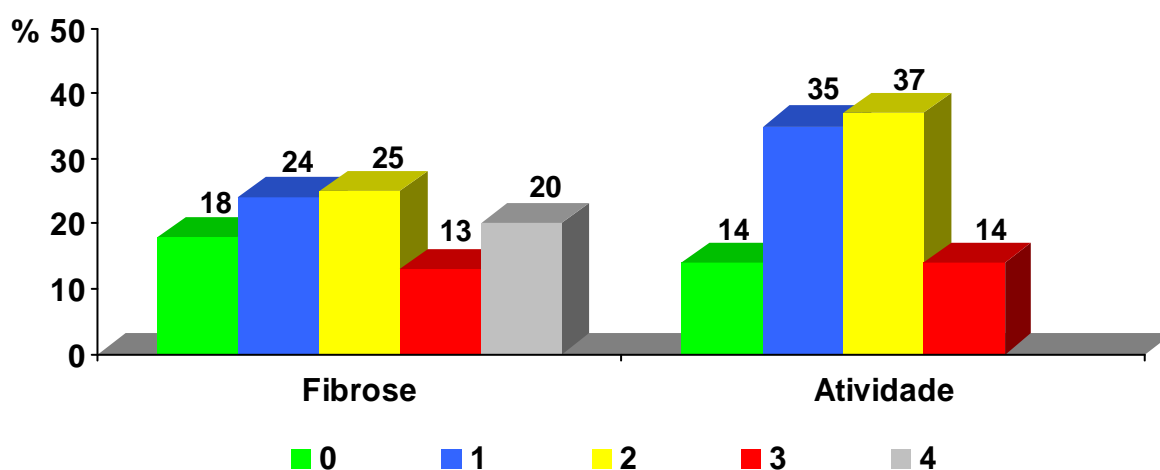
Após a avaliação dos fragmentos de tecido hepático obtidos por biópsia nos 111 pacientes, os seguintes diagnósticos histológicos foram encontrados: fígado reacional em três (3%), hepatite crônica em 86 (77%) e cirrose hepática em 22 (20%) (Figura 6).

**Figura 6 – Distribuição do diagnóstico histológico nos 111 portadores de infecção crônica pelo HCV**



Fibrose hepática significativa (fibrose com poucos septos, fibrose com septos numerosos ou cirrose hepática), representada por escores de fibrose ( $F \geq 2$ ), foi encontrada em 64 pacientes (58%). Atividade histológica significativa (atividade necroinflamatória moderada ou acentuada), expressa por graus de atividade ( $A \geq 2$ ), foi identificada em 56 indivíduos (51%). Os escores de fibrose hepática e os graus de atividade histológica dos 111 pacientes são representados na Figura 7.

**Figura 7 – Gradação da fibrose hepática e da atividade histológica pela classificação METAVIR nos 111 portadores de infecção crônica pelo HCV**



Os valores de média  $\pm$  desvio-padrão e mediana para a atividade histológica foram de  $1,5 \pm 0,9$  e 2,0 unidades METAVIR, respectivamente. Para a fibrose hepática, a média foi de  $1,92 \pm 1,38$  unidades METAVIR, enquanto a mediana foi de 2,0 unidades METAVIR (Tabela 6).

Analisando-se a relação entre o escore de fibrose e o tempo estimado de infecção pelo HCV, foi encontrada uma TPF média de  $0,094 \pm 0,071$  unidade de fibrose/ano, com mediana de 0,086 unidade de fibrose/ano (IC 95% 0,067 a 0,111). A partir da mediana, o tempo de necessário para o desenvolvimento de cirrose hepática foi estimado em 46 anos (Tabela 6).

**Tabela 6 – Fibrose hepática, atividade histológica, taxa de progressão da fibrose hepática (TPF) e tempo de evolução para cirrose hepática (TF4) estimados para os portadores de infecção crônica pelo HCV avaliados (n = 111)**

	Média	Mín – Máx	Mediana	IC 95%
<b>Atividade histológica*</b>	$1,5 \pm 0,9$	0 – 3,0	2,0	1,0 – 2,0
<b>Fibrose hepática*</b>	$1,92 \pm 1,38$	0 – 4,0	2,0	1,0 – 2,0
<b>TPF**</b>	$0,094 \pm 0,071$	0,000 – 0,300	0,086	0,067 – 0,111
<b>TF4***</b>	-	-	46,0	36,0 – 60,0

\* Média  $\pm$  desvio-padrão, em unidades METAVIR; \*\* Média  $\pm$  desvio-padrão, em unidades de fibrose/ano; \*\*\* Em anos, calculado a partir da média; IC 95% = intervalo de confiança de 95% para a mediana.

Na análise dos marcadores etiológicos de infecção pelo HCV, o achado mais freqüente foi a presença de esteatose hepática, identificada em 80 pacientes (72%). Quando presente, acometeu menos de 50% dos hepatócitos em 81% dos casos. Agregados linfóides e lesões de ductos biliares foram encontrados em 67 (60%) e em 13 indivíduos (12%), respectivamente. Um ou mais marcadores sugestivos de infecção pelo HCV foram detectados em 94 pacientes (85%), estando ausentes em 17 casos (15%) (Tabela 7).

**Tabela 7 – Prevalência dos marcadores histológicos sugestivos de infecção pelo HCV nos 111 pacientes avaliados**

<b>Marcador histológico</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Esteatose hepática*</b>	80	72,1
<b>Agregados linfóides*</b>	67	60,4
<b>Lesão de ductos biliares*</b>	13	11,7
<b>Ausência de marcadores</b>	17	15,3

\*Presentes de forma isolada ou em associação com os demais marcadores.

## 4.2 Análise do Impacto da Infecção Prévia pelo HBV nas Diversas Variáveis

Com o objetivo de determinar a influência do contato prévio com o HBV nas características clínicas, bioquímicas, virológicas e histológicas dos portadores crônicos do HCV, foi realizado estudo comparativo preliminar para identificar eventuais diferenças entre indivíduos com anti-HBc total positivo e anti-HBs negativo (padrão conhecido por “anti-HBc isolado”) e pacientes com anti-HBc total e anti-HBs positivos.

Conforme mostram as Tabelas 8, 9, 10, 11 e 12, não houve diferenças entre estes dois grupos em relação às variáveis de interesse, com exceção de uma maior média de albumina encontrada no grupo com anti-HBc total isolado ( $4,2 \pm 0,4$  vs.  $3,9 \pm 0,4$  g/dL;  $P = 0,044$ ).

**Tabela 8 – Análise comparativa entre pacientes com anti-HBc isolado e pacientes com anti-HBc total e anti-HBs positivos, conforme as características clínico-epidemiológicas (n = 31)**

Característica	anti-HBc (+) anti-HBs (-) (n = 10)	anti-HBc (+) anti-HBs (+) (n = 21)	P	IC 95%
<b>Idade na infecção pelo HCV*</b>	$28,0 \pm 13,2$ (Md = 26,0)	$28,8 \pm 12,2$ (Md = 26,0)	0,867 <sup>#</sup>	-10,6 – 9,0
<b>Tempo de infecção pelo HCV*</b>	$26,3 \pm 6,9$ (Md = 26,0)	$21,1 \pm 6,6$ (Md = 23,0)	0,051 <sup>#</sup>	-0,04 – 10,4
<b>Gênero</b>			1,000 <sup>†</sup>	-
Feminino	6 (60%)	12 (57%)		
Masculino	4 (40%)	9 (43%)		
<b>Raça</b>			0,577 <sup>†</sup>	-
Branca	8 (80%)	19 (90%)		
Negra ou oriental	2 (20%)	2 (10%)		
<b>Modo de aquisição do HCV</b>			1,000 <sup>†</sup>	-
Uso de hemoderivados	8 (80%)	16 (76%)		
Uso de drogas	2 (20%)	5 (24%)		
<b>Descompensação hepática</b>			1,000 <sup>†</sup>	-
Sim	0 (0%)	2 (10%)		
Não	10 (100%)	19 (90%)		

\* Média  $\pm$  desvio-padrão, em anos; Md = mediana; <sup>#</sup> Teste *t* de Student; <sup>†</sup> Teste exato de Fisher; IC 95% = intervalo de confiança de 95% para as diferenças.

**Tabela 9 – Análise comparativa entre pacientes com anti-HBc isolado e pacientes com anti-HBc total e anti-HBs positivos, conforme as características bioquímicas (n = 31)**

<b>Teste bioquímico</b>	<b>anti-HBc (+) anti-HBs (-) (n = 10)</b>	<b>anti-HBc (+) anti-HBs (+) (n = 21)</b>	<b>P</b>	<b>IC 95%</b>
<b>ALT (xLSN)*</b>	3,1 ± 1,6 (Md = 2,6)	3,2 ± 3,2 (Md = 2,1)	0,327 <sup>‡</sup>	-
<b>AST (xLSN)*</b>	2,0 ± 0,8 (Md = 1,7)	3,3 ± 3,6 (Md = 2,3)	0,348 <sup>‡</sup>	-
<b>GGT (xLSN)*</b>	3,5 ± 3,2 (Md = 1,8)	2,8 ± 2,1 (Md = 2,2)	0,550 <sup>#</sup>	-1,7 – 3,1
<b>AP (%)</b>	86,0 ± 9,1 (Md = 84,9)	83,5 ± 13,6 (Md = 84,8)	0,616 <sup>#</sup>	-7,3 – 12,2
<b>Albumina (g/dL)</b>	4,2 ± 0,4 (Md = 4,2)	3,9 ± 0,4 (Md = 3,9)	0,044 <sup>#</sup>	0,008 – 0,58

\* Média ± desvio-padrão, em vezes o limite superior do normal; Md = mediana; AP = atividade de protrombina; <sup>‡</sup> Teste de Mann-Whitney; <sup>#</sup> Teste *t* de *Student*; IC 95% = intervalo de confiança de 95% para as diferenças.

**Tabela 10 – Análise comparativa entre pacientes com anti-HBc isolado e pacientes com anti-HBc total e anti-HBs positivos, conforme o genótipo do HCV (n = 19)**

<b>Genótipo</b>	<b>anti-HBc (+) anti-HBs (-) (n = 7)</b>	<b>anti-HBc (+) anti-HBs (+) (n = 12)</b>	<b>P</b>
1	6 (86%)	8 (67%)	0,603 <sup>†</sup>
Não-1	1 (14%)	4 (33%)	
<b>Total</b>	<b>7 (100%)</b>	<b>12 (100%)</b>	

<sup>†</sup> Teste exato de Fisher.

**Tabela 11 – Análise comparativa entre pacientes com anti-HBc isolado e pacientes com anti-HBc total e anti-HBs positivos, conforme o grau de atividade histológica e o escore de fibrose hepática, pela classificação de METAVIR (n = 31)**

<b>Variável histológica</b>	<b>anti-HBc (+) anti-HBs (-) (n = 10)</b>	<b>anti-HBc (+) anti-HBs (+) (n = 21)</b>	<b>P</b>
<b>Atividade histológica*</b>	2,1 ± 0,9 (Md = 2,0)	2,0 ± 0,9 (Md = 2,0)	0,839 <sup>‡</sup>
<b>Fibrose hepática*</b>	2,9 ± 1,6 (Md = 4,0)	2,5 ± 1,4 (Md = 3,0)	0,302 <sup>‡</sup>

\* Média ± desvio-padrão, em unidades METAVIR; Md = mediana; <sup>‡</sup> Teste de Mann-Whitney.



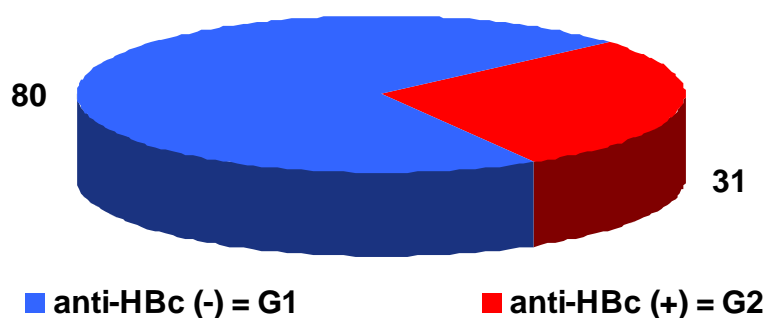
**Tabela 12 – Análise comparativa da taxa de progressão da fibrose hepática (TPF) e do tempo estimado até o desenvolvimento de cirrose hepática (TF4) entre os pacientes com anti-HBc isolado e pacientes com anti-HBc total e anti-HBs positivos (n = 31)**

	anti-HBc (+) anti-HBs (-) (n = 10)	anti-HBc (+) anti-HBs (+) (n = 21)	P
<b>TPF*</b>	0,121 ± 0,077	0,124 ± 0,068	
Md	0,125	0,130	0,950 <sup>‡</sup>
IC 95%	0,029 – 0,200	0,111 – 0,160	
<b>TF4**</b>	32,0	31,0	
IC 95%	20,0 – 138,0	25,0 – 36,0	

\* Média ± desvio-padrão, em unidades de fibrose/ano; Md = mediana; IC 95% = intervalo de confiança de 95% para as medianas; \*\* Calculado a partir das medianas; <sup>‡</sup> Teste de Mann-Whitney.

Baseando-se na observação de que os pacientes com anti-HBc total positivo isolado exibem comportamento semelhante àqueles que também apresentam reatividade para o anti-HBs, tais indivíduos foram analisados conjuntamente. Assim, de acordo com a positividade do anti-HBc total, a amostra foi dividida em dois grupos: **G1**, composto por 80 indivíduos (72% da amostra) que não exibiam evidências sorológicas de contato prévio com o HBV; e **G2**, constituído por 31 pacientes (28% da amostra) que apresentavam anti-HBc total positivo, com anti-HBs positivo ou negativo (Figura 8). Os grupos G1 e G2 foram, então, comparados quanto às suas características clínico-epidemiológicas, bioquímicas, virológicas e histológicas.

**Figura 8 – Distribuição dos 111 portadores de infecção crônica pelo HCV, conforme a positividade do anti-HBc total**



#### 4.2.1 Relação entre a Infecção Prévia pelo HBV e as Características Clínico-epidemiológicas

Como mostra a Tabela 13, não houve diferença entre os grupos G1 e G2 em relação à idade à época da infecção pelo HCV e ao tempo estimado de infecção pelo HCV. Da mesma forma, os dois grupos não diferiram quanto ao gênero, raça, descompensação hepática prévia e modo provável de aquisição do HCV.

**Tabela 13 – Análise comparativa entre os grupos 1 e 2, conforme as características clínico-epidemiológicas (n = 111)**

Característica	G1 (n = 80)	G2 (n = 31)	P	IC 95%
<b>Idade na infecção pelo HCV*</b>	24,3 ± 12,3 (Md = 25,0)	28,6 ± 12,3 (Md = 26,0)	0,103 <sup>#</sup>	-9,5 – 0,9
<b>Tempo de infecção pelo HCV*</b>	21,5 ± 6,3 (Md = 20,0)	22,8 ± 7,0 (Md = 23,0)	0,352 <sup>#</sup>	-4,0 – 1,4
<b>Gênero</b>			0,598 <sup>§</sup>	-
Feminino	42 (53%)	18 (58%)		
Masculino	38 (47%)	13 (42%)		
<b>Raça</b>			0,206 <sup>§</sup>	-
Branca	61 (76%)	27 (87%)		
Negra ou oriental	19 (24%)	4 (13%)		
<b>Modo de aquisição do HCV</b>			0,436 <sup>§</sup>	-
Uso de hemoderivados	67 (84%)	24 (77%)		
Uso de drogas	13 (16%)	7 (23%)		
<b>Descompensação hepática</b>			0,076 <sup>§</sup>	-
Sim	0 (0%)	2 (6%)		
Não	80 (100%)	29 (94%)		

\* Média ± desvio-padrão, em anos; Md = mediana; <sup>#</sup> Teste *t* de Student; <sup>§</sup> Teste de Qui-quadrado; IC 95% = intervalo de confiança de 95% para as diferenças.

#### 4.2.2 Relação entre a Infecção Prévia pelo HBV e as Características Bioquímicas

Na análise comparativa das variáveis bioquímicas entre os grupos G1 e G2, observou-se que o grupo G2 apresentou níveis mais elevados de ALT, AST e GGT e níveis inferiores de atividade de protrombina e albumina em relação ao grupo G1. Com exceção da diferença observada na atividade da ALT, todas as demais diferenças foram significantes (Tabela 14).

**Tabela 14 – Análise comparativa entre os grupos 1 e 2, conforme as características bioquímicas (n = 111)**

Teste bioquímico	G1 (n = 80)	G2 (n = 31)	P	IC 95%
ALT (xLSN)*	2,5 ± 2,2 (Md = 1,8)	3,2 ± 2,8 (Md = 2,3)	0,052 <sup>‡</sup>	-
AST (xLSN)*	1,9 ± 1,5 (Md = 1,3)	2,9 ± 3,0 (Md = 2,0)	0,004 <sup>‡</sup>	-
GGT (xLSN)*	1,8 ± 1,9 (Md = 1,3)	3,0 ± 2,5 (Md = 2,1)	0,010 <sup>‡</sup>	-
AP (%)	89,2 ± 11,6 (Md = 92,8)	84,3 ± 12,2 (Md = 84,8)	0,046 <sup>#</sup>	0,08 – 9,91
Albumina (g/dL)	4,3 ± 0,4 (Md = 4,3)	3,9 ± 0,4 (Md = 3,9)	0,001 <sup>#</sup>	0,14 – 0,48

\* Média ± desvio-padrão, em vezes o limite superior do normal; Md = mediana; AP = atividade de protrombina; <sup>‡</sup> Teste de Mann-Whitney; <sup>#</sup> Teste *t* de Student; IC 95% = intervalo de confiança de 95% para as diferenças.

### 4.2.3 Relação entre a Infecção Prévia pelo HBV e as Características Viroológicas

Analisando-se as características virológicas da infecção crônica pelo HCV, foi evidenciado que os grupos G1 e G2 mostraram padrões semelhantes de distribuição dos genótipos do HCV (Tabela 15).

**Tabela 15 – Análise comparativa entre os grupos 1 e 2, conforme a distribuição de genótipos do HCV (n = 81)**

<b>Genótipo</b>	<b>G1 (n = 62)</b>	<b>G2 (n = 19)</b>	<b>P</b>
1	48 (77%)	14 (74%)	0,762 <sup>†</sup>
Não-1	14 (23%)	5 (26%)	
<b>Total</b>	<b>62 (100%)</b>	<b>19 (100%)</b>	

<sup>†</sup> Teste exato de Fisher.

#### 4.2.4 Relação entre Infecção Prévia pelo HBV e Características Histológicas

Na análise comparativa entre os pacientes com anti-HBc total negativo (G1) e aqueles com anti-HBc total positivo (G2), esses últimos exibiram atividade histológica mais intensa e maior escore de fibrose hepática (Tabela 16). Da mesma forma, o grupo G2 mostrou maior proporção de casos com fibrose significativa e maior frequência de casos com atividade necroinflamatória moderada ou acentuada (Tabela 17).

**Tabela 16 – Análise comparativa do grau de atividade histológica e do escore de fibrose hepática entre os grupos 1 e 2, pela classificação de METAVIR (n = 111)**

Variável histológica	G1 (n = 80)	G2 (n = 31)	P
<b>Atividade histológica*</b>	1,3 ± 0,8 (Md = 1,0)	2,0 ± 0,9 (Md = 2,0)	<0,001 <sup>‡</sup>
<b>Fibrose hepática*</b>	1,6 ± 1,3 (Md = 1,5)	2,7 ± 1,4 (Md = 3,0)	0,001 <sup>‡</sup>

\* Média ± desvio-padrão, em unidades METAVIR; Md = mediana; <sup>‡</sup> Teste de Mann-Whitney.

**Tabela 17 – Análise comparativa da proporção de pacientes com atividade histológica e fibrose hepática significativas nos grupos 1 e 2, de acordo com a classificação de METAVIR (n = 111)**

Variável histológica	G1 (n = 80)	G2 (n = 31)	P
<b>Atividade histológica</b>			<0,001 <sup>§</sup>
Ausente/Leve (A0/A1)	48 (60%)	7 (23%)	
Significativa (A2/A3)	32 (40%)	24 (77%)	
<b>Fibrose hepática</b>			0,009 <sup>§</sup>
Ausente/Discreta (F0/F1)	40 (50%)	7 (23%)	
Significativa (F2/F3/F4)	40 (50%)	24 (77%)	
<b>Total</b>	<b>80 (100%)</b>	<b>31 (100%)</b>	

<sup>§</sup> Teste de Qui-quadrado.

A relação entre a positividade do anti-HBc total e a presença de marcadores histológicos sugestivos de infecção pelo HCV é mostrada na Tabela 18. O achado de agregados linfóides e de lesões de ductos biliares ocorreu com frequência similar nos grupos G1 e G2. Entretanto, o grupo G2 apresentou maior prevalência de esteatose hepática, em relação ao grupo G1 (87% vs. 66%; P = 0,028).

**Tabela 18 – Análise comparativa da proporção de pacientes com marcadores histológicos sugestivos de infecção crônica pelo HCV nos grupos 1 e 2 (n = 111)**

<b>Marcador histológico</b>	<b>G1 (n = 80)</b>	<b>G2 (n = 31)</b>	<b>P</b>
<b>Esteatose hepática</b>			0,028 <sup>§</sup>
Ausente	27 (34%)	4 (13%)	
Presente	53 (66%)	27 (87%)	
<b>Agregados linfóides</b>			0,901 <sup>§</sup>
Ausentes	32 (40%)	12 (39%)	
Presentes	48 (60%)	19 (61%)	
<b>Lesão de ductos biliares</b>			1,000 <sup>†</sup>
Ausente	70 (87%)	28 (90%)	
Presente	10 (13%)	3 (10%)	
<b>Total</b>	<b>80 (100%)</b>	<b>31 (100%)</b>	

<sup>§</sup> Teste de Qui-quadrado; <sup>†</sup> Teste exato de Fisher.

Os pacientes do grupo G2, quando comparados aos do grupo G1, apresentaram maior TPF (medianas de 0,125 vs. 0,067; P = 0,002). O tempo de infecção até o desenvolvimento de cirrose, estimado a partir das medianas da TPF, foi significativamente menor no grupo G2 do que no G1 (32 anos vs. 60 anos) (Tabela 19).

**Tabela 19 – Análise comparativa da taxa de progressão da fibrose hepática (TPF) e do tempo estimado até o desenvolvimento de cirrose hepática (TF4) entre os grupos 1 e 2 (n = 111)**

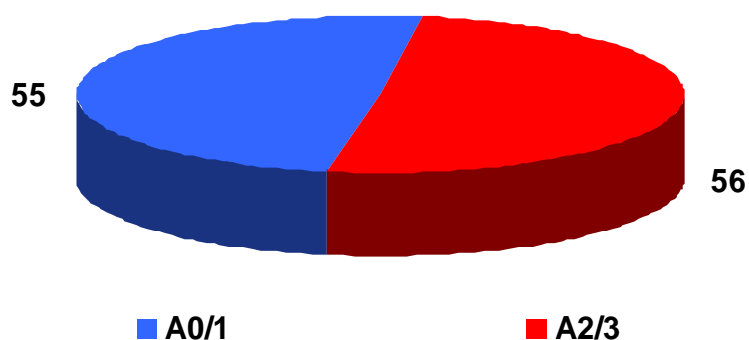
	<b>G1 (n = 80)</b>	<b>G2 (n = 31)</b>	<b>P</b>
<b>TPF*</b>	0,083 ± 0,069	0,123 ± 0,069	
Md	0,067	0,125	0,002 <sup>‡</sup>
IC 95%	0,050 – 0,091	0,118 – 0,154	
<b>TF4**</b>	60,0	32,0	
IC 95%	44,0 – 80,0	26,0 – 34,0	

\* Média ± desvio-padrão, em unidades de fibrose/ano; Md = mediana; IC 95% = intervalo de confiança de 95% para as medianas; \*\* Calculado a partir das medianas; <sup>‡</sup> Teste de Mann-Whitney.

### 4.3 Análise dos Fatores Associados à Atividade Histológica Significativa

Para a identificação dos possíveis fatores associados à presença de atividade histológica significativa, os portadores de infecção crônica pelo HCV foram divididos em dois grupos, conforme o grau de atividade necroinflamatória pela classificação de METAVIR: grupo **A0/1**, formado por indivíduos com atividade histológica ausente ou leve; e grupo **A2/3**, composto por aqueles com atividade moderada ou acentuada (Figura 9).

**Figura 9 – Distribuição dos 111 portadores de infecção crônica pelo HCV, conforme a intensidade da atividade histológica**



Estes grupos foram comparados quanto à idade à época da infecção pelo HCV, tempo estimado de infecção pelo HCV, gênero, raça, modo de aquisição do HCV, genótipo do HCV, níveis de ALT e GGT e presença do anti-HBc total.



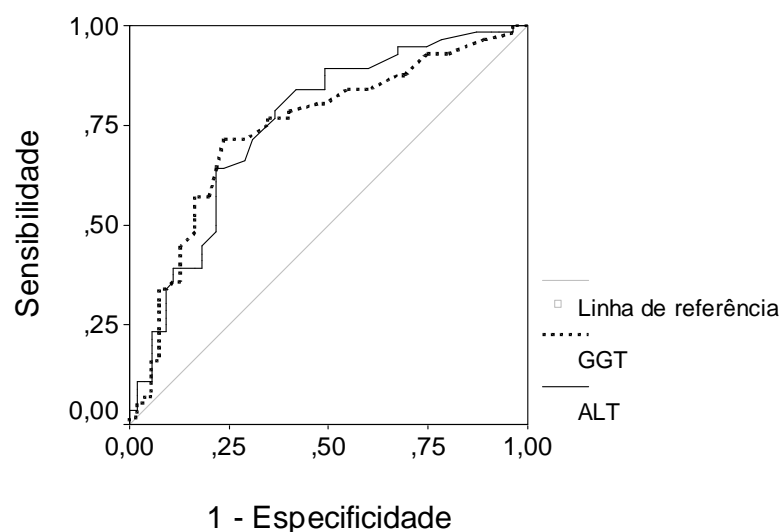
Conforme mostra a análise univariada descrita na Tabela 20, o achado de atividade histológica moderada ou acentuada foi associado a uma maior idade à época da infecção pelo HCV, à presença de maiores níveis de ALT e GGT e à positividade do anti-HBc total. Não houve diferença entre os dois grupos em relação às demais variáveis.

**Tabela 20 – Análise univariada dos fatores associados à presença de atividade histológica significativa (A2/3) em portadores crônicos do HCV (n = 111)**

Variável	A0/1 (n = 55)	A2/3 (n = 56)	P	IC 95%
<b>Idade na infecção pelo HCV*</b>	22,1 ± 13,5	28,8 ± 10,3	0,004 <sup>#</sup>	-11,2 – -2,2
<b>Tempo de infecção pelo HCV*</b>	21,8 ± 7,0	21,9 ± 6,0	0,987 <sup>#</sup>	-2,5 – 2,4
<b>ALT**</b>	1,4	2,5	< 0,001 <sup>‡</sup>	-
<b>GGT**</b>	1,0	2,1	< 0,001 <sup>‡</sup>	-
<b>Genótipo (1/não-1)</b>	34/9	28/10	0,568 <sup>§</sup>	-
<b>Gênero (feminino/masculino)</b>	26/29	34/22	0,155 <sup>§</sup>	-
<b>Etnia (branca/não-branca)</b>	41/14	47/9	0,223 <sup>§</sup>	-
<b>Aquisição do HCV (THD/UD)</b>	43/12	48/8	0,302 <sup>§</sup>	-
<b>anti-HBc total (neg/pos)</b>	48/7	32/24	< 0,001 <sup>§</sup>	-

\* Média ± desvio-padrão, em anos; \*\* Mediana em xLSN; <sup>#</sup> Teste *t* de Student; <sup>‡</sup> Teste de Mann-Whitney; <sup>§</sup> Teste de Qui-quadrado; THD = transfusão de hemoderivados; UD = uso de drogas; IC 95% = intervalo de confiança de 95% para as diferenças.

**Figura 10 – Curvas ROC (receiver operator characteristic) para ALT e GGT na identificação de atividade histológica moderada/acentuada**



As variáveis que apresentaram  $P < 0,20$  na análise univariada foram incluídas em um modelo de análise multivariada por regressão logística, demonstrado na Tabela 21. Este modelo identificou a presença de GGT superior a 1,5 xLSN, ALT superior a 2 xLSN (Figura 10) e anti-HBc total positivo como variáveis independentemente associadas à atividade necroinflamatória significativa, sendo capaz de explicar 46% da variabilidade da atividade histológica na amostra estudada.

**Tabela 21 – Análise multivariada por regressão logística dos fatores associados à presença de atividade histológica significativa (A2/3) em portadores crônicos do HCV (n = 111)**

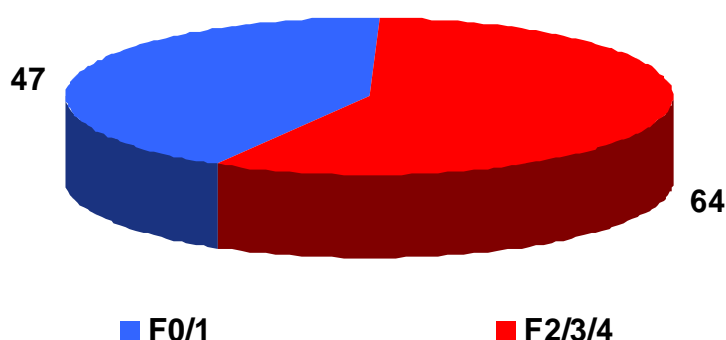
Variável	P	OR	IC 95%
<b>GGT &gt; 1,5 xLSN</b>	< 0,001	7,582	2,879 – 19,966
<b>ALT &gt; 2 xLSN</b>	0,002	4,460	1,707 – 11,652
<b>anti-HBc total positivo</b>	0,019	4,009	1,253 – 12,822
<b>Gênero masculino</b>	0,099	0,445	0,170 – 1,165
<b>Idade na infecção pelo HCV &gt; 40a</b>	0,201	0,344	0,067 – 1,767

OR = *odds ratio*; IC 95% = intervalo de confiança de 95% para os *odds ratios*.

#### 4.4 Análise dos Fatores Associados à Fibrose Hepática Significativa

De acordo com o escore de fibrose da classificação de METAVIR, os pacientes incluídos no estudo foram divididos em dois grupos: grupo **F0/1** (fibrose ausente ou restrita aos espaços-porta); e grupo **F2/3/4** (fibrose com poucos septos, fibrose com septos numerosos ou cirrose hepática) (Figura 11).

**Figura 11 – Distribuição dos 111 portadores de infecção crônica pelo HCV, conforme a extensão da fibrose hepática**



A fim de determinar as variáveis associadas ao achado de fibrose hepática significativa, estes grupos foram comparados em relação à idade à época da infecção pelo HCV, tempo estimado de infecção pelo HCV, gênero, raça, modo provável de aquisição do HCV, genótipo do HCV e presença do anti-HBc total.

Na análise univariada, a presença de fibrose hepática significativa foi associada à maior idade à época da infecção pelo HCV e à presença do anti-HBc total (Tabela 22).

**Tabela 22 – Análise univariada dos fatores associados à presença de fibrose hepática significativa (F2/3/4) em portadores crônicos do HCV (n = 111)**

Variável	F0/1 (n = 47)	F2/3/4 (n = 64)	P	IC 95%
<b>Idade na infecção pelo HCV*</b>	21,0 ± 12,8	28,8 ± 11,1	0,001 <sup>#</sup>	-12,3 – -3,3
<b>Tempo de infecção pelo HCV*</b>	21,1 ± 6,2	22,4 ± 6,8	0,306 <sup>#</sup>	-3,8 – 1,2
<b>Genótipo (1/não-1)</b>	23/11	39/8	0,208 <sup>§</sup>	-
<b>Gênero (feminino/masculino)</b>	22/25	38/26	0,189 <sup>§</sup>	-
<b>Etnia (branca/não-branca)</b>	35/12	53/11	0,284 <sup>§</sup>	-
<b>Aquisição do HCV (THD/UD)</b>	36/11	55/9	0,206 <sup>§</sup>	-
<b>anti-HBc total (neg/pos)</b>	40/7	40/24	0,009 <sup>§</sup>	-

\* Média ± desvio-padrão, em anos; <sup>#</sup> Teste *t* de Student; <sup>§</sup> Teste de Qui-quadrado; THD = transfusão de hemoderivados; UD = uso de drogas; IC 95% = intervalo de confiança de 95% para as diferenças.

As variáveis idade à época da infecção pelo HCV, gênero e anti-HBc total foram incluídos em modelos de regressão logística. Conforme mostra a Tabela 23, usando 40 anos como ponto de corte para a idade na aquisição do HCV, apenas a reatividade do anti-HBc total se associou de forma independente à fibrose hepática significativa ( $P = 0,013$  e  $OR = 3,367$ ), em um modelo capaz de explicar 10% da variabilidade da fibrose hepática. Modificando-se o ponto de corte para 30 anos, a idade superior a 30 anos à época da infecção pelo HCV e a presença de anti-HBc positivo foram associadas de modo independente ao achado de fibrose significativa à biópsia hepática ( $P = 0,002$  e  $OR = 4,252$  e  $P = 0,017$  e  $OR = 3,364$ , respectivamente). Este modelo, mostrado na Tabela 24, pôde explicar 21% da variabilidade da fibrose hepática.

**Tabela 23 – Análise multivariada por regressão logística dos fatores associados à presença de fibrose hepática significativa (F2/3/4) em portadores crônicos do HCV, usando 40 anos como ponto de corte para a idade na infecção (n = 111)**

Variável	P	OR	IC 95%
Idade na infecção pelo HCV > 40a	0,914	1,078	0,277 – 4,189
anti-HBc total positivo	0,013	3,367	1,285 – 8,819
Gênero masculino	0,231	0,618	0,281 – 1,359

OR = *odds ratio*; IC 95% = intervalo de confiança de 95% para os *odds ratios*.

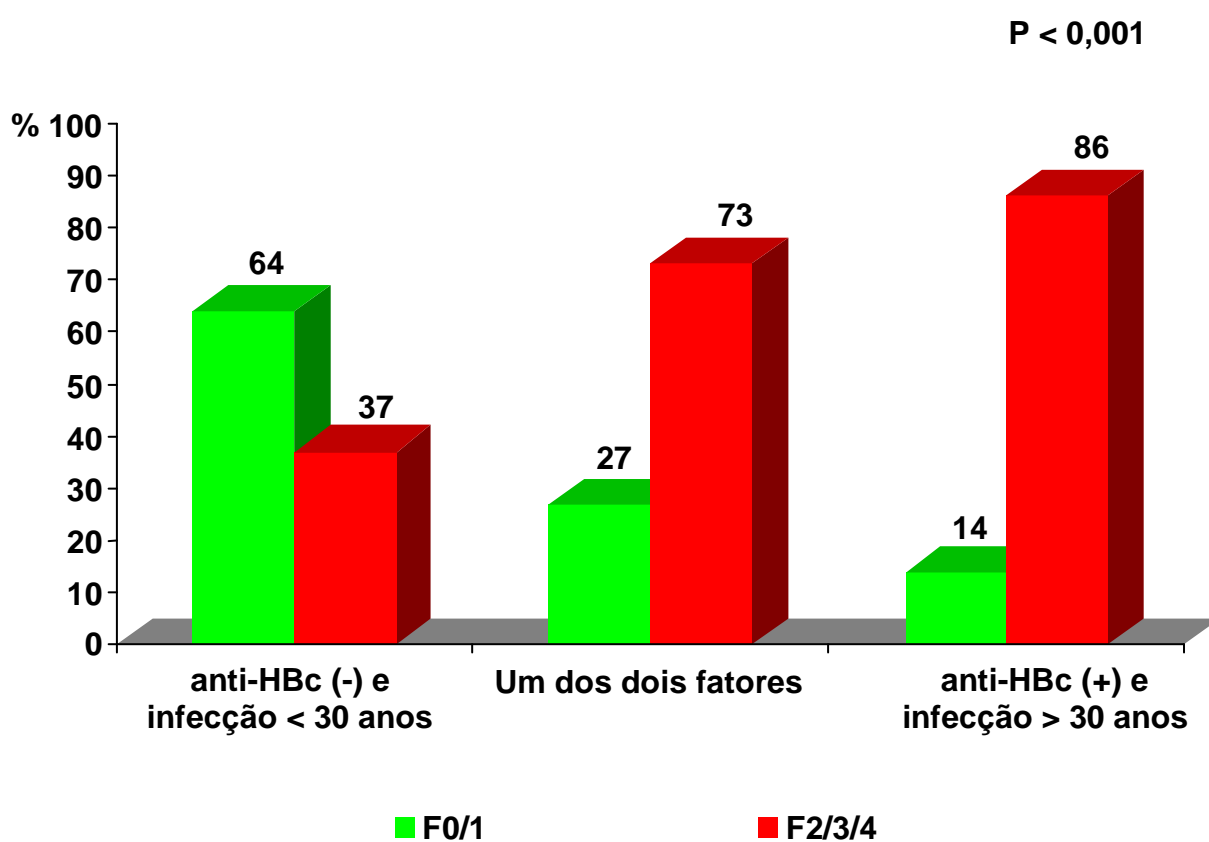
**Tabela 24 – Análise multivariada por regressão logística dos fatores associados à presença de fibrose hepática significativa (F2/3/4) em portadores crônicos do HCV, usando 30 anos como ponto de corte para a idade na infecção (n = 111)**

Variável	P	OR	IC 95%
Idade na infecção pelo HCV > 30a	0,002	4,252	1,690 – 10,695
anti-HBc total positivo	0,017	3,364	1,245 – 9,090
Gênero masculino	0,700	0,847	0,365 – 1,968

OR = *odds ratio*; IC 95% = intervalo de confiança de 95% para os *odds ratios*.

Conforme a ocorrência de infecção pelo HCV após 30 anos de idade e a positividade do anti-HBc total, verificou-se que a proporção de pacientes com fibrose clinicamente significativa aumenta progressivamente de acordo com a presença de tais fatores. Do mesmo modo, a proporção de indivíduos com fibrose ausente ou discreta diminui entre aqueles com 1 ou 2 fatores (Figura 12).

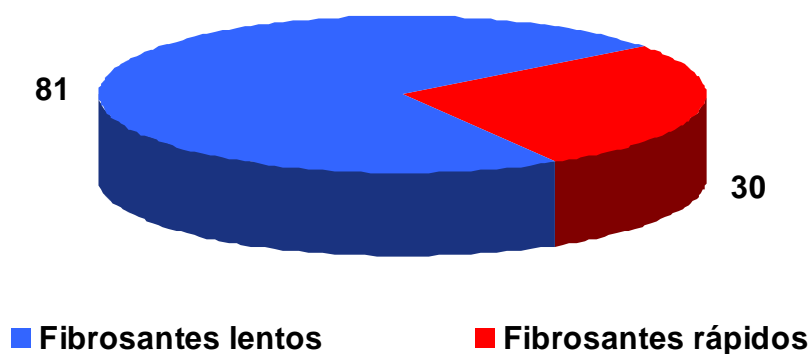
**Figura 12 – Distribuição da fibrose hepática conforme a positividade do anti-HBc total e da idade à época da infecção pelo HCV (n = 111)**



#### 4.5 Análise dos Fatores Associados à Taxa de Progressão de Fibrose Acelerada

Os pacientes foram divididos em dois grupos: grupo **fibrosantes lentos**, com TPF igual ou inferior a 0,133 unidade de fibrose/ano e grupo **fibrosantes rápidos**, com TPF superior a 0,133 unidade de fibrose/ano. Trinta pacientes foram identificados como fibrosantes rápidos e 81 indivíduos foram considerados como fibrosantes lentos (Figura 13).

**Figura 13 – Distribuição dos 111 portadores de infecção crônica pelo HCV, conforme a taxa de progressão da fibrose hepática**



Assim, estes grupos foram comparados quanto à idade na aquisição do HCV, gênero, raça, modo provável de aquisição do HCV, genótipo do HCV e presença do anti-HBc total.

Na análise univariada, a presença de TPF acelerada foi associada à maior idade à época da infecção pelo HCV e à positividade do anti-HBc total (Tabela 25).

**Tabela 25 – Análise univariada dos fatores associados à presença de taxa de progressão de fibrose acelerada (TPF > 0,133 unidade de fibrose/ano) em portadores crônicos do HCV (n = 111)**

Variável	Fibrosantes	Fibrosantes	P	IC 95%
	Lentos (n = 81)	Rápidos (n = 30)		
<b>Idade na infecção pelo HCV*</b>	22,8 ± 12,1	32,6 ± 10,4	< 0,001 <sup>#</sup>	-14,7 – -4,8
<b>Genótipo (1/não-1)</b>	47/16	15/3	0,542 <sup>†</sup>	-
<b>Gênero (feminino/masculino)</b>	40/41	20/10	0,105 <sup>§</sup>	-
<b>Etnia (branca/não-branca)</b>	63/18	25/5	0,521 <sup>§</sup>	-
<b>Aquisição do HCV (THD/UD)</b>	64/17	27/3	0,181 <sup>§</sup>	-
<b>anti-HBc total (neg/pos)</b>	64/17	16/14	0,007 <sup>§</sup>	-

\* Média ± desvio-padrão, em anos; <sup>#</sup> Teste *t* de Student; <sup>†</sup> Teste exato de Fisher. <sup>§</sup> Teste de Qui-quadrado; THD = transfusão de hemoderivados; UD = uso de drogas; IC 95% = intervalo de confiança de 95% para as diferenças.



As variáveis gênero, modo de aquisição do HCV, idade no contágio e anti-HBc total foram utilizadas na construção de modelos de regressão logística. Tal como ocorreu na análise multivariada dos fatores associados à fibrose hepática significativa, utilizando-se 40 anos como ponto de corte para a idade à época da infecção pelo HCV, apenas o achado de anti-HBc total positivo mostrou-se associado à TPF acelerada ( $P = 0,015$  e  $OR = 3,223$ ) (Tabela 26). Com o ponto de corte modificado para 30 anos, a aquisição do HCV após os 30 anos de idade e a positividade do anti-HBc total se associaram de forma independente à TPF acelerada ( $P = 0,033$  e  $OR = 2,913$  e  $P = 0,015$  e  $OR = 3,241$ , respectivamente), conforme mostra a Tabela 27. Quinze por cento da variabilidade da TPF pôde ser explicada pelo primeiro modelo e 20% pelo segundo.

**Tabela 26 – Análise multivariada por regressão logística dos fatores associados à presença de TPF acelerada (> 0,133 unidade de fibrose/ano) em portadores do HCV, usando 40 anos como ponto de corte para a idade na infecção (n = 111)**

Variável	P	OR	IC 95%
anti-HBc total positivo	0,015	3,223	1,256 – 8,268
Idade na infecção pelo HCV > 40a	0,302	2,009	0,534 – 7,555
Gênero masculino	0,397	0,654	0,245 – 1,746
Transfusão de hemoderivados	0,350	2,020	0,462 – 8,828

OR = *odds ratio*; IC 95% = intervalo de confiança de 95% para os *odds ratios*.

**Tabela 27 – Análise multivariada por regressão logística dos fatores associados à presença de TPF acelerada (> 0,133 unidade de fibrose/ano) em portadores do HCV, usando 30 anos como ponto de corte para a idade na infecção (n = 111)**

Variável	P	OR	IC 95%
anti-HBc total positivo	0,015	3,241	1,253 – 8,379
Idade na infecção pelo HCV > 30a	0,033	2,913	1,088 – 7,797
Gênero masculino	0,509	0,712	0,259 – 1,952
Transfusão de hemoderivados	0,712	1,341	0,282 – 6,383

OR = *odds ratio*; IC 95% = intervalo de confiança de 95% para os *odds ratios*.

Ao ser realizada análise comparativa das TPFs de acordo com a ocorrência de infecção pelo HCV após 30 anos de idade e a positividade do anti-HBc total, verificou-se que a TPF apresentou valores progressivamente maiores de acordo com a presença de tais fatores. Desta forma, a mediana da TPF foi de 0,152 unidade de fibrose/ano para indivíduos com anti-HBc total positivo e que adquiriram o HCV após os 30 anos de idade, enquanto que aqueles que se infectaram com o HCV antes dos 30 anos de idade e que não apresentavam reatividade para o anti-HBc total exibiram mediana de TPF de 0,050 unidade de fibrose/ano. Pacientes com pelo menos um dos dois fatores apresentaram velocidade intermediária de progressão fibrótica: mediana de 0,118 unidade de fibrose/ano (Tabela 28).

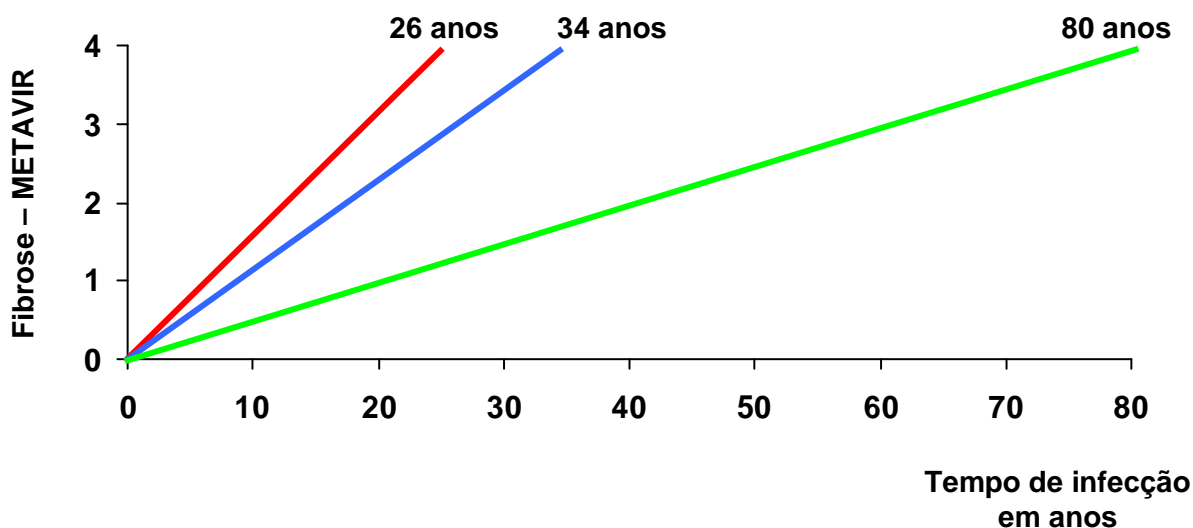
**Tabela 28 – Análise comparativa da taxa de progressão da fibrose hepática (TPF) conforme a idade na aquisição do HCV e a reatividade do anti-HBc total (n = 111)**

	anti-HBc (-) e idade ≤ 30 anos (n = 52)	Um fator presente (n = 45)	anti-HBc (+) e idade > 30 anos (n = 14)	P
<b>TPF*</b>	0,063 ± 0,059	0,111 ± 0,070	0,155 ± 0,065	
Md	0,050	0,118	0,152	< 0,001 <sup>∞</sup>
IC 95%	0,043 – 0,067	0,086 – 0,125	0,091 – 0,200	
<b>TF4**</b>	80,0	34,0	26,0	
IC 95%	60,0 – 93,0	32,0 – 47,0	20,0 – 44,0	

\* Média ± desvio-padrão, em unidades de fibrose/ano; Md = mediana; IC 95% = intervalo de confiança de 95% para as medianas; \*\* Calculado a partir das medianas; <sup>∞</sup> Teste de Kruskal-Wallis.

Supondo-se ausência de fibrose no momento da contaminação com o HCV e considerando-se a fibrose hepática como um fenômeno de progressão linear, o tempo estimado até o desenvolvimento de cirrose hepática foi significativamente menor para os indivíduos com anti-HBc total positivo que se infectaram com o HCV com idade superior a 30 anos, quando comparados ao daqueles com anti-HBc total negativo que se contaminaram antes dos 30 anos de idade: 26 anos vs. 80 anos (Figura 14).

**Figura 14 – Tempo estimado até o desenvolvimento de cirrose hepática, conforme a idade na aquisição do HCV e a positividade do anti-HBc total (n = 111)**



- anti-HBc total (-) e idade à época da infecção  $\leq$  30 anos
- Um dos dois fatores
- anti-HBc total (+) e idade à época da infecção  $>$  30 anos

## 5 DISCUSSÃO

Mesmo antes de seu isolamento por Choo e cols. em 1989, a capacidade do HCV de gerar danos persistentes ao parênquima hepático já era conhecida (Koretz, Stone & Gitnick, 1980; Alter et al, 1982; Dienstag, 1983; Mathieson et al, 1986; Choo et al, 1989). Na caracterização destas lesões crônicas, a atividade histológica, representada pela graduação da necrose hepatocelular e da intensidade do infiltrado inflamatório, foi inicialmente considerada como o principal marcador de gravidade da então chamada “hepatite crônica não-A, não-B”. Este conceito surgiu em concordância com a classificação histológica adotada entre o final da década de 60 e o início dos anos 90, a qual dividia as hepatites crônicas em três grupos, conforme a intensidade e a localização das lesões necroinflamatórias: hepatite crônica persistente, hepatite crônica ativa e hepatite crônica lobular (De Groote et al, 1968; Popper & Schaffner, 1971). Mesmo após a caracterização da infecção crônica pelo HCV como a principal causa da hepatite não-A, não-B, esta classificação foi utilizada nos estudos iniciais sobre a evolução da hepatite C, privilegiando a graduação da atividade necroinflamatória como marcador prognóstico, sem atenção equivalente à quantificação da fibrose (Alter et al, 1992; Dusheiko & Roberts, 1995; Tong et al, 1995).

Posteriormente, com o conhecimento cumulativo sobre a história natural da infecção pelo HCV, tornou-se claro que os óbitos de causa hepática em seus portadores praticamente se restringiam àqueles com fibrose hepática extensa ou cirrose, geralmente associados à insuficiência hepática, hipertensão portal ou CHC (Di Bisceglie et al, 1991; Seeff et al, 1992; Fattovich et al, 1997; Khan et al, 2000). Além disso, foi demonstrado que a atividade inflamatória apresentava comportamento variável e flutuante ao longo do tempo e que a ausência de hepatite de interface ou a presença de atividade mínima na biópsia hepática inicial não implicavam, necessariamente, em evolução clínico-histológica benigna (Yano et al, 1996; Poynard, Bedossa & Opolon, 1997). Estes achados contribuíram para que valor prognóstico maior fosse dado à avaliação semiquantitativa da fibrose hepática, que passou a ser considerada como o melhor indicador de fibrogênese ativa e o fator primordial no estudo da história natural da infecção crônica pelo HCV (Poynard et al, 2000; Seeff, 2002).

Outro avanço importante no estudo da hepatite C foi proporcionado por Poynard e cols., que caracterizaram de forma definitiva a hepatite C crônica como uma hepatopatia fibrogênica progressiva ao criarem o conceito de *taxa de progressão de fibrose* (TPF) (Poynard, Bedossa & Opolon, 1997). Contudo, foi verificado que a TPF não exibia comportamento uniforme em todos os indivíduos, com variações significativas entre determinados grupos. Desde então, diversos estudos procuraram identificar quais seriam os fatores determinantes da TPF na hepatite C crônica. Gênero masculino, duração da infecção pelo HCV, aquisição da infecção após os 40 anos de idade, consumo excessivo de etanol e infecção dupla com HIV ou HBV têm sido apontados como fatores fortemente associados à fibrose hepática rapidamente progressiva. Entretanto, questões metodológicas abrem caminho para a suspeita de que importantes variáveis possam não ter sido devidamente consideradas nestes estudos, tais como variabilidades genéticas do hospedeiro, disfunções metabólicas (resistência insulínica, por exemplo), exposição a substâncias tóxicas (como ocorre no tabagismo) e infecção prévia ou oculta pelo HBV (Shev et al, 1997; Cacciola et al, 1999; De Maria et al, 2000; Powell et al, 2000; Pessione et al, 2001; Sonzogni et al, 2002; Giannini et al, 2003; Hézode et al, 2003; Hui et al, 2003; Muhlbauer et al, 2003; Promrat et al, 2003; Wright et al, 2003b).

Neste contexto, o presente estudo pretendeu contribuir para a melhor compreensão dos fatores influenciadores da progressão da fibrose hepática associada à infecção crônica pelo HCV, ao avaliar o impacto da infecção prévia ou oculta pelo HBV em seus portadores. Este estudo diferiu daqueles realizados anteriormente sobre o tema, na medida em que exerce controle adequado para os fatores independentemente associados à fibrose hepática avançada e TPF acelerada na hepatite C, já identificados em estudos clássicos: idade à época da infecção, gênero, uso abusivo de álcool, tempo de infecção e infecção conjunta com o HIV (Poynard, Bedossa & Opolon, 1997; Roudot-Thoraval et al, 1997; Benhamou et al, 1999; Poynard et al, 2001). A ausência de controle para estes fatores nos estudos anteriores pode ter causado inadequações metodológicas que dificultariam a extrapolação dos achados para a população geral de portadores do HCV.

A amostra analisada apresentou média de idade de  $47,3 \pm 11,5$  anos, com predomínio do gênero feminino (54%). A média de idade encontrada na amostra é semelhante àquelas encontradas em estudos anteriores que avaliaram grande número de portadores crônicos do HCV (Roudot-Thoraval et al, 1997; Poynard et al, 2001).

Contudo, a predominância do gênero feminino encontrada neste estudo difere do perfil descrito pela maioria das publicações, nas quais o gênero masculino corresponde a aproximadamente 60% das casuísticas (Roudot-Thoraval et al, 1997; Poynard et al, 2001). De fato, entre janeiro de 1998 e dezembro de 2002, período utilizado para a formação da amostra, 58% dos 1.237 pacientes cadastrados no banco de dados do Ambulatório do Setor de Hepatites como portadores de infecção crônica pelo HCV eram do gênero masculino. Esta disparidade poderia ser explicada pela exclusão de indivíduos com HBsAg e/ou anti-HIV positivos e pacientes com ingestão abusiva de etanol. A infecção dupla HBV-HCV é mais prevalente em homens, com frequências variando entre 75 e 80% (Dai et al, 2001; Pace, 2001; Buti et al, 2002). O gênero masculino é igualmente mais freqüente em portadores de infecção dupla HCV-HIV (60 a 73% dos casos) e entre mono infectados pelo HCV que fazem uso abusivo de álcool (60 a 85%) (Poynard, Bedossa & Opolon, 1997; Benhamou et al, 1999; Loguercio et al, 2000; Mohsen et al, 2003). Assim, é possível que a exclusão destes subgrupos tenha reduzido a proporção de homens na amostra analisada.

Nesta amostra, a média de idade na ocasião da biópsia hepática ( $47,3 \pm 11,5$  anos) foi similar aos valores descritos por outros autores, cujas casuísticas apresentaram médias de idade entre 41 e 52 anos (Poynard, Bedossa & Opolon, 1997; Roudot-Thoraval et al, 1997; Matsumura et al, 2000; Lagging et al, 2002; Ghany et al, 2003).

A média da idade à época da infecção pelo HCV foi de  $25,5 \pm 12,4$  anos. Comparando-se esta média com as descritas em estudos anteriores, verifica-se que os pacientes incluídos nesta amostra adquiriram o HCV com idade inferior àqueles avaliados nas casuísticas já publicadas, nas quais a infecção pelo HCV ocorreu entre 30 e 44 anos (Roudot-Thoraval et al, 1997; Harris et al, 2000; Lagging et al, 2002; Ghany et al, 2003). Além disso, a duração média da infecção pelo HCV estimada nesta casuística ( $21,9 \pm 6,5$  anos) foi expressivamente maior do que as durações relatadas pela maioria dos estudos prévios, que descreveram tempos de infecção entre 10,7 e 14 anos (Poynard, Bedossa & Opolon, 1997; Roudot-Thoraval et al, 1997; Harris et al, 2000; Thomas et al, 2000; Lagging et al, 2002; Ghany et al, 2003). Todavia, tempos de infecção pelo HCV mais prolongados já foram citados por alguns autores, como Matsumura e cols. e Ryder e cols., cujos estudos evidenciaram tempos de infecção próximos ao descrito nesta amostra: 25,6 e 18,9 anos, respectivamente (Matsumura et al, 2000; Ryder et al, 2004). A aquisição relativamente precoce do HCV pelos pacientes

analisados pode ter contribuído para o maior tempo médio de infecção observado neste estudo.

Pacientes do gênero feminino foram submetidas à biópsia hepática com idade superior aos homens ( $49,5 \pm 11,4$  vs.  $44,7 \pm 11,4$  anos;  $P = 0,029$ ). Valores semelhantes foram descritos por Roudot-Thoraval e cols. que, avaliando 6.664 pacientes franceses, obtiveram médias de idade superiores entre as mulheres, na ocasião do diagnóstico ( $48,5 \pm 15,6$  vs.  $43,0 \pm 14,9$  anos;  $P < 0,001$ ), sendo que esta diferença foi associada a uma predominância do gênero masculino nas faixas etárias mais baixas (Roudot-Thoraval et al, 1997).

Do mesmo modo, os homens apresentaram menor média de idade à época da infecção pelo HCV, quando comparados com indivíduos do gênero feminino ( $21,8 \pm 11,9$  vs.  $28,6 \pm 12,1$  anos;  $P = 0,004$ ). No estudo de Poynard e cols., 57,4% dos pacientes que se infectaram com menos de 40 anos de idade eram homens e 51,3% dos que adquiriram o HCV com idade superior a 40 anos eram do gênero feminino (Poynard, Bedossa & Opolon, 1997). Além disso, é necessário considerar que a idade na infecção pelo HCV parece ser maior em indivíduos que o adquirem através de transfusões de sangue do que entre drogaditos. Em um estudo do tipo *lookback* realizado no Reino Unido e que analisou exclusivamente indivíduos que se infectaram através de transfusões de sangue contaminado, a mediana da idade à época da aquisição foi de 45,8 anos (Harris et al, 2000). Outros estudos de seguimento de HPTs incluíram pacientes com médias de idade de aproximadamente 50 anos (Di Bisceglie et al, 1991; Seeff et al, 1992). Em contraste, Thomas e cols. e Diaz e cols., avaliando drogaditos infectados pelo HCV, encontraram medianas de idade no momento do contágio de 34 e 24,5 anos, respectivamente (Thomas et al, 2000; Diaz et al, 2001). Estudo inglês com 229 pacientes portadores crônicos do HCV mostrou que, entre os 92 pacientes com data de infecção presumível, a média de idade ao contágio foi de 23 anos nos usuários de drogas intravenosas e de 32 anos entre os receptores de hemoderivados. Portanto, é plausível a hipótese de que a maior proporção de drogadição entre os homens possa ter colaborado para a menor média de idade destes na época da contaminação pelo HCV.

Com relação ao tempo de infecção pelo HCV, homens e mulheres exibiram tempos comparáveis. Este equilíbrio pode resultar do fato de que, embora os homens tenham se contaminado com o HCV mais precocemente do que as mulheres, eles foram submetidos à biópsia hepática com idade inferior à das mulheres.

Na amostra estudada, houve apenas dois relatos de descompensação hepática (um caso de ascite e um caso de hemorragia digestiva varicosa), ambos ocorridos posteriormente à realização da biópsia. A raridade de complicações hepáticas nesta casuística contrasta com estudos realizados em centros especializados no atendimento de doenças hepáticas, os quais relatam frequências significativamente maiores de pacientes com indícios de hepatopatia avançada (Di Bisceglie et al, 1991; Tong et al, 1995; Niederau et al, 1998). Khan e cols., avaliando uma coorte de 455 pacientes durante 4,7 anos (mediana), verificaram a transmissão esporádica, fibrose avançada e hipoalbuminemia como fatores associados ao desenvolvimento de complicações relacionadas ao fígado. Estes autores também identificaram que gênero masculino, transmissão esporádica e hipoalbuminemia seriam fatores de risco para o surgimento de CHC (Khan et al, 2000). A inclusão apenas de pacientes com provável aquisição parenteral e o predomínio do gênero feminino na amostra podem ter colaborado para o pequeno número de complicações observado. Além disso, a exclusão dos pacientes que não foram submetidos previamente à biópsia hepática provavelmente contribuiu para o reduzido número de casos de descompensação hepática.

Quanto ao modo provável de contaminação com o HCV, houve predomínio da aquisição transfusional sobre o contágio associado ao uso de drogas parenterais (82% vs. 18%). O padrão epidemiológico da infecção pelo HCV é variável nos diversos estudos. Enquanto em algumas casuísticas predominam os receptores de hemoderivados (Poynard, Bedossa & Opolon, 1997; Roudot-Thoraval et al, 1997), outros autores descreveram amostras com preponderância de drogaditos (Lagging et al, 2002; Ghany et al, 2003; Ryder, 2004). Fato digno de nota foi a grande diferença encontrada entre os dois modos de aquisição, que não foi relatada nos demais estudos e que pode ser reflexo da exclusão de etilistas e portadores de infecção conjunta com HBV ou HIV, subgrupos mais prevalentes entre usuários de drogas do que entre receptores de transfusão (Garfein et al, 1996; Roudot-Thoraval, et al, 1997; Diaz et al, 2001). A maior proporção de homens entre os drogaditos (90%) é coincidente com os achados descritos em outras séries (Garfein et al, 1996; Roudot-Thoraval et al, 1997; Wali et al, 1999; Diaz et al, 2001).

Assim como em séries previamente descritas (Fattovich et al, 1997; Ghany et al, 2003), apenas uma pequena proporção de pacientes apresentou níveis normais de ALT (13%). Sessenta e cinco por cento da amostra mostrou níveis elevados de GGT. Nas diversas casuísticas, 38 a 70% dos portadores crônicos do HCV apresentam



atividade aumentada dessa enzima (Sansonno & Dammacco, 1992; Hwang et al, 2000; Silva et al, 2004). É necessário ressaltar que sinais histológicos de colestase não foram observados em nenhum caso.

Indícios laboratoriais de disfunção hepatocelular foram infreqüentemente observados na amostra: 10% dos pacientes avaliados exibiram valores de atividade de protrombina inferiores a 70% e hipoalbuminemia foi encontrada em apenas 5% dos casos. Mais uma vez, a necessidade da realização de biópsia hepática provavelmente parece ter favorecido a inclusão de indivíduos com função hepática relativamente conservada, o que se refletiu nos testes laboratoriais.

Quanto aos achados histológicos, cirrose hepática foi encontrada em 20% das biópsias. A prevalência de cirrose hepática neste estudo é semelhante às aquelas descritas em outras séries, que mostraram taxas em torno de 15%, variando de 11 a 18% (Delladetsima et al, 1996; Roudot-Thoraval et al, 1997; Poynard et al, 2001; Ghany et al, 2003). Setenta e sete por cento dos pacientes apresentaram hepatite crônica sem evidências de cirrose hepática histológica e com graus variados de atividade necroinflamatória. Atividade histológica significativa (A2 ou A3 pela classificação de METAVIR) foi identificada em 51% dos indivíduos. Os graus de atividade histológica encontrados nesta amostra coincidem com os estudos de Poynard e cols. e Roudot-Thoraval e cols., nos quais atividade moderada ou acentuada foi evidenciada em 52% e 50% dos casos, respectivamente (Roudot-Thoraval et al, 1997; Poynard et al, 2001), embora outras séries tenham descrito prevalências significativamente inferiores, variando de 13,5% a 27% (Delladetsima et al, 1996; Fontaine et al, 2001; Asselah et al, 2003).

Pelo menos um achado histológico sugestivo de infecção pelo HCV foi demonstrado em 85% das biópsias, sendo esteatose hepática e agregados linfóides as alterações mais freqüentes (72% e 60%, respectivamente). Lesões de ductos biliares foram encontradas em 12% dos casos. Entre os marcadores etiológicos da infecção pelo HCV, a maior prevalência da esteatose hepática e dos agregados linfóides em comparação às das lesões ductais vai ao encontro da maioria dos estudos histológicos publicados, que mostraram predomínio da esteatose e agregados linfóides, com taxa média de 60% (Scheuer et al, 1992; Bach, Thung & Schaffner, 1992; Lefkowitz et al, 1993; Gordon et al, 1993; Czaja & Carpenter, 1993; Delladetsima et al, 1996).

Nesta amostra, foi encontrada uma TPF média de  $0,094 \pm 0,071$  unidade de fibrose/ano, com mediana de 0,086 unidade de fibrose/ano (IC 95% 0,067 a 0,111).

Considerando-se uma progressão linear da fibrose hepática, o tempo de infecção necessário para o desenvolvimento de cirrose hepática, estimado a partir da mediana, seria de 46 anos (IC 95% 36 a 60 anos). Em outro estudo, Ghany e cols., avaliando uma coorte de 123 portadores de hepatite C crônica submetidos a duas biópsias hepáticas com intervalo médio de 44 meses, encontraram TPF de 0,120 unidade de fibrose/ano (classificação de Ishak), com expectativa de evolução para cirrose hepática de aproximadamente 49 anos, valor similar ao encontrado nesta amostra (Ishak et al, 1995; Ghany et al, 2003). Entretanto, as estimativas encontradas nesta amostra e no estudo de Ghany e cols. são superiores àquela descrita pelo clássico estudo de Poynard e cols., no qual a análise de 1.157 portadores do HCV com duração da infecção conhecido permitiu calcular que o tempo até o surgimento de cirrose hepática seria de 30 anos (IC 95% 28 a 32) (Poynard, Bedossa & Opolon, 1997). Resultado semelhante foi mostrado recentemente por Ryder que, estudando biópsias pareadas de 214 pacientes não-tratados (mediana do intervalo interbiópsias de 2,5 anos), obteve TPF de 0,17 unidade de fibrose/ano. Considerando a classificação de Ishak, utilizada neste estudo, a cirrose hepática surgiria cerca de 35 anos após o contágio (Ishak et al, 1995; Ryder, 2004).

É possível que diferenças metodológicas e populacionais sejam responsáveis pelos achados discrepantes descritos por estes autores. Em geral, estudos transversais que avaliam a progressão da fibrose hepática em função da relação entre o escore de fibrose e a duração da infecção pelo HCV mostram TPF maiores do que estudos longitudinais da variação do escore de fibrose entre duas biópsias. Este fato poderia ser explicado pelo pequeno intervalo interbiópsias usado nos estudos longitudinais, o que reduz a frequência das modificações no escore de fibrose (Poynard et al, 2000; Marcellin, Asselah & Boyer, 2002). Assim sendo, é inusitada a semelhança das estimativas do tempo de infecção até o surgimento de cirrose hepática entre os estudos de Poynard e cols. (30 anos) e Ryder (35 anos), já que o primeiro possui desenho transversal e o segundo avalia biópsias pareadas (Poynard, Bedossa & Opolon, 1997; Ryder, 2004). Da mesma forma, seria esperado que o tempo até cirrose hepática estimado no presente estudo fosse menor (TPF mais acelerada) do que a verificada por Ghany e cols. e, no entanto, as estimativas dos dois estudos foram semelhantes (46 e 49 anos) (Ghany et al, 2003). Estes achados imprevistos podem ser resultantes do fato de que as amostras incluídas nos diversos estudos apresentam padrões diferentes com relação às variáveis com possível impacto na TPF, tais como extensão

da fibrose na biópsia inicial, ingestão etílica, evidências sorológicas de contato prévio com o HBV, idade no momento do contágio, tempo de infecção e outros. Portanto, a TPF descrita por Ryder pode ter se aproximado daquela encontrada por Poynard e cols. em função do maior tempo de infecção apresentado por sua amostra (19 anos vs. 12 anos) e da expressiva proporção de indivíduos com anti-HBc total positivo (42,1%). Do mesmo modo, neste estudo, a exclusão de pacientes com história de abuso de álcool e a significativa proporção de pacientes que se contaminaram com o HCV antes de 30 anos de idade (62%) provavelmente resultaram em progressão da fibrose hepática mais lenta do que a verificada por Poynard e cols. e similar à descrita por Ghany e cols (Poynard, Bedossa & Opolon, 1997; Ghany et al, 2003; Ryder, 2004). Estas inferências são reforçadas pelos achados encontrados por Matsumura e cols. que, em um estudo transversal envolvendo 527 pacientes com hepatite C crônica (53,5% com antecedente transfusional), evidenciaram uma TPF geral de 0,120 unidade de fibrose/ano, o que corresponde a um tempo estimado até cirrose hepática de 33 anos. Contudo, entre os indivíduos que adquiriram o HCV antes de 30 anos de idade, a TPF e o tempo até cirrose foram de 0,090 e 44 anos, valores próximos aos encontrados neste estudo (Matsumura et al, 2000).

Quanto à distribuição dos genótipos do HCV, houve predomínio do genótipo 1, presentes em 76% da amostra. Este padrão acompanhou tendência descrita anteriormente pelo levantamento realizado pela SBH em 1999, no qual predominava o genótipo 1, com prevalência média de 70% (SBH, 1999). Na presente amostra, o predomínio expressivo do genótipo 1 sobre os demais pode ser conseqüente à proporção reduzida de drogaditos, população na qual o genótipo 3 tende a ser mais prevalente (Serfaty et al, 1997; Martinot-Peignoux et al, 1999; Mondelli & Silini, 1999; Bourlière et al, 2002; Serra et al, 2003).

Trinta e nove portadores de infecção crônica pelo HCV (35% da amostra) exibiram um ou mais marcadores sorológicos do HBV. Dentre estes, 31 indivíduos (28% da amostra) apresentaram anti-HBc total positivo, sendo que o padrão “anti-HBc isolado” foi evidenciado em 10 pacientes. Reatividade para o anti-HBc total e para o anti-HBs foi demonstrada em 21 indivíduos.

Desta forma, neste estudo, a prevalência de evidências sorológicas de contato prévio com o HBV em portadores de infecção crônica pelo HCV foi de 28%. Esta taxa é significativamente maior do que a prevalência de anti-HBc total positivo nos habitantes do município de São Paulo, estimada em 4,9% (Focaccia et al, 1998).

Por outro lado, a prevalência de anti-HBc total positivo observada nesta amostra foi discretamente inferior àquelas encontradas em estudos anteriores, nos quais a frequência de positividade do anti-HBc total em portadores de HCV foi de aproximadamente 40%, variando entre 22 e 96% (Gonçales Júnior et al, 1993; Uchida et al, 1997; Koike et al, 1998; Cacciola et al, 1999; Marusawa et al, 1999; De Maria et al, 2000; Khan et al, 2000; Hope et al, 2001; Kao et al, 2002; Ortiz et al, 2002; Giannini et al, 2003; Myers, Thibault & Poynard, 2003; Fabris et al, 2004; Georgiadou et al, 2004; Torbenson et al, 2004; Wedemeyer et al, 2004). A grande diversidade das prevalências descritas nos diversos estudos é resultado das diferentes características demográficas, epidemiológicas e clínicas das amostras avaliadas. Em geral, a frequência de positividade do anti-HBc total entre portadores de HCV aumenta na razão direta da prevalência da infecção pelo HBV na região estudada, da idade dos indivíduos, da magnitude de drogaditos incluídos e da proporção de pacientes com lesões histológicas avançadas (cirrose hepática ou CHC).

Como exemplos, podem ser citados os estudos de Giannini e cols. e Hope e cols., que encontraram anti-HBc total positivo em 40% de suas amostras, prevalência superior aos 28% encontrados no presente estudo (Hope et al, 2001; Giannini et al, 2003). Entretanto, na série de Giannini e cols., a média de idade e a proporção de cirróticos foram relativamente maiores do que as observadas nesta amostra (52 vs. 47 anos e 29% vs. 20%). Embora tenha sido realizado em área de baixa prevalência de infecção pelo HBV (Reino Unido), o estudo de Hope e cols. incluiu apenas pacientes que faziam uso intravenoso de drogas ilícitas, o que pode ter contribuído para uma maior exposição ao HBV. Marusawa e cols., Kao e cols. e Torbenson e cols. descreveram as prevalências mais elevadas de anti-HBc total positivo em indivíduos com infecção crônica pelo HCV: 50%, 90% e 96%, respectivamente, taxas muito superiores à encontrada nesta casuística (Marusawa et al, 1999; Kao et al, 2002; Torbenson et al, 2004). Dois destes estudos, todavia, foram realizados em regiões onde a prevalência do HBV é intermediária ou alta (Japão e Taiwan) e incluíram grande proporção de cirróticos e portadores de CHC, alcançando cerca de 50% das amostras, o que provavelmente influenciou seus achados (Marusawa et al, 1999; Kao et al, 2002). Já o estudo de Torbenson e cols. analisou 188 usuários de drogas intravenosas com hepatite C crônica confirmada por biópsia hepática (Torbenson et al, 2004). Conforme dito anteriormente, a avaliação exclusiva de drogaditos pode ter superestimado a prevalência dos marcadores de contato com o HBV neste estudo.

Entre os 31 pacientes que mostraram reatividade para o anti-HBc total, apenas 10 pacientes exibiram “anti-HBc isolado”. Diversos autores, avaliando a frequência de marcadores do HBV em portadores crônicos do HCV, também observaram maior proporção de indivíduos com anti-HBc total e anti-HBs positivos em relação ao número de pacientes com anti-HBc total positivo e anti-HBs negativo (Cacciola et al, 1999; De Maria et al, 2000; Kao et al, 2002; Fabris et al, 2004; Wedemeyer et al, 2004), embora o padrão de “anti-HBc isolado” tenha predominado em algumas séries (Giannini et al, 2003; Myers, Thibault & Poynard, 2003). Diferenças metodológicas tais como utilização de testes distintos (RIA, EIA ou MEIA), diferentes pontos de corte e amplitudes de zona cinza e uso ou não de re-teste podem ter colaborado para a divergência de resultados. Neste estudo, os marcadores sorológicos do HBV foram pesquisados por MEIA e as amostras com anti-HBc isolado foram submetidas a re-teste. A utilização de MEIA, teste de sensibilidade superior ao EIA e de especificidade equivalente ao RIA (Kashiwagi et al, 1991; Spronk et al, 1991), e a realização de re-testagem tornam improvável a ocorrência de testes falso-positivos, embora estes não possam ser definitivamente descartados.

Nenhuma das 111 amostras submetidas à pesquisa de HBV-DNA por técnica de PCR mostrou DNA detectável. Este fato contrasta com a maioria dos estudos semelhantes anteriormente publicados, os quais, em média, descreveram a presença de HBV-DNA em 40% dos indivíduos com infecção crônica pelo HCV. Entretanto, este achado não foi universal, na medida em que vários autores não obtiveram sucesso em identificar HBV-DNA em amostras séricas. Pontisso e cols., estudando a influência recíproca entre as infecções pelo HBV e HCV, não detectaram HBV-DNA em nenhuma amostra sérica ou em fragmento de tecido hepático em 20 pacientes com HCV-RNA e anti-HBc total positivos (Pontisso et al, 1993). Mais recentemente, Haushofer e cols. pesquisaram evidências de replicação do HBV em 141 pacientes com anti-HBc positivo com ou sem sorologia positiva para o HCV, com o auxílio de ensaio comercial baseado em PCR com limite de 200 cópias/mL. Neste estudo, mais uma vez, HBV-DNA não foi detectado em nenhuma amostra sérica (Haushofer et al, 2004).

Exemplos similares não faltam na literatura brasileira. Em estudo realizado por Pereira e cols., 29 pacientes HBsAg-negativos com hepatite C crônica foram avaliados por meio de técnica de PCR com limite inferior de detecção de 400 cópias/mL, não sendo encontradas amostras positivas (Pereira et al, 2002). Gonçalves Júnior e cols. utilizaram técnica de PCR *in house* com limite inferior de detecção estimado em 100

cópias/mL e foram capazes de detectar HBV-DNA em 15/106 portadores de HCV (14%), sendo que 12 eram portadores de anti-HBc isolado e 3 indivíduos apresentavam reatividade tanto para o anti-HBc total quanto para o anti-HBs; contudo, quando as amostras séricas positivas foram submetidas à tentativa de quantificação por meio de kit comercial baseado em PCR com limite de detecção de 1.000 cópias/mL – mesmo ensaio utilizado no presente estudo – todas as amostras foram negativas (Gonçales Júnior et al, 2003). De forma análoga, Silva e cols. identificaram 5 casos (3,3%) de infecção oculta pelo HBV entre 150 candidatos a doadores de sangue rejeitados por apresentarem anti-HBc total positivo, por meio de ensaio baseado em PCR com limite inferior de detecção estimado entre 40 e 120 cópias/mL; nenhum dos 5 casos forneceu amostras quantificáveis por kit comercial com limite mínimo de 1.000 cópias/mL (Silva et al, 2005).

Diversos fatores podem estar envolvidos na disparidade de prevalências de HBV-DNA detectável em portadores de HCV e poderiam justificar a ausência de amostras positivas nesta série. Em primeiro lugar, a frequência de positividade de HBV-DNA na ausência de HBsAg varia em função da prevalência da infecção crônica típica pelo HBV (com HBsAg positivo) na região geográfica onde o estudo é realizado, sendo, assim, mais comum em locais como China, Taiwan, Grécia e certas regiões da Itália e Japão, onde a infecção pelo HBV é ou tende a ser endêmica. Com relação ao HBV, a América do Sul é classicamente considerada como uma região de prevalência intermediária, com taxas entre 2 e 5% (Chan, Ghany & Lok, 1999). Todavia, segundo estudo feito por Focaccia e cols., a prevalência estimada de portadores crônicos do HBV na cidade de São Paulo seria de 1%, taxa que pode ser considerada baixa (Focaccia et al, 1998). Portanto, seria razoável que a prevalência de infecção oculta pelo HBV acompanhasse esta tendência, sendo infreqüente nos pacientes aqui estudados.

Em segundo lugar, a prevalência da infecção oculta pelo HBV depende do intervalo de tempo decorrido desde o clareamento do HBsAg até a pesquisa de HBV-DNA, de tal forma que, quanto maior este intervalo, menor seria a positividade do HBV-DNA (Hu, 2002). Ao possuir desenho retrospectivo, o presente estudo não permitiu estabelecer de forma acurada o tempo de infecção pelo HBV, assim como a dedução do momento do clareamento do HBsAg não pôde ser presumida. Desta forma, é possível que nesta amostra os pacientes tenham se contaminado e clareado a infecção

pelo HBV de forma relativamente precoce, não mais apresentando HBV-DNA detectável no soro.

Na infecção oculta pelo HBV, de forma similar ao que ocorre na história natural da infecção típica por este vírus, a viremia pode assumir padrão flutuante, possivelmente em consequência de um equilíbrio instável entre a pressão imunológica exercida pelo hospedeiro e a proliferação viral (Hofer et al, 1998; Kazemi-Shirazi, Petermann & Müller, 2000; Perrillo, 2001; Hu, 2002). Desequilíbrios intermitentes deste sistema habitualmente ocorrem de forma espontânea, sem que fatores desencadeantes possam ser detectados. Contudo, eventualmente, tais fatores podem estar presentes, tais como comorbidades debilitantes, medicações imunossupressoras, abuso etílico, variações genômicas espontâneas ou induzidas por terapia antiviral ou ainda superinfecções por outros vírus hepatotrópicos ou pelo HIV (Lok et al, 1991; Perrillo, 2001). O bom estado geral dos pacientes avaliados e a exclusão de etilistas, imunossuprimidos e de infectados pelo HIV sugere que os indivíduos possam ter sido investigados durante fase de equilíbrio, na qual o sistema imune estaria mantendo a replicação viral em níveis extremamente reduzidos, que seriam indetectáveis pelo ensaio de PCR utilizado.

O fenômeno de interferência viral poderia igualmente contribuir para a manutenção de atividade replicativa mínima do HBV. Este fenômeno foi descrito primeiramente na co-infecção e superinfecção HBV-HDV, nas quais o HDV exerce forte inibição sobre a replicação do HBV (Sagnelli, Felaco & Rapicetta, 1991). Posteriormente, foi verificado que, no contexto de uma infecção conjunta HBV-HCV, haveria também interações inibitórias entre os dois vírus, as quais se mostraram variadas em sentido ou mesmo alternadas ao longo do tempo. Assim, alguns estudos evidenciaram indícios de atividade supressora do HCV sobre a replicação do HBV (Fong et al, 1991; Crespo et al, 1994; Ohkawa et al, 1994; Sato et al, 1994; Sheen et al, 1994; Lau et al, 1998; Dai et al, 2001), enquanto outros autores observaram inibição significativa da proliferação do HCV por interferência do HBV (François et al, 1994; Zarski et al, 1998; Wietzke et al, 1999; Liaw, Yeh & Tsai, 2000; Mathurin et al, 2000; Chu et al, 2002; Sagnelli et al, 2002). Além disso, inibição recíproca entre os vírus já foi descrita previamente, assim como estudos longitudinais já demonstraram ser possível a alternância de domínio replicativo entre os dois vírus (Pontisso et al, 1993; Ohkawa et al, 1994; Koike et al, 1995; Tsuji et al, 1998; Sagnelli et al, 2000). Apesar destas variações inibitórias, estudos de infecção conjunta HBV-HCV feitos em humanos,

modelos animais e em culturas de células sugerem fortemente que o HCV assuma papel preponderante na infecção conjunta HBV-HCV, exercendo inibição mais eficaz sobre o HBV do que o inverso (Brotman et al, 1983; Mimms et al, 1993; Shih et al, 1993; Liaw et al, 1994; Liaw, 2001; Schüttler et al, 2002). É admissível que, nesta amostra, a supressão da atividade replicativa do HBV pela ação do HCV tenha ocorrido de forma suficientemente intensa para impossibilitar a detecção de HBV-DNA em amostras séricas.

Por fim, a ausência de HBV-DNA detectável no presente estudo pode simplesmente resultar da sensibilidade insuficiente do ensaio comercial por PCR utilizado, incapaz de detectar cargas virais inferiores de 1.000 cópias/mL. A maioria dos estudos sobre infecção oculta pelo HBV tem descrito baixos níveis séricos de HBV-DNA, em geral, inferiores a  $10^4$  cópias/mL, em ensaios baseados em PCR (Weinberger et al, 2000; Bréchet et al, 2001; Chemin et al, 2001).

De fato, a diminuta atividade replicativa encontrada na infecção oculta pelo HBV foi evidenciada por Chemin e cols., que avaliaram 50 portadores de hepatite crônica idiopática por meio de ensaio baseado em PCR com amplificação dupla (*nested PCR*), com sensibilidade estimada em 350 cópias/mL. Com este teste, os autores detectaram HBV-DNA em 15/50 amostras séricas (30%). Quando submetidas a ensaio comercial com limite inferior de detecção de 400 cópias/mL (Amplicor® HBV Monitor – Roche Diagnostics, Raritan, NJ, EUA), 10 das 15 amostras apresentaram cargas virais inferiores a  $10^3$  cópias/mL (Chemin et al, 2001).

Recentemente, Drosten e cols. usaram teste por PCR com sensibilidade de 100 cópias/mL para pesquisa de HBV-DNA em 160 pacientes com anti-HBc total positivo e HBsAg negativo, obtendo testes positivos em 20 amostras. Submetidas a quantificação por meio de PCR *real-time* com *primers* do gene S, 13 das 20 amostras foram negativas, ou seja, 65% dos casos de infecção inaparente pelo HBV apresentaram cargas virais inferiores a 500 cópias/mL (Drosten et al, 2004).

Pesquisa recentemente publicada por Torbenson e cols. fornece outro exemplo das dificuldades de detecção de cargas virais tão baixas (Torbenson et al, 2004). Neste trabalho, a infecção oculta pelo HBV foi pesquisada em 188 usuários de drogas com hepatite C crônica por meio de kit comercial baseado em PCR com sensibilidade de 200 cópias/mL (Cobas Amplicor® HBV Monitor – Roche Diagnostic Systems, Pleasanton, CA, EUA) e também por ensaio PCR *semi-nested* com limite inferior de detecção de 15 cópias/mL. Nenhuma amostra foi positiva para HBV-DNA pelo kit



comercial, enquanto 81/180 amostras (45%) apresentaram HBV-DNA detectável pelo PCR *semi-nested*. Este estudo se assemelha ao estudo de Gonçalves Júnior e cols., citado anteriormente, no qual a pesquisa de HBV-DNA por kit comercial com limite de detecção de 1.000 cópias/mL não foi capaz de confirmar a positividade de 15 amostras (14% da casuística) com HBV-DNA positivo por PCR *in house* com sensibilidade de 100 cópias/mL (Gonçalves Júnior et al, 2003).

Estes estudos fornecem evidências adicionais de que o teste utilizado no presente estudo pode ter carecido da sensibilidade necessária para a detecção da infecção oculta pelo HBV nesta amostra de portadores crônicos do HCV. Entretanto, 10 amostras que apresentaram DO próximas a 1.000 cópias/mL foram testadas no Centro de Genomas – Laboratório de Biologia Molecular por PCR em tempo real, com limite inferior de detecção de 200 cópias/mL. Novamente, nenhuma amostra foi positiva.

Nos diversos estudos que avaliaram o impacto da infecção oculta/prévia pelo HBV em portadores de infecção crônica pelo HCV, a maioria dos autores analisou os indivíduos com anti-HBc isolado juntamente com aqueles que mostravam reatividade para o anti-HBc total e para o anti-HBs, comparando-os com pacientes sem evidências sorológicas de contato anterior com o HBV (Uchida et al, 1997; Koike et al, 1998; Cacciola et al, 1999; De Maria et al, 2000; Khan et al, 2000; Bréchet et al, 2001; Hope et al, 2001; Pereira et al, 2002; Imazeki et al, 2003; Myers, Thibault & Poynard, 2003; Fabris et al, 2004; Haushofer et al, 2004; Torbenson et al, 2004). Esta abordagem, entretanto, não foi universal, já que alguns autores consideraram necessária a análise individualizada daqueles subgrupos (Fukuda et al, 1999; Marusawa et al, 1999; Kazemi-Shirazi, Petermann & Müller, 2000; Kao et al, 2002; Giannini et al, 2003; Georgiadou et al, 2004; Wedemeyer et al, 2004). A primeira abordagem encontra apoio em vários estudos que observaram prevalências semelhantes de infecção oculta pelo HBV em indivíduos com anti-HBc total positivo de forma independente da reatividade do anti-HBs (Kazemi-Shirazi, Petermann & Müller, 2000; Weber et al, 2001; Giannini et al, 2003; Drosten et al, 2004; Georgiadou et al, 2004). Como exceção, cita-se o estudo de Kao e cols., no qual o achado de HBV-DNA positivo em portadores de HCV foi mais freqüente em pacientes com anti-HBc isolado do que entre indivíduos com anti-HBc total e anti-HBs positivos: 25,4 vs. 11,8% (Kao et al, 2002).

O racional para a avaliação conjugada de pacientes com anti-HBc total positivo com ou sem anti-HBs positivo como um grupo único de indivíduos com evidências de contato prévio com o HBV parte do pressuposto de que a chance de resultados falso-

positivos para o anti-HBc total possa ser considerada desprezível e que não haja indícios clínicos ou laboratoriais sugestivos de infecção aguda pelo HBV em fase de janela imunológica. Excluídos estes fenômenos, admite-se que os casos de anti-HBc isolado refletiriam, em sua grande maioria, estado tardio de imunidade contra o HBV, décadas após a infecção aguda, no qual a concentração de anti-HBs teria decrescido até níveis indetectáveis pelos métodos habituais, enquanto o anti-HBc total, pela maior antigenicidade do HBcAg, persistiria positivo (Grob et al, 2000).

Neste estudo, foi utilizado método de excelente especificidade para a detecção do anti-HBc total (MEIA) e as amostras positivas foram submetidas a re-teste, o que torna improvável que tais amostras representem resultados falso-positivos. A ocorrência de infecções agudas pelo HBV durante o período de janela imunológica não pode ser absolutamente descartada. Os 10 pacientes com anti-HBc isolado, contudo, não apresentaram achados histológicos sugestivos de infecção aguda recente pelo HBV superposta ao quadro de hepatite crônica.

A fim de avaliar a adequação da análise conjunta de pacientes com anti-HBc isolado e indivíduos com anti-HBc total e anti-HBs positivos, estes subgrupos foram comparados quanto às suas características clínicas, bioquímicas, virológicas e histológicas. Nesta análise comparativa preliminar, os dois subgrupos comportaram-se de forma semelhante, não havendo diferenças significativas entre eles com relação às variáveis avaliadas, com exceção do achado de albuminemia discretamente maior no grupo com anti-HBc total isolado ( $4,2 \pm 0,4$  vs.  $3,9 \pm 0,4$  g/dL;  $P = 0,044$ ). Estes achados são similares aos descritos por Wedemeyer e cols. ao compararem 881 pacientes com anti-HCV, anti-HBc total e anti-HBs positivos com 245 indivíduos com anti-HCV e anti-HBc total positivos com anti-HBs negativo. Esses autores não encontraram diferenças significantes em termos de distribuição de genótipos do HCV, carga viral do HCV, idade, gênero, aminotransferases, nível de bilirrubinas, grau de atividade histológica e escore de fibrose hepática (Wedemeyer et al, 2004).

Na presente casuística, embora não tenha havido diferença estatística, o tempo de infecção pelo HCV dos pacientes com anti-HBc isolado foi superior ao dos indivíduos com reatividade para o anti-HBc total e anti-HBs ( $26,3 \pm 6,9$  vs.  $21,1 \pm 6,6$  anos;  $P = 0,051$ ). Deste modo, é possível que o tempo decorrido desde a exposição ao HBV no grupo com anti-HBc isolado possa ter sido maior do que no grupo com anti-HBc total e anti-HBs positivos, corroborando a hipótese de que aqueles indivíduos teriam evoluído com redução progressiva dos níveis de anti-HBs ao longo do tempo.

Deste modo, os 80 portadores crônicos do HCV (72% da amostra) que não exibiam evidências sorológicas de contato prévio com o HBV foram comparados aos 31 pacientes (28% da amostra) que apresentavam anti-HBc total positivo, com anti-HBs positivo ou negativo. Estes grupos foram comparáveis em relação à idade à época da infecção pelo HCV e ao tempo estimado de infecção pelo HCV e não apresentaram distribuições significativamente diferentes quanto ao gênero, raça, descompensação hepática prévia e modo provável de aquisição do HCV.

Analisando uma coorte de 2.014 japoneses infectados pelo HCV, Marusawa e cols. observaram anti-HBc total positivo em 50% dos casos, sendo que a prevalência do marcador não foi influenciada pelo gênero, uso prévio de drogas intravenosas ou história transfusional (Marusawa et al, 1999). Resultados semelhantes foram obtidos por Giannini e cols., cujo estudo detectou padrões similares de gênero, idade, duração da infecção pelo HCV e modo de aquisição do HCV em pacientes sem marcadores sorológicos do HBV, com anti-HBc isolado e com anti-HBc total e anti-HBs positivos (Giannini et al, 2003).

Os achados obtidos pelo presente estudo estão também em concordância com os trabalhos de Myers, Thibault e Poynard e de Hasegawa e cols., no qual o *status* do anti-HBc total não diferiu quanto ao gênero, duração da infecção pelo HCV ou modo de contaminação pelo HCV (Myers, Thibault & Poynard, 2003; Hasegawa et al, 2005). Todavia, no estudo francês, a mediana da idade dos indivíduos com anti-HBc total negativo foi significativamente maior do que a dos pacientes com anti-HBc total positivo (30 anos vs. 26 anos;  $P = 0,03$ ).

Embora não tenha encontrado diferença de gênero entre pacientes anti-HBc-positivo e negativo, De Maria e cols., ao contrário do que foi observado nesta série, notaram maior prevalência de drogadição entre indivíduos com anti-HBc positivo, ao avaliarem 285 portadores crônicos do HCV (44 vs. 26%) (De Maria et al, 2000). É também importante destacar as altas prevalências de positividade para o anti-HBc total entre drogaditos portadores de HCV nos estudos de Hope e cols. e Torbenson e cols. (40% e 96%, respectivamente) (Hope et al, 2001; Torbenson et al, 2004).

Amostras com idades diferentes e a não inclusão de variáveis epidemiológicas relacionadas a um maior risco de exposição ao HBV, tais como atividade profissional, comportamento sexual, tatuagens e outras, pode, pelo menos em parte, responder pelas discrepâncias entre os estudos com relação à associação entre uso de drogas intravenosas e a prevalência de anti-HBc positivo.

Pacientes com anti-HBc total positivo apresentaram níveis significativamente mais elevados de AST e GGT e níveis inferiores de atividade de protrombina e albumina em relação aos indivíduos com anti-HBc negativo. Foi observada uma tendência de maior atividade da ALT entre os indivíduos anti-HBc-positivo (mediana de 2,3 xLSN vs. 1,8 xLSN;  $P = 0,052$ ). De Maria e cols. observaram níveis similares de ALT entre pacientes anti-HBc-positivo e –negativo. Entretanto, neste estudo, etilistas não foram excluídos e a magnitude da ingestão etílica não foi informada, o que pode ter influenciado a avaliação da atividade da ALT (De Maria et al, 2000). Da mesma forma, Giannini e cols. e Pereira e cols. não encontraram variações significativas nas atividades de ALT, AST e GGT em função dos marcadores de contato prévio com o HBV (Pereira et al, 2002; Giannini et al, 2003). No estudo de Giannini e cols., a divisão da amostra em 3 grupos – anti-HBc isolado, anti-HBc e anti-HBs positivos e anti-HBc e anti-HBs negativos, pode ter dificultado a identificação de diferenças estatísticas entre as atividades enzimáticas dos pacientes com e sem contato prévio com o HBV. Já no estudo de Pereira e cols., a análise de amostra reduzida ( $n = 29$ ) e a possível não-exclusão de variáveis de confusão, como por exemplo ingestão etílica, podem ter gerado um erro do tipo II.

Embora apresentem correlação apenas razoável com o grau de atividade histológica e a extensão da fibrose hepática, as atividades enzimáticas das aminotransferases são rotineiramente utilizadas no acompanhamento de portadores crônicos do HCV como marcadores de lesão histológica em curso (Fontana & Lok, 2002). Da mesma forma, os níveis séricos da gama-glutamilttransferase têm sido associados à presença de fibrose hepática avançada e atividade necroinflamatória significativa (Hwang et al, 2000; Silva et al, 2004). Conforme será discutido posteriormente, os pacientes com anti-HBc positivo apresentaram lesões histológicas mais graves e, portanto, a maior atividade daquelas enzimas pode ter refletido os achados observados neste grupo.

Nesta amostra, a positividade do anti-HBc total não influenciou a distribuição dos genótipos do HCV, tal como anteriormente observado por outros autores (De Maria et al, 2000; Giannini et al, 2003; Imazeki et al, 2003; Myers, Thibault & Poynard, 2003; Hasegawa et al, 2005).

A propósito da análise histológica, os grupos com anti-HBc positivo e anti-HBc negativo mostraram freqüências similares de agregados linfóides e de lesões de ductos biliares. No entanto, esteatose hepática foi mais freqüente no grupo com anti-HBc positivo (87% vs. 66%;  $P = 0,028$ ). Três hipóteses poderiam explicar estes achados: a

esteatose hepática seria mais encontrada na infecção oculta pelo HBV; variáveis de confusão relacionadas ao desenvolvimento de esteatose hepática poderiam estar envolvidas; e a esteatose hepática estaria associada à presença de lesões histológicas avançadas.

Não há estudos sobre a influência da infecção oculta pelo HBV na prevalência de marcadores histológicos sugestivos de infecção pelo HCV. Ao contrário do que ocorre com esse vírus, não foram descritos, até o momento, mecanismos fisiopatogênicos da esteatose hepática nos quais o HBV poderia estar eventualmente implicado. Logo, é improvável que a infecção oculta pelo HBV seja responsável pela maior prevalência de esteatose hepática nos pacientes com anti-HBc positivo desta amostra.

Diversos autores descreveram o genótipo 3a do HCV como fator independentemente associado à presença de esteatose hepática (Mihm et al, 1997; Adinolfi et al, 2000; Rubbia-Brandt et al, 2000; Hui et al, 2002; Asselah et al, 2003). Neste estudo, todavia, a maior prevalência de esteatose hepática nos pacientes com anti-HBc total positivo não pode ser explicada por fatores virológicos, já que a proporção de portadores de genótipo 3 do HCV foi similar entre os casos anti-HBc-positivo e anti-HBc-negativo (26% e 23%, respectivamente, com  $P = 0,762$ ). Por outro lado, importantes fatores do hospedeiro associados à esteatose não foram avaliados, tais como índice de massa corporal, hiperlipidemias e resistência insulínica. Portanto, é possível que distribuições diferentes destas variáveis entre pacientes anti-HBc-positivo e negativo possam ter interferido na frequência do achado de esteatose hepática.

Estudos recentes têm descrito associação entre esteatose hepática e atividade histológica moderada ou acentuada (Hézode et al, 2001; Asselah et al, 2003) e entre esteatose e fibrose hepática avançada (Adinolfi et al, 2001; Hézode et al, 2001; Hwang et al, 2001; Monto et al, 2002). Estas observações dão suporte à maior prevalência de esteatose hepática observada nos pacientes com anti-HBc positivo, grupo que apresentou lesões histológicas mais graves.

De fato, quando comparados àqueles com anti-HBc negativo, os pacientes com anti-HBc total positivo exibiram atividade histológica mais intensa (medianas de 1,0 vs. 2,0;  $P < 0,001$ ). Isto se refletiu na análise estatística categorizada, na qual foi verificado que 77% dos indivíduos com anti-HBc positivo apresentaram atividade necroinflamatória moderada ou acentuada (A2 ou A3), característica presente em apenas 40% do grupo com anti-HBc negativo ( $P < 0,001$ ). A robustez destes achados

foi posteriormente reforçada pela análise dos fatores associados à atividade histológica significativa, que será discutida em seguida.

Comparativamente, os fatores relacionados à extensão e progressão da fibrose hepática têm sido mais freqüentemente estudados do que as condições associadas à intensidade da atividade histológica em portadores de hepatite C crônica. Isto provavelmente reflete o enfoque atual adotado pela comunidade científica que trata a hepatite C crônica como uma doença fundamentalmente fibrogênica. Entretanto, estudos longitudinais recentes com biópsias hepáticas pareadas têm ressaltado a importância da atividade necroinflamatória na progressão da doença hepática associada ao HCV (Fontaine et al, 2001; Lagging et al, 2002; Ghany et al, 2003). Considerou-se necessária, então, a identificação de variáveis que pudessem prever o achado de atividade significativa à avaliação histológica.

Neste estudo, diferenças de gênero e de raça não foram associadas ao grau de atividade histológica, tal como descrito anteriormente por outros autores (Delladetsima et al, 1996; Shev et al, 1997; Yeo et al, 2001). Já a ausência de relação entre a atividade histológica e o modo de aquisição do HCV coincide com os resultados de alguns estudos (Delladetsima et al, 1996; Shev et al, 1997) e destoa com os de outros (Gordon et al, 1993).

A atividade histológica não variou em função da idade na época da contaminação pelo HCV e do tempo estimado de infecção. Este achado sustenta a hipótese de que as alterações necroinflamatórias na hepatite C crônica não possuem evolução linear ou efeito cumulativo, mas constituem um processo dinâmico, cuja intensidade flutua ao longo do tempo. Este comportamento errático da atividade histológica já foi confirmado por estudos longitudinais com biópsias pareadas (Fontaine et al, 2001, Lagging et al, 2002; Ryder et al, 2004).

Com relação aos fatores virológicos, foi observado que o genótipo do HCV não influenciou a intensidade da atividade necroinflamatória nesta amostra.

Yeo e cols. avaliaram 60 portadores crônicos do HCV e examinaram, separadamente, fatores relacionados à atividade histológica e ao escore de fibrose hepática. Em concordância com os resultados do presente estudo, esses autores observaram que genótipo e carga viral do HCV não foram associados à presença de atividade moderada ou acentuada (Yeo et al, 2001). Do mesmo modo, outros autores verificaram que estas variáveis não parecem exercer papel relevante na magnitude das alterações necroinflamatórias na hepatite C crônica (Zeuzem et al, 1996; Mihm et al,

1997). Estes achados sugerem que as lesões hepáticas induzidas pelo HCV não são primariamente geradas por efeito citopático direto. Por outro lado, existem evidências de que mecanismos de citotoxicidade imunomediada e de estimulação de vias apoptóticas estariam intimamente envolvidos na fisiopatogenia do dano associado à infecção crônica pelo HCV (Hayashi & Mita, 1999; Rehmann, 1999).

A análise multivariada por regressão logística demonstrou que, nesta amostra de portadores crônicos do HCV, níveis de GGT superiores a 1,5 xLSN (OR = 7,582; P < 0,001), atividade da ALT superior a 2 xLSN (OR = 4,460; P = 0,002) e a presença de anti-HBc total positivo (OR = 4,009; P = 0,019) foram os únicos fatores que se mostraram independentemente associados à atividade necroinflamatória significativa. Este modelo foi capaz de explicar 46% da variabilidade da atividade histológica na amostra estudada.

Do ponto de vista clínico, a atividade aumentada da ALT habitualmente traduz necrose hepatocelular, sugerindo a existência de doença hepática em curso. Portanto, a elevação dos níveis séricos da ALT constitui o parâmetro laboratorial mais comumente utilizado para o diagnóstico e acompanhamento das diversas doenças hepáticas. Entretanto, notadamente na hepatite C crônica, a ALT pode exibir padrão evolutivo flutuante, mantendo-se em níveis normais por meses ou anos até o surgimento de elevações repentinas de amplitude variável. O significado destas exacerbações é controverso. Alguns autores não as consideram como fatores de risco para o agravamento da doença hepática (Persico et al, 2000) embora outros tenham relatado piora acentuada das lesões histológicas após o aparecimento de picos de ALT (Rumi et al, 2002).

Mesmo nos indivíduos com ALT persistentemente normal, o que ocorre em cerca de 25% dos portadores de hepatite C crônica (Marcellin, 1999), resultados conflitantes sobre a correlação entre a atividade da ALT e a gravidade dos achados histológicos têm sido relatados. Enquanto alguns autores detectaram predomínio de lesões benignas na presença de ALT normal (Brillanti et al, 1993; Mathurin et al, 1998), outros não verificaram diferenças na gravidade dos achados histológicos entre pacientes com ALT normal ou elevada (Prieto et al, 1995; Puoti et al, 1997) ou encontraram alta prevalência de lesões clinicamente significativas nesta população (Healey, Chapman & Fleming, 1995; Stanley et al, 1996).

No que diz respeito especificamente à relação entre a ALT e a atividade necroinflamatória na hepatite C crônica, vários autores já demonstraram associação

entre atividade elevada da enzima e maior intensidade da atividade necroinflamatória, muito embora sua correlação seja considerada apenas razoável (Haber et al, 1995; Healey, Chapman & Fleming, 1995; Stanley et al, 1996; Mathurin et al, 1998; Lee et al, 2001; Toyoda et al, 2004). Esta inter-relação foi reforçada por autores que propuseram pontos de corte para a atividade da ALT, a partir dos quais aumentaria a probabilidade do encontro de necrose hepatocelular acentuada à análise histológica (Haber et al, 1995; Yeo et al, 2001).

Os níveis séricos da ALT têm sido correlacionados com a atividade da GGT, de tal forma que pacientes com GGT elevada apresentam maiores níveis de ALT e vice-versa (Mathurin et al, 1998; Hwang et al, 2000; Silva et al, 2004). Por sua expressiva associação com a atividade necroinflamatória, estas enzimas foram utilizadas pelo grupo de Poynard na construção de modelo diagnóstico que combina outros quatro testes bioquímicos para a identificação de atividade histológica moderada ou acentuada, o chamado Actitest® (Imbert-Bismut et al, 2001; Poynard et al, 2003).

Outros pesquisadores confirmaram a relação entre a presença de atividade clinicamente significativa e níveis elevados de GGT, tanto na hepatite C crônica (Hwang et al, 2000; Silva et al, 2004), quanto na hepatite B crônica (Myers et al, 2003).

Além da ALT e da GGT, a positividade do anti-HBc total foi independentemente associada aos graus A2/A3 da classificação de METAVIR. Assim, nesta amostra, indivíduos com atividade histológica moderada ou acentuada mostraram risco 4 vezes maior de possuírem anti-HBc total positivo.

Dois estudos avaliaram o impacto da infecção prévia pelo HBV na atividade histológica de portadores do HCV, com resultados divergentes. Reproduzindo os achados do presente estudo, Giannini e cols. avaliaram 119 portadores de hepatite C e observaram atividade necroinflamatória mais intensa nos 48 indivíduos com evidências sorológicas de contato anterior com o HBV, conforme análise dos componentes inflamatórios da classificação de Knodell ( $6,4 \pm 2,7$  vs.  $4,6 \pm 3,0$ ;  $P = 0,004$ ) (Giannini et al, 2003). Em contrapartida, na série de Myers, Thibault e Poynard, embora uma maior proporção de pacientes com anti-HBc positivo tenha exibido graus A2 ou A3 de METAVIR (45% vs. 36% dos indivíduos com anti-HBc negativo), esta diferença não foi significativa ( $P = 0,287$ ) (Myers, Thibault & Poynard, 2003).

Diferenças amostrais em relação a outras variáveis envolvidas na intensidade da atividade histológica podem ser responsáveis pelos resultados conflitantes obtidos por estes estudos. Na casuística de Giannini e cols., por exemplo, os níveis de ALT e GGT



foram semelhantes entre os grupos, enquanto que as atividades destas enzimas não foram informadas no estudo de Myers, Thibault e Poynard. Além disso, Giannini e cols. excluíram pacientes com ingestão abusiva de etanol. Myers, Thibault e Poynard não só não excluíram etilistas, como também não informaram a quantidade de etanol ingerida por estes.

Modelos animais e estudos em humanos já demonstraram a capacidade do HBV de persistir por décadas após a resolução clínica de infecções agudas documentadas (Michalak et al, 1994; Yotsuyanagi et al, 1998; Michalak et al, 1999; Bläckberg & Kidd-Ljunggren, 2000; Yuki et al, 2003) ou após a perda do HBsAg no curso de infecções crônicas (Kuhns et al, 1992; Fong et al, 1993; Loriot et al, 1997; Huo et al, 1998; Komori et al, 2001). Algumas destas pesquisas identificaram genomas em HBV-cccDNA de fita dupla e transcritos dos genes C e X do HBV, formas moleculares que sugerem transcrição em atividade (Marusawa et al, 2000; Yuki et al, 2003). Estes intermediários replicativos foram também descritos em portadores crônicos do HCV, com hepatite crônica ou CHC (Koike et al, 1998; Pollicino et al, 2004).

Embora haja evidências consistentes da continuidade da atividade replicativa do HBV após o clareamento do HBsAg, restaria a dúvida sobre o potencial fisiopatogênico de níveis tão reduzidos de HBV-DNA. Neste sentido, foi demonstrado que a positividade do HBV-DNA em amostras séricas ou em fragmentos de tecido hepático de indivíduos HBsAg-negativos e marmotas WHsAg-negativas freqüentemente se associa ao achado de infiltrado inflamatório linfomononuclear e alterações hepatocitárias degenerativas (Michalak et al, 1999; Bläckberg & Kidd-Ljunggren, 2000; Michalak, 2000; Chemin et al, 2001; Yuki et al, 2003).

É sabido que a injúria hepática causada pelo HBV é eminentemente imunomediada (Lee, 1997; Jung & Pape, 2002). Havendo replicação ativa do HBV, ainda que em níveis baixos, epitopos virais podem ser eficazmente apresentados a linfócitos CD4+ e CD8+. Torna-se plausível, então, que a ativação destas células perpetue a expressão de citocinas pró-inflamatórias e o recrutamento contínuo de linfócitos CD8+, o que acarretaria na destruição contínua de hepatócitos infectados por mecanismos citolíticos ou apoptóticos (TNF $\alpha$ , vias da perforina/granzima e/ou via ligante FAS) (Hodgson & Michalak, 2001; Rehmann, 2003). No presente estudo, é possível que a replicação baixa do HBV nos pacientes anti-HBc-positivo tenha sido responsável pela associação independente deste marcador à presença de graus

moderado ou intenso de atividade histológica, por efeito somatório às lesões degenerativas secundárias à ação direta ou imunomediada do HCV.

Neste estudo, procurou-se identificar as características virológicas e os fatores ligados ao hospedeiro possivelmente relacionados ao achado de fibrose hepática significativa.

Na análise univariada, a presença de fibrose hepática clinicamente significativa foi associada à maior idade à época da infecção pelo HCV ( $P = 0,001$ ) e à positividade do anti-HBc total ( $P = 0,009$ ). Por outro lado, fibrose significativa não foi associada ao gênero, etnia, modo de aquisição do HCV, tempo de infecção, genótipo e níveis de HCV-RNA.

O impacto do genótipo e dos níveis séricos de HCV-RNA na fibrose hepática induzida pelo HCV é ainda controverso. Alguns autores observaram lesões histológicas mais graves em pacientes com genótipo 1b (Pozzato et al, 1994; Kobayashi et al, 1996) ou com cargas virais mais altas (Kato et al, 1993; Gretch et al, 1994). No entanto, os resultados obtidos nesta amostra coincidem com os dados encontrados pela maioria dos estudos, nos quais não foi verificado efeito significativo destes fatores virológicos na gravidade da doença hepática (Yamada et al, 1994; Lau et al, 1996; Roffi et al, 1998; Fanning et al, 1999; Lee et al, 2001; Poynard et al, 2001; Yeo et al, 2001; Asselah et al, 2003).

Tal como observado por Yeo e cols. (2001), Ghany e cols. (2003) e Wright e cols. (2003a), nossos achados sugerem que a raça não parece influenciar a gravidade da fibrose hepática, embora alguns autores tenham descrito menor prevalência de cirrose hepática em afro-americanos (Fleckenstein et al, 1998; Harris et al, 2001; Wiley, Brown & Chan, 2002).

Da mesma forma, nesta série, a extensão da fibrose hepática não se correlacionou de forma independente com a forma de contaminação pelo HCV. Este fato concorda com o que foi verificado por alguns autores (Delladetsima et al, 1996; Matsumura et al, 2000; Asselah et al, 2003), ainda que outros tenham encontrado achados histológicos piores em pacientes com antecedentes transfusionais (Gordon et al, 1993; Roudot-Thoraval et al, 1997; Serra et al, 2003).

A maioria dos estudos sobre gravidade histológica na hepatite C tem relatado uma associação significativa entre gênero masculino e fibrose hepática avançada (Freeman et al, 2001; Asselah et al, 2003; Wright et al, 2003a), o que não foi corroborado nesta amostra. Porém, outros autores não verificaram fibrose mais extensa entre homens

(Delladetsima et al, 1996; Matsumura et al, 2000; Yeo et al, 2001; Ghany et al, 2003; Giannini et al, 2003; Serra et al, 2003). Além disso, o racional fisiopatogênico para esta observação permanece meramente especulativo, tendo sido sugerido que variáveis de confusão possam estar envolvidas, tais como ingestão etílica, índice de massa corporal e idade na infecção (Marcellin, Asselah & Boyer, 2002).

Ao contrário de alguns autores (Roudot-Thoraval et al, 1997; Matsumura et al, 2000; Serra et al, 2003; Wright et al, 2003a), não se detectou relação direta entre o tempo estimado de infecção e a presença de fibrose significativa. No entanto, tal associação não constitui achado unânime, já que não foi observada por outros autores em estudos recentes (Asselah et al, 2003; Ghany et al, 2003; Giannini et al, 2003).

Novamente, co-fatores podem ter colaborado para estas divergências. Deste modo, na presente casuística, 78% dos pacientes com tempo de infecção superior a 20 anos foram contaminados com o HCV com idade inferior a 30 anos, enquanto 56% dos indivíduos com duração da infecção inferior a 20 anos adquiriram o vírus após os 30 anos de idade. É possível que a aquisição precoce do HCV pelos indivíduos com maior tempo de infecção tenha minimizado o efeito do tempo sobre a extensão da fibrose hepática.

A análise multivariada, feita através da construção de modelo de regressão logística, confirmou a idade à época da infecção pelo HCV superior a 30 anos e anti-HBc total positivo como fatores independentemente associados ao achado de fibrose significativa à biópsia hepática (OR = 4,252; P = 0,002; e OR = 3,364; P = 0,017, respectivamente). Desta forma, enquanto que 64% dos pacientes anti-HBc-negativos infectados pelo HCV com menos de 30 anos de idade mostraram fibrose ausente ou discreta, 86% dos indivíduos anti-HBc-positivo que adquiriram o vírus após os 30 anos de idade apresentaram escores de fibrose F2, F3 ou F4 (P < 0,001).

Nos diversos estudos clínico-evolutivos sobre a hepatite C crônica, observa-se uma opinião quase unânime de que a idade na infecção constitui um dos mais importantes fatores relacionados à gravidade e à progressão da fibrose hepática (Poynard, Bedossa & Opolon, 1997; Wong et al, 1997; Poynard et al, 2001; Serra et al, 2003; Wright et al, 2003a). Porém, não foi ainda definido o ponto de corte específico para a idade na infecção, a partir do qual haveria maior risco de evolução para fibrose avançada.

Tong e cols. talvez tenham sido os primeiros a identificar a associação entre idade na infecção e pior evolução da doença hepática relacionada ao HCV, observando

menor tempo até o desenvolvimento de cirrose hepática e CHC nos pacientes que se infectaram após 50 anos de idade (Tong et al, 1995).

O estudo inicial de Poynard e cols. determinou que a aquisição do HCV após 40 anos de idade cursa com rápida progressão da fibrose hepática (Poynard, Bedossa & Opolon, 1997). Posteriormente, o mesmo grupo de pesquisadores verificou que os indivíduos que se contaminam com o HCV com idade superior a 30 anos possuiriam um risco 27 vezes maior de progressão para cirrose hepática 20 anos após o contágio (Poynard et al, 2001). Trinta anos foi também o ponto de corte para a idade utilizado por Asselah e cols. e Matsumura e cols. para a análise da associação entre idade na infecção e fibrose hepática (Matsumura et al, 2000; Asselah et al, 2003). Já Ortiz e cols. identificaram a idade de 25 anos como valor de maior poder discriminativo para predizer TPF acelerada (Ortiz et al, 2002).

Uma vez que o modelo de regressão logística construído com o uso de 40 anos como ponto de corte para a idade na infecção mostrou fraco desempenho na explicação da variabilidade da fibrose hepática (apenas 10%), optou-se por modificar o ponto de corte para a idade na aquisição do HCV de 40 anos para 30 anos. Com esta conduta, o novo modelo de regressão logística, contendo como variáveis o gênero, anti-HBc total e idade na infecção superior a 30 anos, pôde explicar 21% da variabilidade da fibrose hepática, um desempenho bastante superior ao do modelo anterior.

Usando o mesmo racional descrito acima, 30 anos foi o ponto de corte utilizado para a idade na infecção na construção do modelo de regressão logística que avaliou os fatores independentemente associados à TPF acelerada (superior a 0,133 unidade de fibrose/ano). Neste modelo, além da idade na infecção superior a 30 anos, a positividade do anti-HBc total mostrou-se fortemente associada à rápida progressão da fibrose hepática. Por outro lado, gênero, etnia, modo de contaminação pelo HCV, genótipo e carga viral do HCV não influenciaram significativamente a progressão da fibrose hepática nesta amostra. Estes achados concordam com a maioria dos estudos sobre os fatores determinantes da progressão da fibrose na hepatite C crônica, seja através da análise da TPF (Poynard, Bedossa & Opolon, 1997; Wali et al, 1999; Matsumura et al, 2000; Poynard et al, 2001; Ortiz et al, 2002; Wright et al, 2003a), seja por meio da detecção de piora de escores histológicos entre biópsias pareadas (Yano et al, 1996; Fontaine et al, 2001; Lagging et al, 2002; Ghany et al, 2003; Ryder et al, 2004).

Nesta amostra, não se identificou relação direta entre o gênero e a TPF, fato que contrasta com as observações de grupos franceses, ingleses e espanhóis (Poynard, Bedossa & Opolon, 1997; Poynard et al, 2001; Wright et al, 2003a). No entanto, novamente deve ser ressaltada a ausência de evidências consistentes que sustentem a hipótese de fibrogênese acelerada em pacientes do gênero masculino. Além disso, assim como observado nesta amostra, o gênero não foi associado à progressão fibrótica em casuísticas de pesquisadores americanos (Ghany et al, 2003), japoneses (Yano et al, 1996; Matsumura et al, 2000), suecos (Lagging et al, 2002), espanhóis (Ortiz et al, 2002), ingleses (Ryder et al, 2004) e franceses (Fontaine et al, 2001).

Mais uma vez, a importância da idade no momento da infecção na evolução da hepatite C crônica foi confirmada, de tal modo que os pacientes com estimativa de progressão para cirrose hepática com menos de 30 anos de infecção (TPF > 0,133 unidade de fibrose/ano) tiveram 3 vezes mais chance de terem adquirido o HCV após os 30 anos de idade.

O impacto da idade à época da aquisição do HCV na velocidade da progressão da fibrose hepática é amplamente reconhecido. Desde a criação do conceito de TPF (Poynard, Bedossa & Opolon, 1997), diversos autores têm confirmado a intensidade desta associação (Matsumura et al, 2000; Poynard et al, 2001; Ortiz et al, 2002; Wright et al, 2003a). Da mesma forma, estudos prospectivos com crianças e adolescentes infectados pelo HCV (Garcia-Monzon et al, 1998; Vogt et al, 1999; Hoshiyama et al, 2000) têm evidenciado evolução mais benigna do que o que se observa nas coortes compostas por indivíduos contaminados tardiamente (Tong et al, 1995; Matsumura et al, 2000).

O principal achado deste estudo foi a observação de que portadores crônicos do HCV com anti-HBc total positivo apresentaram fibrose mais avançada e progressão mais rápida da fibrose hepática do que os indivíduos que nunca tiveram contato com o HBV.

De fato, pacientes com anti-HBc total positivo, quando comparados àqueles com anti-HBc total negativo, exibiram maior escore de fibrose (mediana de 3,0 unidades de fibrose vs. 1,5 unidade de fibrose;  $P = 0,001$ ) e maior proporção de pacientes com fibrose clinicamente significativa (77% vs. 55%;  $P = 0,009$ ). Igualmente, comparados aos pacientes anti-HBc-negativo, os indivíduos anti-HBc-positivo apresentaram maior TPF (medianas de 0,125 vs. 0,067;  $P = 0,002$ ) e menor tempo estimado até o desenvolvimento de cirrose (32 anos vs. 60 anos).

O impacto negativo da infecção prévia pelo HBV em portadores crônicos do HCV foi ainda mais evidente nos casos em que a contaminação pelo HCV ocorreu após os 30 anos de idade. Desta forma, apenas 2/14 pacientes (14%) dos pacientes anti-HBc-positivo que se infectaram após 30 anos de idade possuíam fibrose hepática ausente ou discreta.

O efeito sinérgico destes fatores foi também evidenciado durante a análise da TPF, na qual a estimativa de surgimento de cirrose hepática foi de 80 anos para os pacientes que se infectaram com o HCV antes de 30 anos de idade e que não tiveram contato com o HBV. Todavia, a expectativa de cirrose hepática foi de apenas 26 anos para os infectados previamente pelo HBV e que adquiriram o HCV com idade superior a 30 anos.

Quanto à associação entre infecção prévia pelo HBV e fibrose hepática significativa em portadores de hepatite C crônica, a maioria dos autores identificou fibrose mais avançada em indivíduos com anti-HBc total positivo (Shev et al, 1997; Marusawa et al, 1999; De Maria et al, 2000; Sagnelli et al, 2001; Imazeki et al, 2003; Giannini et al, 2003; Sagnelli et al, 2005). Dentre esses merece destaque o estudo de Sagnelli e cols., no qual 68 pacientes HCV-RNA-positivo/anti-HBc-negativo, pareados por idade, gênero e modo provável de aquisição, foram comparados a 68 indivíduos HCV-RNA-positivo/anti-HBc-positivo. Foi observado que esses últimos apresentaram maior escore de fibrose hepática, maior prevalência de cirrose hepática e atividade necroinflamatória mais acentuada, achados que não foram influenciados pela detecção de HBV-DNA no soro (Sagnelli et al, 2005).

Por outro lado, outros estudos não observaram fibrose hepática mais avançada nos portadores de HCV com marcadores sorológicos de infecção prévia pelo HBV (Serfaty et al, 1997; Myers, Thibault & Poynard, 2003; Hasegawa et al, 2005). Entretanto, é necessário ressaltar a possibilidade da existência de variáveis de confusão nessas séries. Os dois primeiros estudos, realizados na França, não excluíram pacientes etilistas e não informaram a magnitude da ingestão alcoólica entre pacientes anti-HBc-negativo e positivo. Na casuística de Serfaty e cols., a identificação da idade à época da infecção foi possível em apenas 63% dos pacientes (que tinham antecedentes parenterais). Neste estudo, eventuais diferenças na idade na infecção entre pacientes com anti-HBc negativo e anti-HBc positivo foram ignoradas. Já na série de Myers, Thibault e Poynard, a idade na infecção foi passível de estimativa em 76% da amostra, sendo que os pacientes com anti-HBc negativo foram contaminados com

idade significativamente maior do que os indivíduos com anti-HBc positivo (medianas de 30 e 26 anos, respectivamente, com  $P = 0,03$ ), o que pode ter subestimado o impacto nocivo da presença de positividade do anti-HBc total. Por fim, no estudo de Hasegawa e cols., a idade à época da infecção não foi informada e o cálculo do tempo de infecção somente pôde ser feito em 38% de sua casuística.

Apenas dois estudos avaliaram a influência da infecção prévia pelo HBV na velocidade de progressão da fibrose hepática em portadores de hepatite crônica C. Ryder, em estudo multicêntrico inglês, avaliou prospectivamente 214 portadores de HCV, os quais não haviam recebido terapia antiviral por apresentarem achados histológicos benignos (Ryder et al, 2004). A análise comparativa de biópsias pareadas, realizadas com intervalo de 2,5 anos (mediana), foi utilizada para a identificação de fatores associados à piora do escore de fibrose, segundo a classificação de Ishak (Ishak et al, 1995). Na análise multivariada, idade no momento da primeira biópsia hepática e presença de fibrose na primeira biópsia foram identificados como fatores independentemente relacionados à progressão da fibrose hepática. Embora não tenha sido observada diferença significativa, houve predomínio expressivo de indivíduos anti-HBc-positivo no grupo que evoluiu com piora histológica, fato que os próprios autores destacam como merecedor de estudos adicionais.

Ortiz e cols. analisaram fatores potencialmente associados à uma rápida progressão da fibrose hepática em portadores de hepatite C crônica, definida arbitrariamente pelos autores como uma TPF superior a 0,200 unidade de fibrose/ano (Ortiz et al, 2002). Após a avaliação de 114 pacientes, índice de massa corporal superior a 25, idade na infecção superior a 25 anos e ALT > 1,5 xLSN foram associados de forma independente à TPF acelerada, enquanto que a positividade do anti-HBc total não influenciou a TPF.

Contudo, questões metodológicas devem ser levantadas neste estudo. Exemplo disso é o fato de que apenas 49% da amostra apresentou antecedentes parenterais consistentes, tais como transfusão de hemoderivados e uso de drogas parenterais. Isto inviabilizou a estimativa correta da idade à época da contaminação com o HCV em 51% dos casos. Os autores tentaram minimizar esta inadequação ao calcularem a TPF através da variação do escore de fibrose entre duas biópsias hepáticas para os casos esporádicos (12% da amostra). Desta forma, dois métodos distintos foram usados para o cálculo da TPF, ou seja, a partir da data provável de contaminação e pela análise de

biópsias pareadas. Como é sabido, estes métodos tendem a produzir estimativas divergentes da TPF (Poynard et al, 2000; Marcellin, Asselah & Boyer, 2002).

Por fim, o estudo de Ortiz e cols. avalia uma casuística bastante heterogênea, com um número significativo de pacientes com fatores sugestivos de comorbidades hepáticas, tais como hemocromatose hereditária e doença esteatótica não-alcóolica do fígado: 21% com IST > 45%, 37% com sobrepeso ou obesidade e 17,5% com dislipidemias (Ortiz et al, 2002). Deste modo, torna-se inviável a extrapolação de seus resultados para a população de portadores do HCV como um todo.

Conforme discutido anteriormente, existem indícios consistentes de que a atividade replicativa encontrada em portadores de infecção oculta pelo HBV freqüentemente é acompanhada de infiltrado inflamatório crônico no tecido hepático e alterações hepatocitárias degenerativas (Michalak et al, 1999; Bläckberg & Kidd-Ljunggren, 2000; Michalak, 2000; Chemin et al, 2001; Yuki et al, 2003). É sabido que eventos inflamatórios secundários à ação contínua de um agente agressor resultam em estímulo à fibrogênese, gerando liberação de citocinas fibrogênicas e ativando as células estreladas (Maher, 2001; Friedman, 2003). Assim, a persistência da replicação residual do HBV, ao manter um microambiente pró-inflamatório no parênquima hepático, poderia fomentar a fibrogênese e ocasionar aumento progressivo da extensão da fibrose hepática.

De fato, progressão para cirrose hepática e desenvolvimento de carcinoma hepatocelular já foram associados à infecção oculta pelo HBV mesmo após o clareamento do HBsAg (Fong et al, 1993; Huo et al, 1998; Ahn et al, 2005).

Evidências adicionais são fornecidas pelo estudo realizado por Chemin e cols., no qual foram analisadas amostras séricas e teciduais de 50 pacientes com hepatopatia crônica idiopática, observando-se 15 casos positivos para HBV-DNA (30% da casuística) (Chemin et al, 2001). Comparando-se os achados histológicos de pacientes HBV-DNA-positivo e negativo, fibrose avançada/cirrose hepática foi diagnosticada em 53% entre os primeiros e em apenas 16% dos últimos. Ainda mais significativa foi a detecção de piora histológica nos pacientes HBV-DNA-positivo submetidos à biópsia hepática de controle. Estes achados corroboram a hipótese de que a infecção oculta pelo HBV possa cursar com lesões histológicas de caráter progressivo.

Vale destacar também o estudo de Yuki e cols., que avaliaram prospectivamente 14 pacientes, 1,8 a 9,5 anos (mediana de 4,2 anos) após episódio documentado de hepatite B aguda (Yuki et al, 2003). Doze indivíduos desenvolveram anti-HBs positivo e



nove foram submetidos à biópsia hepática 7,2 anos (mediana) após o quadro agudo (anti-HBs positivo em 8 casos). Todos os nove pacientes possuíam genomas do HBV sob a forma de ccc-DNA nos fragmentos de tecido hepático. Na análise histológica, sete dos nove biopsiados mostravam algum grau de atividade inflamatória leve. Em oito casos, foi detectada fibrose hepática, sendo que fibrose septal foi observada em seis pacientes.

Em nenhuma das séries supracitadas, assim como no presente estudo, pode-se excluir a hipótese de que a fibrose represente meramente seqüela do clareamento viral. No caso específico desta amostra, a fibrose residual gerada durante a resolução da infecção pelo HBV estaria sendo somada à fibrose secundária à infecção crônica pelo HCV. Entretanto, neste estudo, o achado de atividade necroinflamatória mais intensa nos indivíduos anti-HBc-positivo sugere a existência de replicação ativa do HBV, ainda que em níveis indetectáveis pelo teste utilizado. Segundo esta hipótese alternativa, a atividade necroinflamatória seria gerada, mormente, por reação imunomediada à infecção conjunta pelo HBV e HCV, o que implicaria em um efeito fibrogênico sinérgico entre os dois vírus.

Sendo de caráter transversal, este estudo não permite conclusões definitivas sobre o assunto. Não obstante esta questão persistir indefinida, indivíduos que se contaminaram com o HCV após 30 anos de idade e que se apresentam com anti-HBc total positivo parecem possuir risco aumentado de exibirem lesões histológicas mais graves. Isto reforça a necessidade da realização da biópsia hepática para a avaliação adequada da atividade necroinflamatória e da extensão da fibrose nestes pacientes.

## 6 CONCLUSÕES

1. A prevalência de marcadores sorológicos de infecção prévia pelo HBV em portadores crônicos do HCV, atendidos em serviço de referência especializado em doenças hepáticas foi de 28%.

A alta prevalência de anti-HBc total positivo em portadores de HCV é superior àquela observada na população geral do município de São Paulo (4,9%) e reflete a similaridade das formas de contaminação envolvidas na aquisição dos dois vírus.

2. A prevalência da infecção oculta pelo HBV nesta amostra de portadores crônicos do HCV foi de 0%, utilizando-se kit comercial com limite inferior de detecção de 1.000 cópias/mL.

Este resultado sugere que em indivíduos com infecção crônica pelo HCV e anti-HBc total positivo, a replicação do HBV (se existente) é mínima e indetectável pelos métodos utilizados na prática diária. Testes mais sensíveis para a pesquisa do HBV-DNA devem ser empregados com o intuito de validar a sua importância.

3. Os portadores crônicos do HCV que já tiveram contato anterior com o HBV apresentaram características clínicas semelhantes e distribuição de genótipos do HCV semelhante aos indivíduos com anti-HBc total negativo. Entretanto, os pacientes anti-HBc-positivo exibiram diferenças bioquímicas e histológicas significativas:

- níveis mais baixos de albumina e de atividade de protrombina e maior atividade sérica de AST e GGT;
- maior atividade histológica e maior escore de fibrose hepática; e
- TPF mais acelerada.

Considerando-se uma progressão linear da fibrose hepática, o tempo estimado até o desenvolvimento de cirrose hepática foi de 26 anos para os indivíduos com anti-HBc total positivo e que se infectaram com o HCV com idade superior a 30 anos. Pacientes que se contaminaram antes dos 30 anos de idade e que nunca tiveram contato com o HBV somente desenvolveriam cirrose hepática após 80 anos de infecção.

Em conjunto, estes achados sugerem que a infecção prévia pelo HBV exerça um impacto negativo na doença hepática causada pelo HCV, independentemente da detecção de infecção oculta pelo HBV. Isto reforça a necessidade da pesquisa sistemática de marcadores sorológicos do HBV em todos os pacientes recém-diagnosticados como portadores do HCV e a vacinação contra hepatite B nos susceptíveis.

## 7 ANEXO

Anexo 1 – Dados referentes às variáveis analisadas nos 111 portadores crônicos do HCV.

N	ID	ET	G	E	TI	IDI	HCV	A-HBc	HBs	A-HBs	DNA	ALT	AST	GGT	AP	ALB	DES	A	F	AL	LD	E	TPF
1	38	br	M	D	23	15	-	POS	NEG	POS	268	0,80	0,70	0,40	96	4,60	N	1	0	N	N	N	0,000
2	29	br	M	T	18	11	1	NEG	NEG	NEG	39	2,20	1,20	0,50	87	3,90	N	0	2	S	N	N	0,111
3	34	br	M	T	13	21	-	NEG	NEG	NEG	39	2,70	1,00	0,50	88	4,40	N	2	2	S	S	S	0,154
4	54	ng	M	T	15	39	1	NEG	NEG	NEG	39	3,90	3,70	2,60	66	3,50	N	2	4	S	N	S	0,267
5	38	br	M	T	20	18	1	NEG	NEG	NEG	39	1,30	0,60	1,50	97	4,50	N	1	0	N	N	N	0,000
6	68	br	M	T	20	48	3	NEG	NEG	NEG	39	8,97	4,23	0,79	100	4,68	N	1	1	S	N	S	0,050
7	53	ng	F	T	20	33	1	NEG	NEG	NEG	39	2,00	1,80	4,80	71	4,00	N	2	2	N	N	S	0,100
8	50	br	F	T	32	18	1	POS	NEG	NEG	140	6,50	3,20	1,60	88	3,80	N	2	4	S	N	S	0,125
9	53	ng	M	D	30	23	3	NEG	NEG	NEG	40	1,40	1,00	0,50	86	4,20	N	1	0	N	N	S	0,000
10	17	ng	M	T	13	4	3	NEG	NEG	NEG	39	0,50	0,60	1,10	89	4,60	N	0	1	S	N	N	0,077
11	30	ng	M	T	18	12	1	NEG	NEG	NEG	120	2,50	1,60	1,10	96	4,50	N	2	2	S	N	S	0,111
12	49	ng	M	T	16	33	1	POS	NEG	POS	80	2,50	2,80	2,80	100	3,90	N	3	2	S	N	S	0,125
13	67	br	M	T	31	36	-	NEG	NEG	NEG	39	1,70	1,90	0,50	88	4,60	N	1	2	S	N	N	0,065
14	53	ng	M	T	20	33	1	NEG	NEG	NEG	320	1,00	0,90	0,60	84	4,60	N	0	1	S	N	N	0,050
15	56	br	F	T	20	36	1	NEG	NEG	NEG	39	1,70	1,70	1,20	73	4,60	N	1	3	S	N	S	0,150
16	52	br	F	T	20	32	-	POS	NEG	NEG	480	2,00	1,60	1,90	75	4,10	N	3	4	S	N	S	0,200
17	22	br	M	T	22	0	1	NEG	NEG	NEG	39	1,40	1,00	0,30	100	4,60	N	0	0	N	N	N	0,000
18	35	br	M	T	19	16	1	NEG	NEG	NEG	39	1,00	0,90	0,60	100	3,20	N	0	0	N	N	N	0,000
19	29	ng	F	T	13	16	1	NEG	NEG	NEG	80	1,00	0,90	0,90	100	5,20	N	0	0	S	N	S	0,000
20	48	br	F	T	23	25	-	NEG	NEG	NEG	39	1,79	1,57	2,05	100	3,95	N	2	1	S	S	S	0,043
21	54	br	M	D	35	19	1	NEG	NEG	NEG	39	1,38	1,13	6,40	100	3,50	N	1	2	S	N	S	0,057
22	43	am	F	T	26	17	1	POS	NEG	NEG	39	3,10	1,60	1,10	100	4,40	N	1	0	N	N	S	0,000
23	33	br	F	T	32	1	1	NEG	NEG	NEG	39	1,10	1,10	0,50	100	4,60	N	0	0	N	N	S	0,000
24	45	br	M	D	25	20	-	NEG	NEG	NEG	39	1,00	0,70	0,70	95	4,50	N	2	1	N	N	S	0,040
25	41	br	M	D	20	21	-	NEG	NEG	NEG	39	1,60	3,70	0,80	61	3,30	N	1	4	N	N	S	0,200
26	44	br	F	T	20	24	2	NEG	NEG	NEG	39	1,40	0,80	0,70	100	4,20	N	1	1	N	N	S	0,050
27	49	ng	F	T	23	26	-	NEG	NEG	NEG	39	6,10	3,10	10,00	100	3,90	N	0	0	N	N	S	0,000
28	46	br	M	T	21	25	-	POS	NEG	POS	40	5,51	4,36	3,40	67	3,20	N	3	3	N	N	S	0,143
29	48	br	M	D	30	18	1	NEG	NEG	NEG	39	3,30	1,20	1,60	85	4,50	N	3	2	S	N	S	0,067
30	50	br	F	T	18	32	-	NEG	NEG	NEG	260	1,80	2,10	2,30	84	3,30	N	2	4	N	N	N	0,222
31	40	br	F	T	21	19	1	NEG	NEG	NEG	320	3,40	2,00	1,70	71	4,00	N	2	2	N	N	N	0,095
32	50	br	F	T	17	33	3	NEG	NEG	NEG	39	2,50	1,50	1,30	100	4,80	N	2	2	N	N	N	0,118
33	55	br	F	T	18	37	1	POS	NEG	POS	196	2,80	2,30	6,30	88	3,50	N	3	3	S	N	S	0,167
34	42	br	M	T	34	8	1	POS	NEG	NEG	39	2,10	2,10	7,60	92	4,90	N	1	1	S	S	S	0,029
35	44	br	F	T	23	21	1	POS	NEG	POS	39	15,1	16,0	2,30	64	3,50	N	3	4	S	N	N	0,174
36	34	br	F	D	15	19	1	POS	NEG	POS	39	1,20	0,80	0,30	100	4,00	N	0	0	N	N	N	0,000
37	34	ng	M	D	10	24	3	NEG	NEG	POS	39	1,90	1,00	0,70	93	4,40	N	1	2	N	N	N	0,200
38	44	br	F	T	10	34	1	NEG	NEG	POS	39	1,90	1,00	1,00	97	4,20	N	1	0	N	N	N	0,000
39	58	br	F	T	25	33	1	NEG	NEG	NEG	39	4,70	3,70	2,20	100	3,50	N	2	3	S	N	S	0,120
40	67	br	F	T	25	42	-	POS	NEG	NEG	800	2,10	1,40	1,20	85	4,20	N	1	1	S	N	S	0,040
41	47	br	M	D	25	22	-	POS	NEG	POS	39	1,50	1,80	1,00	82	3,30	N	2	4	N	N	S	0,160
42	54	br	F	T	20	34	1	NEG	NEG	NEG	39	4,10	3,50	0,80	92	4,40	N	1	2	S	N	N	0,100

N=n.º do paciente; ID=idade na biópsia; ET=etnia; br=branca; ng= negra; am=amarela; G=gênero; F=feminino; M=masculino; E=epidemiologia; T=transusão; D=uso de drogas; HCV=genótipo do HCV; CVHCV=carga viral do HCV; A-HBc=anti-HBc total; NEG=negativo; POS=positivo; HBs=HBsAg; A-HBs=anti-HBs; DNA=HBV-DNA sérico; ALT=alanina aminotransferase; AST=aspartato aminotransferase; GGT=gama-glutamilttransferase; AP=atividade de protrombina; ALB=albumina; DES=descompensação hepática; N=não; S=sim; A=atividade histológica; F=fibrose hepática; AL=agregados linfóides; LD=lesão de ductos; ES=esteatose hepática; TPF=taxa de progressão de fibrose hepática.

N	ID	ET	G	E	TI	IDI	HCV	A-HBc	HBs	A-HBs	DNA	ALT	AST	GGT	AP	ALB	DES	A	F	AL	LD	E	TPF
43	58	br	F	T	20	38	1	NEG	NEG	NEG	39	1,41	2,21	0,35	84	4,40	N	2	2	S	N	N	0,100
44	70	br	F	T	15	55	2	POS	NEG	POS	360	1,90	1,80	1,60	92	3,70	N	2	2	S	S	S	0,133
45	24	br	F	T	24	0	-	NEG	NEG	NEG	39	1,30	1,00	1,10	95	999,0	N	0	0	N	N	S	0,000
46	34	br	F	D	15	19	-	NEG	NEG	NEG	39	3,20	1,90	0,80	80	4,20	N	2	1	S	N	S	0,067
47	23	br	F	T	23	0	-	NEG	NEG	NEG	169	0,70	0,80	0,60	98	4,00	N	1	0	N	N	S	0,000
48	38	ng	M	T	35	3	1	NEG	NEG	NEG	39	4,30	2,40	1,70	100	4,20	N	1	0	S	N	S	0,000
49	68	br	M	T	20	48	-	NEG	NEG	NEG	39	2,40	3,40	2,30	65	4,80	N	2	4	S	N	S	0,200
50	47	br	M	T	27	20	1	NEG	NEG	NEG	39	1,23	1,14	1,90	100	4,50	N	2	2	S	S	S	0,074
51	38	br	M	T	37	1	-	NEG	NEG	NEG	39	1,20	0,80	1,80	83	3,60	N	1	3	N	N	S	0,081
52	38	br	M	D	10	28	1	NEG	NEG	NEG	40	3,00	1,60	1,30	99	4,30	N	1	1	N	N	S	0,100
53	43	br	M	T	19	24	1	NEG	NEG	NEG	40	1,70	1,40	1,00	89	4,20	N	1	1	S	N	N	0,053
54	49	ng	M	T	25	24	1	NEG	NEG	NEG	39	1,20	1,00	2,20	88	4,20	N	1	1	S	S	N	0,040
55	43	br	M	T	22	21	3	NEG	NEG	NEG	39	1,10	0,80	1,80	70	4,80	N	1	1	N	N	S	0,045
56	51	br	M	T	23	28	3	POS	NEG	POS	39	3,50	2,70	5,90	100	3,80	N	2	3	N	N	S	0,130
57	52	br	M	D	32	20	-	POS	NEG	NEG	40	5,60	3,80	8,70	79	4,20	N	2	4	S	S	S	0,125
58	49	ng	F	T	20	29	-	NEG	NEG	NEG	320	0,60	0,80	4,10	100	4,50	N	2	1	N	N	S	0,050
59	66	br	M	T	22	44	1	NEG	NEG	NEG	280	1,00	1,30	2,60	88	4,20	N	1	2	N	S	S	0,091
60	58	br	F	T	10	48	-	POS	NEG	POS	39	2,60	3,70	1,90	85	3,70	N	2	3	S	N	S	0,300
61	61	br	F	T	26	35	1	NEG	NEG	NEG	39	1,30	1,00	1,20	65	4,70	N	1	2	S	N	S	0,077
62	46	br	F	T	30	16	1	NEG	NEG	NEG	39	3,40	2,30	1,10	74	4,30	N	1	3	S	N	S	0,100
63	50	br	F	T	24	26	1	POS	NEG	POS	39	1,30	1,00	5,40	82	4,70	N	2	4	S	N	S	0,167
64	25	br	M	T	25	0	-	NEG	NEG	NEG	39	0,90	1,10	0,80	99	4,70	N	0	0	S	N	S	0,000
65	57	br	M	D	36	21	-	POS	NEG	POS	64	2,30	3,80	0,70	49	4,20	S	3	4	N	N	S	0,111
66	59	br	F	T	21	38	1	POS	NEG	NEG	39	2,60	1,70	1,70	85	3,70	N	3	4	S	N	S	0,190
67	46	br	M	D	28	18	3	NEG	NEG	POS	72	1,40	1,20	4,90	100	4,20	N	1	1	N	N	S	0,036
68	42	br	F	T	17	25	-	NEG	NEG	NEG	39	6,60	4,70	1,70	68	3,90	N	3	4	S	N	S	0,235
69	35	br	M	D	24	11	1	NEG	NEG	POS	560	1,60	0,80	1,30	100	4,80	N	1	0	N	N	S	0,000
70	29	br	M	T	28	1	1	NEG	NEG	NEG	39	13,8	5,80	3,00	84	4,50	N	2	2	S	S	S	0,071
71	50	br	F	T	25	25	1	NEG	NEG	NEG	39	4,00	4,60	1,60	93	4,40	N	2	4	N	N	S	0,160
72	53	br	M	T	33	20	1	POS	NEG	POS	72	4,50	4,30	6,20	82	3,60	S	2	4	S	N	S	0,121
73	47	br	M	T	15	32	1	NEG	NEG	NEG	80	3,70	3,90	1,70	83	4,50	N	2	4	S	N	S	0,267
74	49	br	F	T	24	25	1	NEG	NEG	NEG	39	5,06	6,90	1,28	80	3,60	N	3	4	S	N	N	0,167
75	44	br	F	T	19	25	1	NEG	NEG	POS	39	3,10	1,90	1,50	100	4,30	N	1	1	S	N	S	0,053
76	48	br	F	T	25	23	3	POS	NEG	POS	72	1,50	2,00	0,80	85	4,10	N	2	3	S	N	S	0,120
77	56	br	F	T	16	40	1	POS	NEG	POS	64	3,50	3,20	2,30	76	4,10	N	2	2	N	N	S	0,125
78	64	br	F	T	25	39	-	NEG	NEG	NEG	39	1,80	1,60	0,40	100	4,30	N	0	0	S	N	S	0,000
79	60	ng	F	T	13	47	1	POS	NEG	NEG	39	1,70	1,70	7,80	81	4,30	N	2	3	S	N	S	0,231
80	54	br	F	T	27	27	1	NEG	NEG	NEG	39	1,90	1,40	2,80	77	4,50	N	2	4	N	N	S	0,148
81	57	br	F	T	20	37	1	NEG	NEG	NEG	39	4,40	3,50	5,30	77	4,30	N	2	3	S	N	S	0,150
82	60	br	F	T	24	36	-	POS	NEG	POS	40	8,00	10,1	3,80	82	3,90	N	2	2	N	N	S	0,083
83	54	br	F	T	12	42	1	NEG	NEG	NEG	39	1,30	1,30	0,90	100	4,60	N	1	2	S	S	S	0,167
84	59	br	F	T	24	35	1	NEG	NEG	POS	76	2,40	0,90	3,20	94	3,70	N	2	2	N	N	N	0,083
85	62	br	F	T	20	42	-	POS	NEG	POS	160	2,10	2,60	2,10	77	3,90	N	2	3	N	N	S	0,150
86	65	br	M	T	26	39	1	POS	NEG	NEG	39	2,50	1,50	2,20	100	3,80	N	3	4	N	N	S	0,154
87	54	ng	F	T	17	37	1	NEG	NEG	NEG	39	8,10	8,30	12,30	91	3,60	N	3	4	S	N	S	0,235
88	64	br	F	T	18	46	-	NEG	NEG	NEG	39	1,60	1,30	1,00	76	4,60	N	1	1	S	N	N	0,056
89	36	ng	M	D	12	24	-	NEG	NEG	NEG	39	2,00	1,00	1,60	91	4,30	N	1	0	S	N	S	0,000
90	45	br	F	T	30	15	1	NEG	NEG	POS	39	1,00	1,10	1,30	100	4,60	N	1	1	S	S	N	0,033
91	49	br	F	T	21	28	3	NEG	NEG	NEG	960	6,20	5,00	0,80	86	3,80	N	1	1	S	S	S	0,048
92	48	ng	M	T	14	34	-	NEG	NEG	NEG	39	3,99	2,41	3,17	67	4,50	N	3	3	N	N	S	0,214
93	51	br	F	T	22	29	1	NEG	NEG	NEG	39	0,70	0,60	0,40	68	4,40	N	0	0	N	N	N	0,000

N=n.º do paciente; ID=idade na biópsia; ET=etnia; br=branca; ng= negra; am=amarela; G=gênero; F=feminino; M=masculino; E=epidemiologia; T=transfusão; D=uso de drogas; HCV=genótipo do HCV; CVHCV=carga viral do HCV; A-HBc=anti-HBc total; NEG=negativo; POS=positivo; HBs=HBsAg; A-HBs=anti-HBs; DNA=HBV-DNA sérico; ALT=alanina aminotransferase; AST=aspartato aminotransferase; GGT=gama-glutamiltransferase; AP=atividade de protrombina; ALB=albumina; DES=descompensação hepática; N=não; S=sim; A=atividade histológica; F=fibrose hepática; AL=agregados linfóides; LD=lesão de ductos; ES=esteatose hepática; TPF=taxa de progressão de fibrose hepática.

N	ID	ET	G	E	TI	IDI	HCV	A-HBc	HBs	A-HBs	DNA	ALT	AST	GGT	AP	ALB	DES	A	F	AL	LD	E	TPF
94	44	br	M	T	15	29	3	NEG	NEG	NEG	120	2,60	1,50	0,90	98	4,20	N	1	1	N	N	N	0,067
95	50	ng	M	T	11	39	-	POS	NEG	POS	720	1,20	0,80	0,70	97	4,10	N	0	1	N	N	N	0,091
96	47	br	M	D	33	14	1	NEG	NEG	NEG	120	1,60	1,10	2,70	98	5,00	N	1	2	S	S	S	0,061
97	41	br	M	D	27	14	-	POS	NEG	POS	80	2,10	1,50	2,20	96	3,90	N	1	0	S	N	S	0,000
98	53	br	M	D	34	19	3	POS	NEG	NEG	192	2,90	1,80	0,70	75	4,20	N	3	4	S	N	S	0,118
99	38	br	M	D	20	18	3	NEG	NEG	NEG	39	5,40	3,60	1,00	98	4,30	N	2	1	S	N	S	0,050
100	39	br	F	T	22	17	-	NEG	NEG	NEG	39	0,50	0,80	0,40	85	4,10	N	0	1	S	N	N	0,045
101	69	am	F	T	35	34	1	NEG	NEG	NEG	39	1,30	1,60	2,27	100	4,45	N	2	3	N	N	N	0,086
102	58	br	F	T	23	35	-	POS	NEG	POS	139	2,00	2,00	1,30	66	3,70	N	3	4	S	N	S	0,174
103	43	br	M	T	22	21	3	NEG	NEG	NEG	39	2,30	1,10	0,40	100	4,40	N	2	1	S	N	S	0,045
104	53	am	F	T	17	36	1	NEG	NEG	NEG	39	0,90	0,80	0,50	100	3,90	N	1	2	N	N	N	0,118
105	53	ng	F	T	9	44	-	NEG	NEG	NEG	39	2,60	1,40	1,50	73	3,70	N	1	1	S	N	S	0,111
106	61	br	F	T	29	32	3	NEG	NEG	NEG	39	2,54	1,47	1,11	100	4,07	N	2	2	S	N	S	0,069
107	46	br	F	T	20	26	1	NEG	NEG	POS	39	1,70	1,30	3,20	100	4,50	N	2	2	S	N	S	0,100
108	21	br	F	T	21	0	1	NEG	NEG	NEG	39	1,39	1,12	2,50	98	5,12	N	1	1	S	N	S	0,048
109	21	br	F	T	15	6	3	POS	NEG	POS	200	1,70	1,40	6,70	91	3,80	N	2	2	S	N	S	0,133
110	42	ng	F	T	18	24	1	NEG	NEG	NEG	39	3,18	1,34	1,09	94	999,0	N	0	2	S	N	N	0,111
111	47	br	M	T	15	32	3	NEG	NEG	NEG	72	1,10	0,80	0,50	94	4,30	N	2	1	S	N	N	0,067

N=n.º do paciente; ID=idade na biópsia; ET=etnia; br=branca; ng= negra; am=amarela; G=gênero; F=feminino; M=masculino; E=epidemiologia; T=transusão; D=uso de drogas; HCV=genótipo do HCV; CVHCV=carga viral do HCV; A-HBc=anti-HBc total; NEG=negativo; POS=positivo; HBs=HBsAg; A-HBs=anti-HBs; DNA=HBV-DNA sérico; ALT=alanina aminotransferase; AST=aspartato aminotransferase; GGT=gama-glutamilttransferase; AP=atividade de protrombina; ALB=albumina; DES=descompensação hepática; N=não; S=sim; A=atividade histológica; F=fibrose hepática; AL=agregados linfóides; LD=lesão de ductos; ES=esteatose hepática; TPF=taxa de progressão de fibrose hepática.

**8 REFERÊNCIAS**

1. Aach RD, Stevens CE, Hollinger FB, et al. Hepatitis C virus infection in post-transfusion hepatitis. An analysis with first- and second-generation assays. *N Engl J Med* 1991;325:1325-1329.
2. Adachi H, Kaneko S, Matsushita E, et al. Clearance of HBsAg in seven patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 1992;16:1334-1337.
3. Adinolfi LE, Gambardella M, Andreana A, et al. Steatosis accelerates the progression of liver damage of chronic hepatitis C patients and correlates with specific HCV genotype and visceral obesity. *Hepatology* 2001;33:1358-1364.
4. Adinolfi LE, Utili R, Andreana A, et al. Relationship between HCV genotypes of hepatitis C virus and histopathological manifestations in chronic hepatitis C patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000;12:299-304.
5. Agnello V, De Rosa FG. Extrahepatic disease manifestations of HCV infection: some current issues. *J Hepatol* 2004;40:341-352.
6. Ahn SH, Park YN, Park JY, et al. Long-term clinical and histological outcomes in patients with spontaneous hepatitis B surface antigen seroclearance. *J Hepatol* 2005;42:188-194.
7. Alberti A, Pontisso P, Chemello L, et al. The interaction between hepatitis B virus and hepatitis C virus in acute and chronic liver disease. *J Hepatol* 1995;22(Suppl 1):38-41.
8. Allain J-P. Occult hepatitis B virus infection. *Transfusion Clinique et Biologique* 2004;11:18-25.
9. Alter HJ, Purcell RH, Holland PV, et al. Transmissible agent in non-A, non-B hepatitis. *Lancet* 1978;i:463-466.
10. Alter HJ, Purcell RH, Shih JW, et al. Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med*. 1989;321:1494-1500.

11. Alter HJ, Seeff LB. Recovery, persistence, and sequelae in hepatitis C virus infection: a perspective on long-term outcome. *Semin Liver Dis* 2000;20:17-35.
12. Alter HJ. Discovery of non-A, non-B hepatitis and identification of its etiology. *Am J Med* 1999; 107(6B):16S-20S.
13. Alter MJ, Coleman PJ, Alexander WJ, et al. Importance of heterosexual activity in the transmission of hepatitis B and non-A, non-B hepatitis. *JAMA* 1989;262:1201-1205.
14. Alter MJ, Gerety RJ, Smallwood LA, et al. Sporadic non-A, non-B hepatitis: Frequency and epidemiology in an urban U.S. population. *J Infect Dis* 1982;145:886-893.
15. Alter MJ, Kniszon-Moran D, Nainan OV, et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med* 1999;341:556-562.
16. Alter MJ, Margolis HS, Krawczynski K, et al. The natural history of community-acquired hepatitis C in the United States. The Sentinel Counties Chronic Non-A, Non-B Hepatitis Study Team. *N Engl J Med* 1992;327:1899-1905.
17. Alter MJ. Prevention of spread of hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:593-598.
18. Ando K, Guidotti LG, Wirth S, et al. Class I restricted cytotoxic T lymphocytes are directly cytopathic for their target cells in vivo. *J Immunol* 1994;152:3245-3253.
19. Asselah T, Boyer N, Guimont M-C, et al. Liver fibrosis is not associated with steatosis but with necroinflammation in French patients with chronic hepatitis C. *Gut* 2003;52:1638-1643.
20. Attallah AM, Hussein M, Tabl LA, et al. High prevalence of hepatitis B viral DNA in cirrhotic patients without surface antigen. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1998;92:516-517.
21. Bach N, Thung SN, Schaffner F. The histological features of chronic hepatitis C and autoimmune chronic hepatitis: a comparative analysis. *Hepatology* 1992;15:572-577.



22. Baginski I, Chemin I, Hantz O. Transmission of serologically silent hepatitis B virus along with hepatitis C virus in two cases of posttransfusion hepatitis. *Transfusion* 1992;32:215-220.
23. Bahn A, Gerner P, Martine VU, et al. Detection of different viral strains of hepatitis B virus in chronically infected children after seroconversion from HBsAg to anti-HBs indicating viral persistence. *J Hepatol* 1997;27:973-978.
24. Bedossa P, Poynard T, for the METAVIR Cooperative Study Group. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. *Hepatology* 1996;24:289-293.
25. Beeson PB. Jaundice occurring one to four months after transfusion of blood or plasma. Report of 7 cases. *JAMA* 1943;121:1332.
26. Bellentani S, Tilibelli C. The spectrum of liver disease in the general population: lesson from the Dionysos study. *J Hepatol* 2001;35:531-537.
27. Benhamou Y, Bochet M, Di Martino V, et al. Liver fibrosis progression in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus coinfecting patients. *Hepatology* 1999;30:1054-1058.
28. Benhamou Y, Di Martino V, Bochet M, et al, for the MULTIVIRC Group. Factors affecting liver fibrosis in human immunodeficiency virus-and hepatitis C virus-coinfecting patients: impact of protease inhibitor therapy. *Hepatology* 2001;34:283-287.
29. Berasain C, Betés M, Panizo A, et al. Pathological and virological findings in patients with persistent hypertransaminasemia of unknown aetiology. *Gut* 2000;47:429-435.
30. Berberova M, Mendizova A, Popchristova E, et al. Disease and treatment outcome in chronic active hepatitis C with occult HBV infection. *Hepatogastroenterology* 2003;50:2009-2012.
31. Besisik F, Karaca C, Akyuz F, et al. Occult HBV infection and YMDD variants in hemodialysis patients with chronic HCV infection. *J Hepatol* 2003;38:506-510.

32. Bläckberg J, Kidd-Ljunggren K. Occult hepatitis B virus after acute self-limited infection persisting for 30 years without sequence variation. *J Hepatol* 2000;33:992-997.
33. Blatt LM, Mutchnick MG, Tong MJ, et al. Assessment of hepatitis C virus RNA and genotype from 6807 patients with chronic hepatitis C in the United States. *J Viral Hepat* 2000;7:196-202.
34. Bonino F, for the International Interferon-alpha Hepatocellular Carcinoma Study Group. Effect of interferon- $\alpha$  on progression of cirrhosis to hepatocellular carcinoma: a retrospective study. *Lancet* 1998;351:1535-1539.
35. Booth JC, Kumar U, Webster D, et al. Comparison of the rate of sequence variation in the hypervariable region of E2/NS1 region of hepatitis C virus in normal and hypogammaglobulinemic patients. *Hepatology* 1998;27:223-227.
36. Bouffard P, Lamelin JP, Zoulim F, et al. Different forms of hepatitis B virus DNA and expression of HBV antigens in peripheral blood mononuclear cells in chronic hepatitis B. *J Med Virol* 1990;31:312-317.
37. Bourlière M, Barberin JM, Rotily M, et al. Epidemiological changes in hepatitis C virus genotypes in France: evidence in intravenous drug users. *J Viral Hepat* 2002;9:62-70.
38. Bouvier-Alias M, Patel K, Dahari H, et al. Clinical utility of total HCV core antigen quantification: a new indirect marker of HCV replication. *Hepatology* 2002;36:211-208.
39. Bradley DW, Cook EH, Maynard JE, et al. Experimental infection of chimpanzees with anti-hemophilic (factor VIII) materials: recovery of virus-like particules associated with non-A, non-B hepatitis. *J Med Virol* 1979;3:253-269.
40. Bradley DW, Maynard JE, Popper H, et al. Post-transfusion NANBH: physicochemical properties of two distinct agents. *J Infect Dis* 1983;148:254-265.
41. Bradley DW, McCaustland KA, Cook EH, et al. Post-transfusion non-A, non-B hepatitis in chimpanzees: physicochemical evidence that the tubule-forming agent is a small, enveloped virus. *Gastroenterology* 1985;88:773-779.

42. Bréchet C, Gozuacik D, Murakami Y, Paterlini-Bréchet P. Molecular bases for the development of hepatitis B (HBV)-related hepatocellular carcinoma (HCC). *Semin Cancer Biol* 2000;10:211-231.
43. Bréchet C, Jaffredo F, Lagorce D, et al. Impact of HBV, HCV and GBV-C/HGV on hepatocellular carcinomas in Europe: results of a European concerted action. *J Hepatol* 1998;29:173-183.
44. Bréchet C, Thiers V, Kremsdorf D, et al. Persistent hepatitis B virus infection in subjects without hepatitis B surface antigen: clinically significant or purely "occult"? *Hepatology* 2001;34:194-203.
45. Brillanti S, Folli M, Gaiani S, et al. Persistent hepatitis C viraemia without liver disease. *Lancet* 1993;341:464-465.
46. Brotman B, Prince AM, Huima T, et al. Interference between non-A, non-B and hepatitis B virus infection in chimpanzees. *J Med Virol* 1983;11:191-205.
47. Bruno S, Silini E, Crosignani A, et al. Hepatitis C virus genotypes and risk of hepatocellular carcinoma in cirrhosis: a prospective study. *Hepatology* 1997;25:754-758.
48. Bukh J, Miller RH, Purcell RH. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. *Semin Liver Dis* 1995;15:41-63.
49. Buti M, Costa X, Valdés A, et al. Estudio de la replicación del virus de la hepatitis B e infección por otros virus hepatotropos en pacientes con infección crónica por el virus B. *Gastroenterol Hepatol* 2002;25:295-298.
50. Cabrerizo M, Bartolome J, De Sequera P, et al. Hepatitis B virus DNA in serum and blood cells of hepatitis B surface antigen-negative hemodialysis patients and staff. *J Am Soc Nephrol* 1997;8:1443-1447.
51. Cacciola I, Pollicino T, Squadrito G, et al. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. *N Engl J Med* 1999;341:22-26.
52. Cacciola I, Pollicino T, Squadrito G, et al. Quantification of intrahepatic hepatitis B virus (HBV) DNA in patients with chronic HBV infection. *Hepatology* 2000;31:507-512.

53. Campiotto S, Pinho JRR, Carrilho FJ, et al. Geographic distribution of hepatitis C virus genotypes in Brazil. *Braz J Med Biol Res* 2005;38:41-49.
54. Carithers Jr RL, Marquardt A, Gretch DR. Diagnostic testing for hepatitis C. *Semin Liver Dis* 2000;20:159-171.
55. Carman WF. The clinical significance of surface antigen variants of hepatitis B virus. *J Virol Viral Hepatitis* 1997;4 (Suppl. 1):11-20.
56. Carvalho M, Branco PB, Luvizotto ML, et al. High prevalence of hepatitis C virus infection in chronic hemodialysis patients. *Braz J Infect Dis* 1999;3:144-148.
57. Chabaud M, Depril LN, Le Cann P, et al. Detection of hepatitis B virus DNA by polymerase chain reaction in vaccinated and non-vaccinated Senegalese children. *Arch Virol* 1993;8(Suppl):123-131.
58. Chan HL, Ghany MG, Lok ASF. Hepatitis B. In: Schiff ER, Sorrell MF, Maddrey WC, editors. *Schiff's Diseases of the Liver*. 8<sup>nd</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1999. p.757-791.
59. Chang CY, Lee SD, Wu JC, et al. Superinfection with hepatitis C in patients with symptomatic chronic hepatitis B. *Scand J Infect Dis* 1991;23:421-424.
60. Chaudhuri V, Saxena A, Hazari S, et al. Hepatitis B virus in seronegative samples. *Antiviral Ther* 2000;5(Suppl.1):821.
61. Chaudhuri V, Tayal R, Nayak B, et al. Occult hepatitis B virus infection in chronic liver disease: full-length genome and analysis of mutant surface promoter. *Gastroenterology* 2004;127:1356-1371.
62. Chazouillères O, Mamish D, Kim M, et al. "Occult" hepatitis B virus as source of infection in liver transplant recipients. *Lancet* 1994;343:142-146.
63. Chemin I, Zoulim F, Merle P, et al. High incidence of hepatitis B infections among chronic hepatitis cases of unknown aetiology. *J Hepatol* 2001;34:447-454.
64. Chen PM, Fan S, Liu JH, et al. Reactivation of hepatitis B virus infection in two chronic GVHD patients after transplantation. *Int J Hematol* 1993;58:183-188.

65. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, et al. Isolation of cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989;244:359-362.
66. Chu C-M, Yeh CT, Sheen IS, Liaw Y-F. Acute hepatitis C virus (HCV) infection in chronic carriers of hepatitis B virus (HBV): the impact of underlying active HBV replication on persistence of HCV infection and antibody responses to HCV. *Gut* 2002;51:95-99.
67. Chung HT, Lai C-L, Lok AS. Pathogenic role of hepatitis B virus in hepatitis B surface antigen-negative decompensated cirrhosis. *Hepatology* 1995;22:25-29.
68. Chung RT, Feng S, Delmonico FL. Approach to the management of allograft recipients following the detection of hepatitis B virus in the prospective organ donor. *Am J Transplant* 2001;1:185-191.
69. Colin C, Lavoit D, Touzet S, et al. Sensitivity and specificity of third-generation hepatitis C virus antibody detection assays: an analysis of the literature. *J Viral Hepat* 2001;8:87-95.
70. Colombari R, Dhillon AP, Piazzola E, et al. Chronic hepatitis in multiple virus infection: histopathological evaluation. *Histopathology* 1993;22:319-325.
71. Conjeevaran HS, Lok AS. Occult hepatitis B virus infection: A hidden menace? *Hepatology* 2001;34:204-206.
72. Coursaget P, Le Cann P, Leboulleux D, et al. Detection of hepatitis B virus DNA by polymerase chain reaction in HBsAg negative Senegalese patients suffering from cirrhosis or primary liver cancer. *FEMS Microbiol Lett* 1991;67:35-38.
73. Crespo J, Losano JL, de la Cruz F, et al. Prevalence and significance of hepatitis C viremia in chronic active hepatitis B. *Am J Gastroenterol* 1994;89:1147-1151.
74. Czaja AJ, Carpenter HA. Sensitivity, specificity, and predictability of biopsy interpretations in chronic hepatitis. *Gastroenterology* 1993;105:1824-1832.
75. Dai C-Y, Yu M-L, Chuang W-L, et al. Influence of hepatitis C virus on the profiles of patients with chronic hepatitis B virus infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2001;16:636-640.

76. Datz C, Cramp M, Raas T, et al. The natural course of hepatitis C virus infection 18 years after an epidemic outbreak of non-A, non-B hepatitis in a plasmapheresis centre. *Gut* 1999;44:563-567.
77. De Groote J, Desmet VJ, Gedigk P, et al. A classification of chronic hepatitis. *Lancet* 1968;ii:626-628.
78. De Maria N, Colantoni A, Friedlander L, et al. The impact of previous HBV infection on the course of chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2000;95:3529-3536.
79. Deuffic S, Buffati L, Poynard T, Valleron AJ. Modeling the hepatitis C virus epidemic in France. *Hepatology* 1999;29:1596-1601.
80. Delladetsima JK, Rassidakis G, Tassopoulos NC, et al. Histopathology of chronic hepatitis C in relation to epidemiological factors. *J Hepatol* 1996;24:27-32.
81. Di Bisceglie AM, Goodman ZD, Ishak KG, et al. Long term clinical and histopathological follow-up of chronic posttransfusion hepatitis. *Hepatology* 1991;14:969-974
82. Diaz T, Des Jarlais DC, Vlahov D, et al. Factors associated with prevalent hepatitis C: differences among young adult injection drug users in lower and upper Manhattan, New York City. *Am J Public Health* 2001;91:23-30.
83. Dickson RC, Everhart JE, Lake JR, et al. Transmission of hepatitis B by transplantation of livers from donors positive for antibody to hepatitis B core antigen. *Gastroenterology* 1997;113:1668-1674.
84. Dienstag JL. Non-A, non-B hepatitis I. Recognition, epidemiology, and clinical features. *Gastroenterology* 1983;85:439.
85. Dienstag JL. The role of liver biopsy in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S152-S160.
86. Domingo E. Biological significance of viral quasispecies. *Viral Hepatitis Rev* 1996;2:247-261.
87. Domingo E. Quasispecies and the implications for virus persistence and scape. *Clin Diagn Virol* 1998;10:97-101.

88. Drosten C, Nippraschk T, Manegold C, et al. Prevalence of hepatitis B virus DNA in anti-HBc-positive/HBsAg-negative sera correlates with HCV but not HIV serostatus. *J Clin Virol* 2004;29:59-68.
89. Duarte EA, Novella IS, Weaver SC, et al. RNA virus quasispecies: significance for viral disease and epidemiology. *Infect Asian Dis* 1994;3:201-214.
90. Dueymes JM, Bodenes-Dueymes M, Mahe JL, et al. Detection of hepatitis B viral DNA by polymerase chain reaction in dialysis patients. *Kidney Int* 1993;41(Suppl.):S161-S166.
91. Dusheiko GM, Roberts JA. Treatment of chronic type B and C hepatitis with interferon alfa: an economic model. *Hepatology* 1995;23:1863-1873.
92. Enriquez J, Fuchs K, Martinez Cerezo FJ, et al. Demonstration of HCV-RNA and HBV-DNA in the serum of HBsAg negative patients with hepatocellular carcinoma. *Eur J Epidemiol* 1994;10:189-194.
93. Fabris P, Brown D, Tositti G, et al. Occult hepatitis B virus infection does not affect liver histology or response to therapy with interferon alpha and ribavirin in intravenous drug users with chronic hepatitis C. *J Clin Virol* 2004;29:160-166.
94. Fabrizi F, Martin P. Hepatitis B virus infection in dialysis: an emerging clinical reality. *Int J Artif Organs* 2001;24:123-130.
95. Fabrizi F, Messa PG, Lunghi G, et al. Occult hepatitis B virus infection in dialysis patients: a multicentre survey. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;21:1341-1347.
96. Fanning L, Kenny E, Sheehan M, et al. Viral load and clinicopathological features of chronic hepatitis C (1b) in a homogeneous patient population. *Hepatology* 1999;29:904-907.
97. Farci P, Alter HJ, Shimoda A, et al. Hepatitis C virus-associated fulminant hepatic failure. *N Engl J Med* 1996;335:631-634.
98. Farci P, Shimoda A, Coiana A, et al. The outcome of acute hepatitis C predicted by the evolution of the viral quasispecies. *Science* 2000;288:339-344.

99. Farci P, Strazzeria R, Alter HJ, et al. Early changes in hepatitis C viral quasispecies during interferon therapy predict the therapeutic outcome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:3081-3086.
100. Fattovich G, Giustina G, Degos F, et al. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: a retrospective follow-up study of 384 patients. *Gastroenterology* 1997;112:463-472.
101. Fattovich G, Tagger A, Brollo L, et al. Hepatitis C virus infection in chronic hepatitis B virus carriers. *J Infect Dis* 1991;163:400-402.
102. Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH, et al. Transfusion associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. *N Engl J Med* 1975;292:767.
103. Feray C, Gigou M, Samuel D, et al. Hepatitis C virus RNA and hepatitis B virus DNA in serum and liver of patients with fulminant hepatitis. *Gastroenterology* 1993;104:549-555.
104. Fleckenstein JF, Ismail MK, Bockhold K, et al, and the South Central Liver Study Group. African American response rate to therapy for hepatitis C [abstract]. *Hepatology* 1998;28:482.
105. Focaccia R, Da Conceição J, Sette HJJR, et al. Estimated prevalence of viral hepatitis in the general population of the municipality of Sao Paulo measured by a serological survey of a stratified, randomized and residence-based population. *Braz J Infect Dis* 1998;2:269-284.
106. Fong TL, Di Bisceglie AM, Gerber MA, et al. Persistence of hepatitis B virus DNA in the liver after loss of HBsAg in chronic hepatitis B. *Hepatology* 1993;18:1313-1318.
107. Fong TL, Di Bisceglie AM, Vaggoner JG, et al. The significance of antibody to hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 1991;14:64-67.
108. Fontaine H, Nalpas B, Poulet B, et al. Hepatitis activity index is a key factor in determining the natural history of chronic hepatitis C. *Hum Pathol* 2001;32:904-909.



109. Fontana RJ, Lok ASF. Noninvasive monitoring of patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S57-S64.
110. François M, Roingeard P, Dubois F, et al. Lower serum hepatitis C virus RNA titers in patients with concurrent chronic hepatitis B virus infection. *J Infect Dis* 1994;169:1411-1412.
111. Freeman AJ, Dore GJ, Law MG, et al. Estimating progression to cirrhosis in chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2001;34:809-816.
112. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002;347:975-982.
113. Friedman SL. Liver fibrosis – from bench to bedside. *J Hepatol* 2003;38:S38-S53.
114. Fukuda R, Ishimura N, Hamamoto S, et al. Co-infection by serologically-silent hepatitis B virus may contribute to poor interferon response in patients with chronic hepatitis C by down-regulation of type-I interferon receptor gene expression in the liver. *J Med Virol* 2001;63:220-227.
115. Fukuda R, Ishimura N, Kushiyama Y, et al. Hepatitis B virus with X gene mutation is associated with the majority of serologically “silent” non-B, non-C chronic hepatitis. *Microbiol Immunol* 1996;40:481-488.
116. Fukuda R, Ishimura N, Niigaki M, et al. Serologically silent hepatitis B virus coinfection in patients with hepatitis C virus-associated chronic liver disease: clinical and virological significance. *J Med Virol* 1999;58:201-207.
117. Gandhi MJ, Yang GG, McMahon BJ, Vyas GN. Hepatitis B virions isolated with antibodies to the pre-S1 domain reveal occult viremia by PCR in Alaska Native HBV carriers who have seroconverted. *Transfusion* 2000;40:910-916.
118. Ganne-Carrié N, Kremsdorf D, Garreau F, et al. Effects of ethanol on hepatitis B virus pre-S/S gene expression in the human hepatocellular carcinoma derived HepG2 hepatitis B DNA positive cell line. *J Hepatol* 1995;23:153-159.
119. Garcia-Monzon C, Jara P, Fernandez-Bermejo M, et al. Chronic hepatitis C in children: a clinical and immunohistochemical comparative study with adult patients. *Hepatology* 1998;28:1696-1701.

120. Garfein RS, Doherty MC, Monterroso ER, et al. Prevalence and incidence of hepatitis C viral infection among young adult injection drug users. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1998;18(Suppl 1):S11-S19.
121. Garfein RS, Vlahov D, Galai N, et al. Viral infections in the short-term injection drug users: the prevalence of the hepatitis C, hepatitis B, human immunodeficiency, and human T-lymphotropic viruses. *Am J Public Health* 1996;86:655-661.
122. Gebo KA, Herlong HF, Torbenson MS, et al. Role of liver biopsy in management of chronic hepatitis C: a systematic review. *Hepatology* 2002;36:S161-S172.
123. Georgiadou SP, Zachou K, Rigopoulou E, et al. Occult hepatitis B virus infection in Greek patients with chronic hepatitis C and in patients with diverse nonviral hepatic diseases. *J Viral Hepat* 2004;11:358-365.
124. Ghany MG, Kleiner DE, Alter H, et al. Progression of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2003;124:97-104.
125. Giannini E, Ceppa P, Botta F, et al. Previous hepatitis B virus infection is associated with worse disease stage and occult hepatitis B virus infection has low prevalence and pathogenicity in hepatitis C virus-positive patients. *Liver International* 2003;23:12-18.
126. Gibb DM, Goodall RL, Dunn DT, et al. Mother-to-child transmission of hepatitis C virus: evidence for preventable peripartum transmission. *Lancet* 2000;356:904-907.
127. Gómez J, Martell M, Quer J, et al. Hepatitis C viral quasispecies. *J Viral Hepat* 1999;6:3-16.
128. Gonçalves Júnior FL, Pedro RJ, da Silva LJ, et al. Post-transfusional hepatitis in the city of Campinas, SP, Brazil. II. Presence of anti-HBc and anti-HCV antibodies in blood donor candidates and occurrence of post-transfusional hepatitis C in recipients of blood or derivatives. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1993;35:63-71.

129. Gonçalves Júnior FL, Pereira JSF, Silva C, et al. Hepatitis B virus DNA in sera of blood donors and of patients infected with hepatitis C virus and human immunodeficiency virus. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003;10:718-720.
130. Gonzalez S, Navas S, Madejon A, et al. Hepatitis B and D genomes in hepatitis B surface antigen negative patients with chronic hepatitis C. *J Med Virol* 1995;45:168-173.
131. Goodman ZD, Ishak KG. Histopathology of hepatitis C virus infection. *Semin Liver Dis* 1995;15:70-81.
132. 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.
133. Gretch D, Corey L, Wilson J, et al. Assessment of hepatitis C virus RNA levels by quantitative competitive RNA polymerase chain reaction: high-titer viremia correlates with advanced stage of disease. *J Infect Dis* 1994;169:1219-1225.
134. Greub G, Frei PC. Isolated antibody to hepatitis B core is associated with hepatitis C virus co-infection. *Clin Microbiol Infect* 2000;6:629.
135. Grob P, Jilg W, Bornhak H, et al. Serological pattern 'anti-HBc alone': Report on a workshop. *J Med Virol* 2000;62:450-455.
136. Gruner NH, Gerlach TJ, Jung MC, et al. Association of hepatitis C virus-specific CD8+ T cells with viral clearance in the acute hepatitis C. *J Infect Dis* 2000;181:1528-1536.
137. Guido M, Thung SN, Fattovich G, et al. Intrahepatic expression of hepatitis B virus antigens: effect of hepatitis C virus infection. *Mod Pathol* 1999;12:599-603.
138. Guidotti LG, Ishikawa T, Hobbs MV, et al. Intracellular inactivation of the hepatitis B virus by cytotoxic T lymphocytes. *Immunity* 1996;4:35-36.
139. Guidotti LG, Rochford R, Chung J, et al. Viral clearance without destruction of injected cells during acute HBV infections. *Science* 1999;284:825-829.

140. Haber MM, West AB, Haber AD, Reuben A. Relationship of aminotransferases to liver histological status in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 1995;90:1250-1257.
141. Harris DR, Gonin R, Alter HJ, et al. The relationship of acute transfusion-associated hepatitis to the development of cirrhosis in the presence of alcohol abuse. *Ann Intern Med* 2001;134:120-124.
142. Harris HE, Ramsay ME, Heptonstall J, et al. The HCV National Register: towards informing the natural history of hepatitis C infection in the UK. *J Viral Hepat* 2000;7:420-427.
143. Hasegawa I, Orito E, Tanaka Y, et al. Impact of occult hepatitis B virus infection on efficacy and prognosis of interferon- $\alpha$  therapy for patients with chronic hepatitis C. *Liver Int* 2005;25:247-253.
144. Haushofer AC, Hauer R, Brunner H, et al. No evidence of hepatitis B virus activity in patients with anti-HBc antibody positivity with or without anti-hepatitis C virus antibody positivity. *J Clin Virol* 2004;29:221-223.
145. Hayashi N, Mita E. Involvement of FAS system-mediated apoptosis in pathogenesis of viral hepatitis. *J Viral Hepat* 1999;6:357-365.
146. He L-I, Alling D, Popkin T, Shapiro M, Alter HJ, Purcell RH. Determining the size of non-A, non-B hepatitis virus by filtration. *J Infect Dis* 1987;156:636-640.
147. Healey CJ, Chapman RW, Fleming KA. Liver histology in hepatitis C infection: a comparison between patients with persistently normal or abnormal transaminases. *Gut* 1995;37:274-278.
148. Hézode C, Lonjon I, Roudot-Thoraval F, et al. Impact of smoking on histological liver lesions in chronic hepatitis C. *Gut* 2003;52:126-129.
149. Hézode C, Lonjon I, Roudot-Thoraval F, et al. Steatosis is associated with worse histological activity and fibrosis in patients with chronic hepatitis C [abstract]. *J Hepatol* 2001;34(Suppl.1):151.

150. Hodgson PD, Michalak TI. Augmented hepatic interferon gamma expression and T-cell influx characterize acute hepatitis progressing to recovery and residual lifelong virus persistence in experimental adult woodchuck hepatitis virus infection. *Hepatology* 2001;34:1049-1059.
151. Hofer M, Joller-Jemelka HI, Grob PJ, et al. Frequent chronic hepatitis B virus infection in HIV-infected patients positive for antibody to hepatitis B core antigen only. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998;17:6-13.
152. Hollinger FB, Gitnick GL, Aach RD. Non-A, non-B hepatitis transmission in chimpanzees: a project of the transfusion-transmitted viruses study group. *Intervirology* 1978;10:60-68.
153. Hoofnagle JH. Course and outcome of hepatitis C. *Hepatology* 2002;36(Suppl 1):S21-29.
154. Hoofnagle JH, Seeff LB, Bales ZB, Zimmerman HJ. Type B hepatitis after transfusion with blood containing antibody to hepatitis B core antigen. *N Engl J Med* 1978;298:1379-1383.
155. Hope VD, Judd A, Hickman M, et al. Prevalence of hepatitis C among injection drug users in England and Wales: is harm reduction working? *Am J Public Health* 2001;91:38-42.
156. Hoshiyama A, Kimura A, Fujisawa T, et al. Clinical and histologic features of chronic hepatitis C virus infection after blood transfusion in Japanese children. *Pediatrics* 2000;105(1 Pt 1):62-65.
157. Hou J, Karayiannis P, Walters J, et al. A unique insertion in the S gene of surface antigen-negative hepatitis B virus Chinese carriers. *Hepatology* 1995;21:273-278.
158. Hsu HY, Chang MH, Lee CY, et al. Spontaneous loss of HBsAg in children with chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 1992;15:382-386.
159. Hu K-Q. Occult hepatitis B virus infection and its clinical implications. *J Viral Hepat* 2002;9:243-257.
160. Hui C-K, Lau E, Wu E, et al. Fibrosis progression in chronic hepatitis C patients with occult hepatitis B co-infection. *J Clin Virol* 2006;35:185-192.

161. Hui JM, Kench J, Farrell GC, et al. Genotype-specific mechanisms for hepatic steatosis in chronic hepatitis C infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2002;17:873-881.
162. Hui JM, Sud A, Farrell GC, et al. Chronic hepatitis C virus infection and insulin resistance: how do they interact, and what is the effect on hepatic fibrosis? *Gastroenterology* 2003;125:1695-1704.
163. Huo TI, Wu JC, Lee PC, et al. Sero-clearance of hepatitis B surface antigen in chronic carriers does not necessarily imply a good prognosis. *Hepatology* 1998;28:231-236.
164. Hwang SJ, Luo JC, Chu CW, et al. Hepatic steatosis in chronic hepatitis C virus infection: prevalence and clinical correlation. *J Gastroenterol Hepatol* 2001;16:190-195.
165. Hwang SJ, Luo JC, Lai CR, et al. Clinical, virologic and pathologic significance of elevated serum gamma-glutamyl transpeptidase in patients with chronic hepatitis C. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei)* 2000;63:527-535.
166. Imazeki F, Yokosuka O, Fukai K, et al. Significance of prior hepatitis B virus infection in the development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci* 2003;48:1786-1792.
167. Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, et al. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet* 2001;357:1069-1075.
168. Inokuchi K, Nakata K, Hamasaki K, et al. Prevalence of hepatitis B or C virus infection in patients with fulminant viral hepatitis. An analysis using polymerase chain reaction. *J Hepatol* 1996;24:258-264.
169. Ishak KG, Baptista A, Bianchi L, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 1995;22:696-699.

170. Iwai K, Tashima M, Itoh M, et al. Fulminant hepatitis B following bone marrow transplantation in an HBsAg-negative HBsAb-positive recipient: reactivation of dormant virus during the immunosuppressive period. *Bone Marrow Transplant* 2000;25:105-108.
171. Jilg W, Sieger E, Zachoval R, Schätzle H. Individuals with antibodies against hepatitis B core antigen as only serological marker for hepatitis B: high percentage of carriers of hepatitis B and C virus. *J Hepatol* 1995;23:14-20.
172. Joller-Jemelka HI, Wicki AN, Grob PJ. Detection of HBs antigen in "anti-HBc alone" positive sera. *J Hepatol* 1994;21:269-272.
173. Jung M-C, Pape GR. Immunology of hepatitis B infection. *Lancet Infect Dis* 2002;2:43-50.
174. Jurinke C, Zollner B, Feucht HH, et al. Application of nested PCR and mass spectrometry for DNA-based virus detection: HBV-DNA detected in the majority of isolated anti-HBc positive sera. *Genet Anal* 1998;14:97-102.
175. Kao J-H, Chen P-J, Lai M-Y, Chen D-S. Occult hepatitis B virus infection and clinical outcomes of patients with chronic hepatitis C. *J Clin Microbiol* 2002;40:4068-4071.
176. Kashiwagi S, Hayashi J, Kajiyama W, et al. Evaluation of micro particle enzyme immunoassay technique (MEIA)-IMx for the detection of antibody to hepatitis B core antigen. *Kansenshogaku Zasshi* 1991;65:1451-1458.
177. Kato N, Yokosuka O, Hosoda K, et al. Quantification of hepatitis C virus by competitive reverse transcription-polymerase chain reaction: increase of the virus in advanced disease. *Hepatology* 1993;18:16-20.
178. Kato Y, Nakao K, Hamasaki K, et al. Spontaneous loss of hepatitis B surface antigen in chronic carriers, based on a long-term follow-up study in Goto Islands, Japan. *J Gastroenterol* 2000;35:201-205.
179. Kazemi-Shirazi L, Petermann D, Müller C. Hepatitis B virus DNA in sera and liver tissue of HBsAg negative patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2000;33:785-790.

180. Keeffe EB, Iwarson S, McMahon BJ, et al. Safety and immunogenicity of hepatitis A vaccine in patients with chronic liver disease. *Hepatology* 1998;27:881-886.
181. Kenny-Walsh E, the Irish Hepatology Research Group. Clinical outcomes after hepatitis C infection from contaminated anti-D immune globulin. *N Engl J Med* 1999;340:1228-1233.
182. 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;35:286-295.
183. Khan MH, Farrell GC, Byth K, et al. Which patients with hepatitis C develop liver complications? *Hepatology* 2000;31:513-520.
184. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981;1:431-435.
185. Kobayashi M, Tanaka E, Sodeyama T, et al. The natural course of chronic hepatitis C: a comparison between patients with genotype 1 and 2 hepatitis C viruses. *Hepatology* 1996;23:695-699.
186. Koerner K, Cardoso M, Dengler T, et al. Estimated risk of transmission of hepatitis C virus by blood transfusion. *Vox Sang* 1998;74:213-216.
187. Koike K, Yasuda K, Yotsuyanagi H, et al. Dominant replication of either virus in dual infection with hepatitis viruses B and C. *J Med Virol* 1995;45:236-239.
188. Koike K, Kobayashi M, Gondo M, et al. Hepatitis B virus DNA is frequently found in liver biopsy samples from hepatitis C virus-infected chronic hepatitis patients. *J Med Virol* 1998;54:249-255.
189. Komori M, Yuki N, Nagaoka T, et al. Long-term clinical impact of occult hepatitis B virus infection in chronic hepatitis B patients. *J Hepatol* 2001;35:798-804.
190. Koretz RI, Stone O, Gitnick GL. The long-term course of non-A, non-B post-transfusion hepatitis. *Gastroenterology* 1980;79:893-898.



191. Krugman S, Giles JP, Hammond J. Infectious hepatitis: evidence for two distinct clinical, epidemiologic, and immunologic types of infection. *JAMA* 1967;200:365-373.
192. Kuhns M, McNamara A, Mason A, et al. Serum and liver hepatitis B virus DNA in chronic hepatitis B after sustained loss of surface antigen. *Gastroenterology* 1992;103:1649-1656.
193. Kuo G, Choo QL, Alter HJ, et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989;244:362-364.
194. Kupek EJ. Residual transfusion risk for hepatitis B and C in southern Brazil, 1991-1999. *J Viral Hepat* 2001;8:78-82.
195. Lagging LM, Westin J, Svensson E, et al. Progression of fibrosis in untreated patients with hepatitis C virus infection. *Liver* 2002;22:136-144.
196. Lai M-Y, Chen P-J, Yang P-M, et al. Identification and characterization of intrahepatic hepatitis B virus DNA in HBsAg-seronegative patients with chronic liver disease and hepatocellular carcinoma in Taiwan. *Hepatology* 1990;12:575-581.
197. Lamphear BP, Linnemann Jr CC, Cannon CG, et al. Hepatitis C virus infection in health care workers: risk of exposure and infection. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1994;15:745-750.
198. Lander JJ, Gitnick GL, Gelb LH, Aach RD. Anticore antibody screening of transfused blood. *Vox Sang* 1978;34:77-80.
199. Larsen J, Hetland G, Skaug K. Posttransfusion hepatitis B transmitted by blood from a hepatitis B surface antigen-negative hepatitis B virus carrier. *Transfusion* 1990;30:431-432.
200. Lau GK, Wu PC, Liang R, et al. Persistence of hepatic hepatitis B virus after serological clearance of HBsAg with autologous peripheral stem cell transplantation. *J Clin Pathol* 1997;50:706-708.

201. Lau GK, Wu PC, Lo CK, et al. Histological changes of concurrent hepatitis C virus infection in asymptomatic hepatitis B virus patients. *J Gastroenterol Hepatol* 1998;13:52-56.
202. Lau JY, Davis GL, Kniffen J, et al. Significance of serum hepatitis C virus RNA levels in chronic hepatitis C. *Lancet* 1993;41:1510-1514.
203. Lau JYN, Davis GL, Prescott LE, et al. Distribution of hepatitis C virus genotypes determined by line probe assay in patients with chronic hepatitis C seen at tertiary referral centers in the United States. *Ann Intern Med* 1996;124:868-876.
204. Lawall Z, Petrik J, Wong VS, et al. Hepatitis C virus genomic variation in untreated and immunosuppressed patients. *Virology* 1997;228:107-111.
205. Lechner F, Wong DK, Dumbar PR, et al. Analysis of successful immune responses in persons infected with hepatitis C virus. *J Exp Med* 2000;191:1499-1512.
206. Lee DS, Huh K, Lee EH, et al. HCV and HBV coexist in HBsAg-negative patients with HCV viraemia: possibility of coinfection in these patients must be considered in HBV-high endemic area. *J Gastroenterol Hepatol* 1997;12:855-861.
207. Lee WM. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med* 1997;337:1733-1745.
208. Lee YS, Yoon SK, Chung ES, et al. The relationship of histologic activity to serum ALT, HCV genotype and HCV RNA titers in chronic hepatitis C. *J Korean Med Sci* 2001;16:585-591.
209. Lefkowitz JH, Schiff ER, Davis GL, et al. Pathological diagnosis of chronic hepatitis C: a multicenter comparative study with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 1993;104:595-603.
210. Liang TJ, Baruch Y, Ben-Porath E, et al. Hepatitis B virus infection in patients with idiopathic liver disease. *Hepatology* 1991;13:1044-1051.
211. Liang TJ, Jeffers L, Reddy RK, et al. Fulminant or subfulminant non-A, non-B viral hepatitis: the role of hepatitis C and E viruses. *Gastroenterology* 1993;104:556-562.

212. Liaw Y-F, Chien RN, Lin SM, et al. Response of patients with dual hepatitis B virus and C virus infection to interferon therapy. *J Interferon Cytokine Res* 1997;17:449-452.
213. Liaw Y-F, Tsai SL, Chang JJ, et al. Displacement of hepatitis B virus by hepatitis C virus as the cause of continuing chronic hepatitis. *Gastroenterology* 1994;106:1048-1053.
214. Liaw Y-F, Yeh CT, Tsai SL. Impact of acute hepatitis B virus superinfection on chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol* 2000;95:2978-2980.
215. Liaw Y-F. Concurrent hepatitis B and C virus infection: Is hepatitis C virus stronger? *J Gastroenterol Hepatol* 2001;16:597-598.
216. Locarnini S, McMillan J, Bartholomeusz SZA. The hepatitis B virus and common common mutants. *Semin Liver Dis* 2003;23:5-20.
217. Loguercio C, Di Pierro M, Di Martino MP, et al. Drinking habits of subjects with hepatitis C virus-related chronic liver disease: prevalence and effect on clinical, virological and pathological aspects. *Alcohol Alcohol* 2000;35:296-301.
218. Lok ASF, Liang RHS, Chiu EKW, et al. Reactivation of hepatitis B virus replication in patients receiving cytotoxic therapy. Report of a prospective study. *Gastroenterology* 1991;100:182-188.
219. Lorient MA, Marcellin P, Walker F, et al. Persistence of hepatitis B virus DNA in serum and liver from patients with chronic hepatitis B after loss of HBsAg. *J Hepatol* 1997;27:251-258.
220. Maher JJ. Interactions between hepatic stellate cells and the immune system. *Semin Liver Dis* 2001;21:417-426.
221. Maini MK, Boni C, Ogg GS, et al. Direct ex vivo analysis of hepatitis B virus-specific CD8+ T cells associated with the control of infection. *Gastroenterology* 1999;117:1386-1396.
222. Major ME, Feinstone S. The molecular virology of hepatitis C. *Hepatology* 1997;25:1527-1538.

223. Makris BM, Garson JA, Ring CJ, et al. hepatitis C viral RNA in clotting factor concentrates and the development of hepatitis in recipients. *Blood* 1993;81:1898-1902.
224. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomized trial. *Lancet* 2001;358:958-965.
225. Marcellin P, Asselah T, Boyer N. Fibrosis and disease progression in hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S47-S56.
226. Marcellin P. Hepatitis C: the clinical spectrum of the disease. *J Hepatol* 1999;31:(Suppl.1):9-16.
227. Martell M, Steban JL, Quer J, et al. Dynamic behavior of hepatitis C virus quasispecies in patients undergoing orthotopic liver transplantation. *J Virol* 1994;68:3425-3436.
228. Martell M, Steban JL, Quer J, et al. Hepatitis C virus (HCV) circulates as a population of different but closed related genomes: quasispecies nature of HCV genome distribution. *J Virol* 1992;66:3225-3229.
229. Martinot-Peignoux M, Roudot-Thoraval F, Mendel I, et al. Hepatitis C virus genotypes in France. Relationship with epidemiology, pathogenicity and response to interferon therapy. *J Viral Hepat* 1999;6:435-443.
230. Marusawa H, Osaki Y, Kimura T, et al. High prevalence of anti-hepatitis B virus serological markers in patients with hepatitis C virus related chronic liver disease in Japan. *Gut* 1999;45:284-288.
231. Marusawa H, Uemoto S, Hijikata M, et al. Latent hepatitis B virus infection in healthy individuals with antibodies to hepatitis B core antigen. *Hepatology* 2000;31:488-495.
232. Mason A, Sallie R, Perrillo R, et al. Prevalence of herpesviridae and hepatitis B virus DNA in the liver of patients with non-A, non-B fulminant hepatic failure. *Hepatology* 1996;24:1361-1365.

233. Mason A, Yoffe B, Noonan C, et al. Hepatitis B virus DNA in peripheral-blood mononuclear cells in chronic hepatitis B after HBsAg clearance. *Hepatology* 1992;16:36-41.
234. Mathieson RD, Sampliner RE, Latham PS, et al. Chronic liver disease following community-acquired non-A, non-B hepatitis. *Am J Clin Path* 1986;85:353.
235. Mathurin P, Moussalli J, Cadranel JF, et al. Slow progression rate of fibrosis in hepatitis C virus patients with persistently normal alanine transaminase activity. *Hepatology* 1998;27:868-872.
236. Mathurin P, Thibault V, Kadidja K, et al. Replication status and histological features of patients with triple (B, C, D) and dual (B, D) hepatic infections. *J Viral Hepat* 2000;7:15-22.
237. Matsumura H, Moriyama M, Goto I, et al. Natural course of progression of liver fibrosis in Japanese patients with chronic liver disease type C – a study of 527 patients at one establishment. *J Viral Hepat* 2000;7:268-275.
238. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998;339:1485-1492.
239. McOmish F, Chan SW, Dow DC, et al. Detection of three types of hepatitis C virus in blood donors: investigation of type-specific differences in serologic reactivity and rate of alanine aminotransferase abnormalities. *Transfusion* 1993;33:7-13.
240. Melegari M, Bruno S, Wands JR. Properties of hepatitis B virus pre-S1 deletion mutants. *Virology* 1994;199:292-300.
241. Michalak TI, Pardoe IU, Coffin CS, et al. Occult lifelong persistence of infectious hepadnavirus and residual liver inflammation in woodchucks convalescent from acute viral hepatitis. *Hepatology* 1999;29:928-938.
242. Michalak TI, Pasquinelli C, Guilhot S, Chisari FV. Hepatitis B virus persistence after recovery from acute viral hepatitis. *J Clin Invest* 1994;93:203-239.
243. Michalak TI. Occult persistence and lymphotropism of hepadnaviral infection: insights from the woodchuck viral hepatitis model. *Immunol Rev* 2000;174:98-111.

244. Mihm S, Fayyazi A, Hartmann H, RHamadori G. Analysis of histopathological manifestation of chronic hepatitis C virus infection with respect to virus genotype. *Hepatology* 1997;25:735-739.
245. Mimms LT, Mosley JW, Hollinger FB, et al. Effect of concurrent acute infection with hepatitis C virus on acute hepatitis B virus infection. *BMJ* 1993;307:1095-1097.
246. Minuk GY, Sun D-F, Uhanova J, et al. Occult hepatitis B virus infection in a North American community-based population. *J Hepatol* 2005;42:480-485.
247. Mohsen AH, Easterbrook PJ, Taylor C, et al. Impact of human immunodeficiency virus (HIV) infection on the progression of liver fibrosis in the hepatitis C virus infected patients. *Gut* 2003;52:1035-1040.
248. Mondelli MU, Silini E. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. *J Hepatol* 1999;31(suppl. 1):65-70.
249. Monto A, Alonzo J, Watson JJ, et al. Steatosis in chronic hepatitis C: relative contributions of obesity, diabetes mellitus, and alcohol. *Hepatology* 2002;36:729-736.
250. Moraleda G, Bartolome J, Molina J, et al. Analysis of hepatitis B virus DNA, liver disease and influence of antibody to hepatitis C virus in anti-HBe chronic carriers. *Liver* 1991;11:352-357.
251. Morgan HV, Williamson DAJ. Jaundice following administration of human blood products. *Br Med J* 1943;1:750.
252. Mphahlele MJ, Lukhwareni A, Burnett RJ, et al. High risk of occult hepatitis B virus infection in HIV-positive patients from South Africa. *J Clin Virol* 2006;35:14-20.
253. Muhlbauer M, Bosserhoff AK, Hartmann A, et al. A novel MCP-1 gene polymorphism is associated with hepatic MCP-1 expression and severity of HCV-related liver disease. *Gastroenterology* 2003;125:1085-1093.
254. Mutimer D, Shaw J, Neuberger J, et al. Failure to incriminate hepatitis B, hepatitis C, and hepatitis E viruses in the aetiology of fulminant non-A non-B hepatitis. *Gut* 1995;36:433-436.

255. Myers RP, Tainturier MH, Ratziu V, et al. Prediction of liver histological lesions with biochemical markers in patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2003;39:222-230.
256. Myers RP, Thibault V, Poynard T. The impact of prior hepatitis B virus infection on liver histology and the response to interferon therapy in chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 2003;10:103-110.
257. Nalpas B, Pourcel C, Felman G, et al. Chronic alcohol intoxication decreases the serum level of hepatitis B surface antigen in transgenic mice. *J Hepatol* 1992;15:118-124.
258. Niederau C, Lange S, Heintges T, et al. Prognosis of chronic hepatitis C: results of a large, prospective cohort study. *Hepatology* 1998;28:1687-95.
259. Neau D, Winnock M, Jouvencel AC, et al. Occult hepatitis B virus infection in HIV-infected patients with isolated antibodies to hepatitis B core antigen: Aquitaine cohort, 2002-2003. *Clin Infect Dis* 2005;40:750-753.
260. Nirei K, Kaneko M, Moriyama M, Arakawa Y. The clinical features of chronic hepatitis C are not affected by the coexistence of hepatitis B virus DNA in patients negative for hepatitis B surface antigen. *Intervirology* 2000;43:95-101.
261. Noborg U, Gusdal A, Horal P, Lindh M. Levels of viraemia in subjects with serological markers of past or chronic hepatitis B virus infection. *Scand J Infect Dis* 2000;32:249-252.
262. Nousbaum J, Pol S, Nalpas B, et al. Hepatitis C virus type 1b (II) infection in France and Italy. *Ann Intern Med* 1995;122:161-168.
263. Núñez M, Rios P, Pérez-Olmeda M, Soriano V. Lack of "occult" hepatitis B virus infection in HIV-infected patients. *AIDS* 2002;16:2099-2101.
264. Obermayer-Straub P, Manns MP. Hepatitis C and D retroviruses and autoimmune manifestations. *J Autoimmunity* 2001;16:275-285.
265. Ohba K, Kubo S, Tamori A, et al. Previous or occult hepatitis B virus infection in hepatitis B surface antigen-negative and anti-hepatitis C-negative patients with hepatocellular carcinoma. *Surg Today* 2004;34:842-848.

266. Ohkawa K, Hayashi N, Yuki N, et al. Hepatitis C virus antibody and hepatitis C virus replication in chronic hepatitis B patients. *J Hepatol* 1994;21:509-514.
267. Ohkawa K, Hayashi N, Yuki N, et al. Long-term follow-up of hepatitis B virus and hepatitis C virus replicative levels in chronic hepatitis patients coinfecting with both viruses. *J Med Virol* 1995;46:258-264.
268. Ohkoshi S. Detection of HBV DNA in non-A, non-B hepatic tissues using the polymerase chain reaction assay. *Gastroenterol Jpn* 1991;26:728-733.
269. Ortiz V, Berenguer M, Rayón JM, et al. Contribution of obesity to hepatitis C-related fibrosis progression. *Am J Gastroenterol* 2002;97:2408-2414.
270. Pace FHL. Prevalência e impacto da co-infecção pelo vírus da hepatite C em portadores de infecção crônica pelo vírus da hepatite B [tese]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 2001.
271. Pao CC, Yang WL, Wu SY, et al. Presence of hepatitis B virus DNA in serum of surface-antigen-seronegative immunocompromised patients. *J Clin Microbiol* 1987;25:449-451.
272. Pao CC, Yao DS, Lin CY, et al. Serum hepatitis B virus DNA in hepatitis B virus seropositive and seronegative patients with normal liver function. *Am J Clin Pathol* 1991;95:591-596.
273. Pasquinelli G, Laure F, Chatenou L, et al. Hepatitis B virus DNA in mononuclear blood cells. A frequent event in hepatitis B surface antigen-positive and negative patients with acute and chronic liver disease. *Hepatology* 1986;3:95-103.
274. Paterlini P, Driss F, Nalpas B, et al. Persistence of hepatitis B and hepatitis C viral genomes in primary liver cancers from HBsAg-negative patients: a study of a low-endemic area. *Hepatology* 1993;17:20-29.
275. Paterlini P, Gerken G, Nakajima E, et al. Polymerase chain reaction to detect hepatitis B virus DNA and RNA sequences in primary liver cancers from patients negative for hepatitis B surface antigen. *N Engl J Med* 1990;323:80-85.



276. Paterlini P, Poussin K, Kew M, et al. Selective accumulation of the X transcript of hepatitis B virus in patients negative for hepatitis B surface antigen with hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1995;21:313-321.
277. Pawlotsky J-M, Pellerin M, Bouvier M, et al. Genetic complexity of the hypervariable region 1 (HVR1) of hepatitis C virus (HCV): influence of the characteristics of the infection and responses to interferon alfa therapy in patients with chronic hepatitis C. *J Med Virol* 1998;54:256-264.
278. Pawlotsky J-M. Diagnostic testing in hepatitis C virus infection: viral kinetics and genomics. *Semin Liver Dis* 2003a;23(Suppl.1):3-11.
279. Pawlotsky J-M. Hepatitis C virus genetic variability: pathogenic and clinical implications. *Clin Liver Dis* 2003b;7:45-66.
280. Pawlotsky J-M. Use and interpretation of hepatitis C virus diagnostic assays. *Clin Liver Dis* 2003c;7:127-137.
281. Penin F. Structural biology of hepatitis C virus. *Clin Liver Dis* 2003;7:1-21.
282. Penna A, Artini M, Cavalli A, et al. Long lasting memory T cell responses following self-limited acute hepatitis B. *J Clin Invest* 1996;98:1185-1194.
283. Pereira BJG, Milford EL, Kirkman RL, et al. Prevalence of hepatitis C virus RNA in organ donors positive for hepatitis C antibody and in the recipients of their organs. *N Engl J Med* 1992;327:910-915.
284. Pereira GHS, Campos AP, Oliveira AA, et al. Pesquisa de infecção oculta por vírus B em pacientes portadores de hepatite crônica C. In: V Semana Brasileira do Aparelho Digestivo; 2002; Rio de Janeiro. Anais. Rio de Janeiro: Federação Brasileira de Gastroenterologia; 2002. p.51.
285. Perrillo RP. Acute flares in chronic hepatitis B: the natural and unnatural history of an immunologically mediated liver disease. *Gastroenterology* 2001;120:1009-1022.
286. Persico M, Persico E, Suozzo R, et al. Natural history of hepatitis C virus carriers with persistently normal aminotransferase levels. *Gastroenterology* 2000;118:760-764.

287. Pessione F, Degos F, Marcellin P, et al. Effect of alcohol consumption on serum hepatitis C virus RNA and histological lesions in chronic hepatitis C. *Hepatology* 1998;27:1717-1722.
288. Pessione F, Ramond M-J, Njapoum C, et al. Cigarette smoking and hepatic lesions in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2001;34:121-125.
289. Peters MG, Terrault NA. Alcohol use and hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S220-225.
290. Piazza M, Saggiocca L, Tosone G, et al. Sexual transmission of the hepatitis C virus and efficacy of prophylaxis with intramuscular immune serum globulin. A randomized controlled trial. *Arch Intern Med* 1997;157:1537-1544.
291. Piroth L, Binquet C, Vergne M, et al. The evolution of hepatitis B virus serological patterns and the clinical relevance of isolated antibodies to hepatitis B core antigens in HIV infected patients. *J Hepatol* 2002;36:681-686.
292. Pollicino T, Squadrito G, Cerenzia G, et al. Hepatitis B virus maintains its pro-oncogenic properties in the case of occult HBV infection. *Gastroenterology* 2004;126:102-110.
293. Pontisso P, Morsica G, Ruvoletto MG, et al. Latent hepatitis B virus infection in childhood hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1992;69:2731-2735.
294. Pontisso P, Ruvoletto MG, Fattovich G, et al. Clinical and virological profiles in patients with multiple hepatitis virus infections. *Gastroenterology* 1993;105:1529-1533.
295. Popper H, Schaffner F. The vocabulary of chronic hepatitis. *N Engl J Med* 1971;284:1154-1156.
296. Porchon C, Kremsdorf D, Pol S, et al. Serum hepatitis C virus RNA and hepatitis B virus DNA in non-A, non-B post-transfusional and sporadic chronic hepatitis. *J Hepatol* 1992;16:184-189.
297. Poussin K, Diennes H, Sirma H, et al. Expression of mutated hepatitis B virus X gene in human hepatocellular carcinomas. *Int J Cancer* 1999;80:497-505.

298. Powell EE, Edwards-Smith CJ, Hay JL, et al. Host genetic factors influence disease progression in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2000;31:828-833.
299. 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; 349:825-832.
300. Poynard T, Imbert-Bismut F, Ratziu V, et al. Biochemical markers of liver fibrosis in patients infected by hepatitis C virus: longitudinal validation in a randomized trial. *J Viral Hepat* 2002;9:128-133.
301. Poynard T, Marcellin P, Lee SS, et al. Randomized trial of interferon alpha 2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha 2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. *Lancet* 1998;352:1426-1432.
302. Poynard T, Ratziu V, Benhamou Y, et al. Natural history of HCV infection. *Baillière's Clinical Gastroenterology* 2000;14:211-228.
303. Poynard T, Ratziu V, Charlotte F, et al. Rates and risk factors of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2001;34:730-739.
304. Poynard T, Yuen M-F, Ratziu V, Lai C-L. Viral hepatitis C. *Lancet* 2003;362:2095-2100.
305. Poynter ME, Daynes RA. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  activation modulates cellular redox status, represses nuclear factor-kB signaling, and reduces inflammatory cytokine production in aging. *J Biol Chem* 1998;273:32833-32841.
306. Pozzato G, Kaneko S, Moretti M, et al. Different genotypes of hepatitis C virus are associated with different severity of chronic liver disease. *J Med Virol* 1994;43:291-296.
307. Prieto M, Olaso V, Verdu C, et al. Does the healthy hepatitis C virus carrier state really exist? An analysis using polymerase chain reaction. *Hepatology* 1995;22:413-417.

308. Prince AM, Brotman B, Grady GF, et al. Long-incubation post-transfusion hepatitis without serological evidence of exposure to hepatitis B serum. *Lancet* 1974;2:241-246.
309. Promrat K, McDermott DH, Gonzalez CM, et al. Associations of chemokine system polymorphisms with clinical outcomes and treatment responses of chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2003;124:352-360.
310. Puoti C, Magrini A, Stati T, et al. Clinical, histological, and virological features of hepatitis C virus carriers with persistently normal or abnormal alanine transaminase levels. *Hepatology* 1997;26:1393-1398.
311. Puro V, Petnosillo N, Ippolito G, et al, For the Italian Study Group on Occupational Risk of HIV and Other Bloodborne Infections. Risk of hepatitis C seroconversion after occupation exposures in health care workers. *Am J Infect Control* 1995;23:273-277.
312. Ray SC, Wang YM, Laeyendecker O, et al. Acute hepatitis C virus structural gene sequences as predictors of persistent viremia: hypervariable region 1 as a decoy. *J Virol* 1999;73:2938-2946.
313. Rehermann B, Ferrari C, Pasquinelli C, et al. The hepatitis B virus persists for decades after patient's recovery from acute viral hepatitis despite active maintenance of a cytotoxic T-lymphocyte response. *Nat Med* 1996;2:1104-1108.
314. Rehermann B, Fowler P, Sidney J, et al. The cytotoxic lymphocyte response to multiple hepatitis B virus polymerase epitopes during and after acute viral hepatitis. *J Exp Med* 1995;181:1047-1058.
315. Rehermann B. Cellular immune response to the hepatitis C virus. *J Viral Hepat* 1999;6(Suppl.1):31-35.
316. Rehermann B. Immune response in hepatitis B virus infection. *Semin Liver Dis* 2003;23:21-37.

317. Robertson B, Myers G, Howard C, et al. Classification, nomenclature, and database development for hepatitis C virus (HCV) and related viruses: proposals for standardization. International Committee on Virus Taxonomy. *Arch Virol* 1998;143:2493-2503.
318. Roffi L, Ricci A, Ogliari C, et al. HCV genotypes in Northern Italy: a survey of 1368 histologically proven chronic hepatitis C patients. *J Hepatol* 1998;29:701-706.
319. Romeu R, Tommasini M, Rumi M, et al. Genotypes in the progression of hepatitis C related cirrhosis and the development of hepatocellular carcinoma [abstract]. *Hepatology* 1996;24:153A:108.
320. Roudot-Thoraval F, Bastie A, Pawlotsky J-M, Dhumeaux D, and the Study Group for the Prevalence and the Epidemiology of Hepatitis C Virus. Epidemiological factors affecting the severity of hepatitis C virus-related liver disease: a French survey of 6,664 patients. *Hepatology* 1997;26:485-490.
321. Rubbia-Brandt L, Leandro G, Spahr L, et al. Liver steatosis in chronic hepatitis C: a morphological sign suggesting infection with HCV genotype 3. *Histopathology* 2001;39:119-124.
322. Ruiz J, Sangro B, Cuende JI, et al. Hepatitis B and C viral infections in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1992;16:637-641.
323. Rumi MG, De Filippi F, Donato MF, et al. Progressive hepatic fibrosis in healthy carriers of hepatitis C virus with a transaminase breakthrough. *J Viral Hepat* 2002;9:71-74.
324. Ryder SD, on behalf of the Trent Hepatitis C Study Group. Progression of hepatic fibrosis in patients with hepatitis C: a prospective repeat liver biopsy study. *Gut* 2004;53:451-455.
325. Sagnelli E, Coppola N, Messina V, et al. HBV superinfection in hepatitis C virus chronic carriers, viral interaction, and clinical course. *Hepatology* 2002;36:1285-1291.

326. Sagnelli E, Coppola N, Scolastico C, et al. HCV genotype and “silent” HBV co-infection: two main risk factors for a more severe liver disease. *J Med Virol* 2001;64:350-355.
327. Sagnelli E, Coppola N, Scolastico C, et al. Virologic and clinical expressions of reciprocal inhibitory effect of hepatitis B, C, and delta viruses in patients with chronic hepatitis. *Hepatology* 2000;32:1106-1110.
328. Sagnelli E, Felaco FM, Rapicetta M. Interaction between HDV and HBV infection in HBsAg chronic carriers. *Infection* 1991;19:155-159.
329. Sagnelli E, Pasquale G, Coppola N, et al. Liver histology in patients with HBsAg negative anti-HBc and anti-HCV positive chronic hepatitis. *J Med Virol* 2005;75:222-226.
330. Sallie R, Rayner A, Naoumov N, et al. Occult HBV in NANB fulminant hepatitis. *Lancet* 1993;341:123.
331. Sanchez-Quijano A, Jauregui JI, Leal M, et al. Hepatitis B virus occult infection in subjects with persistent isolated anti-HBc reactivity. *J Hepatol* 1993;17:288-293.
332. Sansonno D, Dammacco F. Hepatitis-C-virus-related chronic liver disease of sporadic type: clinical, serological and histological features. *Digestion* 1992;51:115-120.
333. Santos EA, Yoshida CFT, Rolla VC, et al. Frequent occult hepatitis B virus infection in patients infected with human immunodeficiency virus type 1. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003;22:92-98.
334. Sato S, Fujiyama S, Tanaka M, et al. Coinfection of hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis B infection. *J Hepatol* 1994;21:159-166.
335. SBH. Inquérito Nacional de Cirrose Hepática, XVI Congresso Brasileiro de Hepatologia. Vitória; 2001.
336. SBH. Relatório do Grupo de Estudo da Sociedade Brasileira de Hepatologia. Epidemiologia da Infecção pelo Vírus da Hepatite C no Brasil. *GED* 1999;18:53-58.

337. Scheuer PJ, Ashrafzadeh P, Sherlock S, et al. The pathology of hepatitis C. *Hepatology* 1992;15:567-571.
338. Schreiber GB, Busch MP, Kleinman SH, et al. The risk of transfusion-transmitted viral infections. *N Engl J Med* 1996;334:1685-1690.
339. Schüttler CG, Fiedler N, Schmidt K, et al. Suppression of hepatitis B virus enhancer 1 and 2 by hepatitis C virus core protein. *J Hepatol* 2002;37:855-862.
340. Scully LJ, Sung H, Pennie R, Gill P. Detection of hepatitis B virus DNA in the serum of Canadian hepatitis B surface antigen negative, anti-HBc positive individuals, using the polymerase chain reaction. *J Med Virol* 1994;44:293-297.
341. Seeff L. Natural history of chronic hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S35-S46.
342. Seeff LB, Buskell-Bales Z, Wright EC, et al. Long term mortality after transfusion-associated non-A non-B hepatitis. *N Engl J Med* 1992;327:1906-1911.
343. Seeff LB, Hollinger FB, Alter HJ, et al. Long-term mortality and morbidity of transfusion-associated non-A, non-B, and type C hepatitis: a National Heart, Lung, and Blood Institute Collaborative Study. *Hepatology* 2001;33:455-463.
344. Seeff LB. Diagnosis, therapy, and prognosis of viral hepatitis. In: Zakim D, Boyer TD, editors. *Hepatology – A Textbook of Liver Disease*. 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1990. p.958-1025.
345. Seelig R, Renz M, Bottner C, et al. Hepatitis C viral infections in dialysis units: prevalence of HCV-RNA and antibodies to HCV. *Ann Med* 1994;26:45-52.
346. Serfaty L, Chazouillères O, Poujol-Robert A, et al. Risk factors for cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection: results of a case-control study. *Hepatology* 1997;26:776-779.
347. Serra MA, Rodríguez F, del Olmo JA, et al. Influence of age and date of infection on distribution of hepatitis C virus genotypes and fibrosis stage. *J Viral Hepat* 2003;10:183-188.

348. Shafritz DA, Lieberman HM, Isselbacher KJ, Wands JR. Monoclonal radioimmunoassay for hepatitis B surface antigen: demonstration of hepatitis B virus DNA or related sequences in serum and viral epitopes in immune complexes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982;79:5675-5679.
349. Sheen IS, Liaw Y-F, Lin DY, Chu CM. Role of hepatitis C and delta viruses in the termination of chronic hepatitis B surface antigen carrier state: a multivariate analysis in a longitudinal follow-up study. *J Infect Dis* 1994;170:358-361.
350. Sheu JC, Huang GT, Shih LN, et al. Hepatitis C and B viruses in hepatitis B surface antigen-negative hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1992;103:1322-1327.
351. Shev S, Dhillon AP, Lindh M, et al. The importance of cofactors in the histologic progression of minimal and mild chronic hepatitis C. *Liver* 1997;17:215-223.
352. Shibata Y, Nakata K, Tsuruta S, et al. Detection of hepatitis B virus X-region DNA in liver tissue from patients with hepatitis C virus-associated cirrhosis who subsequently developed hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol* 1999;14:1153-1156.
353. Shih CM, Lo SJ, Miyamura T, et al. Suppression of hepatitis B virus expression and replication by hepatitis C virus core protein in HuH-7 cells. *J Virol* 1993;67:5823-5832.
354. Shih LN, Sheu JC, Wang JT, et al. Serum hepatitis B virus DNA in healthy HBs-Ag-negative Chinese adults evaluated by polymerase chain reaction. *J Med Virol* 1990;32:257-260.
355. Shintani Y, Yotsuyanagi H, Moriya K, et al. The significance of hepatitis B virus DNA detected in hepatocellular carcinoma of patients with hepatitis C. *Cancer* 2000;88:2478-2486.
356. Shiota G, Oyama K, Udagawa A, et al. Occult hepatitis B virus infection in HBs antigen-negative hepatocellular carcinoma in a Japanese population: involvement of HBx and p53. *J Med Virol* 2000;62:151-158.



357. Silini E, Bono F, Cividini A, et al. Differential distribution of hepatitis C virus genotypes in patients with and without liver function abnormalities. *Hepatology* 1995;21:285-290.
358. Silini E, Bottelli R, Asti M, et al. Hepatitis C genotypes and risk of hepatocellular carcinoma in cirrhosis: a case-control study. *Gastroenterology* 1996;111:199.
359. Silva CMD, Costi C, Costa C, et al. Low rate of occult hepatitis B virus infection among anti-HBc positive blood donors living in a low prevalence region in Brazil. *J Infect* 2005;51:24-29.
360. Silva C, Gonçalves NSL, Pereira JSF, et al. The influence of occult infection with hepatitis B virus on liver histology and response to interferon treatment in chronic hepatitis C patients. *Braz J Infect Dis* 2004;8:431-439.
361. Silva ISS, Ferraz MLCG, Perez RM, et al. Role of  $\gamma$ -glutamyl transferase activity in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2004;19:314-318.
362. Simmonds P. Variability of hepatitis C virus. *Hepatology* 1995;21:570-583.
363. Simmonds PE, Alberti A, Alter HJ, et al. A proposed system for the nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology* 1994;19:1321-1324.
364. Soldan K, Barbara JA, Ramsay ME, Hall AJ. Estimation of the risk of hepatitis B virus, hepatitis C virus and human immunodeficiency virus infections donations entering the blood supply in England, 1993-2001. *Vox Sang* 2003;84:274-286.
365. Sonzogni L, Silvestri L, De Silvestri A, et al. Polymorphisms of microsomal epoxide hydrolase gene and severity of HCV-related liver disease. *Hepatology* 2002;36:195-201.
366. Soto B, Sanchez-Quijano A, Rodrigo L, et al. HIV infection modifies the natural history of chronic parentally acquired hepatitis C with an unusually rapid progression to cirrhosis. A multicenter study on 547 patients. *J Hepatol* 1997;26:1-5.

367. Spronk AM, Schmidt L, Krenc C, et al. Improvements in detection of antibody to hepatitis B core antigen by treating specimens with reducing agent in an automated microparticle enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol* 1991;29:611-616.
368. Squadrito G, Pollicino T, Cacciola I, et al. Occult hepatitis B virus infection is associated with the development of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients. *Cancer* 2006;106:1326-1330.
369. Stanley AJ, Haydon GH, Piris J, et al. Assessment of liver histology in patients with hepatitis C and normal transaminase levels. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1996;8:869-872.
370. Stransky J, Malina L, Cieslarova B, et al. Overt and hidden co-infection with hepatitis B and C viruses in chronic liver disease and porphyria cutanea tarda. *Acta Virol* 2000;44:23-28.
371. Sugawara Y, Makuuchi M, Takada K. Detection of hepatitis B virus DNA in tissues of hepatocellular carcinomas related to hepatitis C virus which are negative for hepatitis B virus surface antigen. *Scand J Gastroenterol* 1999;34:934-938.
372. Sûnbûl M, Leblebicioglu H, Esen sS, et al. Response to hepatitis B vaccine in HBsAg/anti-HBbs negative and anti-HBc positive subjects. *Scand J Infect Dis* 2000;32:315-316.
373. Tabor E, Gerety RJ, Druker JA, et al. Transmission of non-A, non-B hepatitis from man to chimpanzee. *Lancet* 1978;1:463-466.
374. Tagger A, Donato F, Ribero ML, et al. Case-control study on hepatitis C virus (HCV) as a risk factor for hepatocellular carcinoma: the role of HCV genotypes and the synergism with hepatitis B virus and alcohol. Brescia HCC Study. *Int J Cancer* 1999;81:695-699.
375. Takeuchi M, Fujimoto J, Niwamoto H, et al. Frequent detection of hepatitis B virus X-gene DNA in hepatocellular carcinoma and adjacent liver tissue in hepatitis B surface antigen-negative patients. *Dig Dis Sci* 1997;42:2264-2269.

376. Tamori A, Nishiguchi S, Kubo S, et al. Possible contribution to hepatocarcinogenesis of X transcript of hepatitis B virus in Japanese patients with hepatitis C virus. *Hepatology* 1999;29:1429-1434.
377. The French METAVIR Cooperative Study Group. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1994;20:15-20.
378. Thiers V, Lunel F, Valla D, et al. Post-transfusional anti-HCV-negative non-A non-B hepatitis – serological and polymerase chain reaction analysis for hepatitis C and hepatitis B viruses. *J Hepatol* 1993;18:34-39.
379. Thiers V, Nakajima E, Kremsdorf D, et al. Transmission of hepatitis from hepatitis B-seronegative subjects. *Lancet* 1988;ii:1273-1276.
380. Thomas DL, Astemborski J, Rai RM, et al. The natural history of hepatitis C virus infection: host, viral, and environmental factors. *JAMA* 2000;284:450-456.
381. Thomas DL, Vlahov D, Solomon L, et al. Correlates of hepatitis C virus infections among injection drug users. *Medicine (Baltimore)* 1995;74:212-220.
382. Thorpe LE, Ouellet LJ, Levi JR, et al. Hepatitis C virus infection: prevalence risk factors, and prevention opportunities among young injection drug users in Chicago, 1997-1999. *J Infect Dis* 2000;182:1588-1594.
383. Tong MJ, El-Farra NS, Reikes AR, et al. Clinical outcomes alter transfusion-associated hepatitis C. *N Engl J Med* 1995;332:1463-1466.
384. Torbenson M, Kannangai R, Astemborski J, et al. High prevalence of occult hepatitis B in Baltimore injection drug users. *Hepatology* 2004;39:51-57.
385. Torbenson M, Thomas DL. Occult hepatitis B. *Lancet Infect Dis* 2002;2:479-486.
386. Toyoda H, Fukuda Y, Koyama Y, et al. Effect of immunosuppression on composition of quasispecies population of hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis C coinfecting with human immunodeficiency virus. *J Hepatol* 1997;26:975-982.

387. Toyoda H, Kumada T, Kiriyama S, et al. Influence of age, sex, and degree of liver fibrosis on the association between serum alanine aminotransferase levels and liver inflammation in patients with chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci* 2004;49:295-299.
388. Tsuji H, Shimomura H, Fujio K, et al. Relationship of serum markers of hepatitis B and C replication in coinfecting patients. *Acta Med Okayama* 1998;52:113-118.
389. Uchida T, Kaneita Y, Gotoh K, et al. Hepatitis C virus is frequently coinfecting with serum marker-negative hepatitis B virus: probable replication promotion of the former by the latter as demonstrated by in vitro cotransfection. *J Med Virol* 1997;52:399-405.
390. Uemoto S, Sugiyama K, Marusawa H, et al. Transmission of hepatitis B virus from hepatitis B core antibody-positive donors in living related liver transplantation. *Transplantation* 1998;65:494-499.
391. Urashima T, Saigo K, Kobayashi S, et al. Identification of hepatitis B virus integration in hepatitis C virus-infected hepatocellular carcinoma tissues. *J Hepatol* 1997;26:771-778.
392. Vanderborght BO, et al. High prevalence of hepatitis C infection among Brazilians hemodialysis patients in Rio de Janeiro: a one-year follow-up study. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1995;37:75-79.
393. Vasconcelos HC, et al. Hepatitis B and C prevalences among blood donors in the south region of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1994;89:503-507.
394. Villa E, Grottola A, Buttafoco P, et al. Evidence for hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C with and without serological markers of hepatitis B. *Dig Dis Sci* 1995;40:8-13.
395. Villano SA, Vlahov D, Nelson KE, et al. Incidence and risk factors for hepatitis C among injection drug users in Baltimore, Maryland. *J Clin Microbiol* 1997;35:3274-3277.
396. Villarejos VM, Kirsten PH, Visona KA, et al. Evidence for viral hepatitis other than A or type B among persons in Costa Rica. *N Engl J Med* 1975;293:1350.

397. Vogt M, Lang T, Frösner G, et al. 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;341:866-870.
398. Wachs ME, Amend WJ, Ascher NL, et al. The risk of transmission of hepatitis B from HBsAg (-), HBcAb (+), HBIgM (-) organ donors. *Transplantation* 1995;59:230-234.
399. Wagner AA, Denis F, Weinbreck P, et al. Serological pattern "anti-hepatitis B core alone" in HIV or hepatitis C virus-infected patients is not fully explained by hepatitis B surface antigen mutants. *AIDS* 2004;18:569-571.
400. Wali M, Lewis S, Hubscher S, et al. Histological progression during short-term follow-up of patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat* 1999;6:445-452.
401. Wang YJ, Wang SS, Bickel M, et al. Two novel antifibrotics, HOE077 and Safironil, modulate stellate cell activation in rat liver injury: differential effects in males and females. *Am J Pathol* 1998;152:279-287.
402. Wang YM, Ng WC, Lo SK. Suppression of hepatitis C virus by hepatitis B virus in coinfecting patients at the National University Hospital of Singapore. *J Gastroenterol* 1999;34:481-485.
403. Wasley A, Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C: geographic differences and temporal trends. *Semin Liver Dis* 2000;20:1-16.
404. Weber B, Melchior W, Gehrke R, et al. Hepatitis B virus markers in anti-HBc only positive individuals. *J Med Virol* 2001;64:312-319.
405. Wedemeyer H, Cornberg M, Tegtmeyer B, et al. Isolated anti-HBV core phenotype in anti-HCV-positive patients is associated with hepatitis C virus replication. *Clin Microbiol Infect* 2004;10:70-72.
406. Weinberger KM, Bauer T, Böhm S, Jilg W. High genetic variability of the group-specific a-determinant of hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) and the corresponding fragment of the viral polymerase in chronic virus carriers lacking detectable HBsAg in serum. *J Gen Virol* 2000;81:1165-1174.

407. WHO. Global Surveillance and Control of Hepatitis C. Report of a WHO Consultation Organized in Collaboration with The Viral Hepatitis Prevention Board, Antwerp, Belgium. *J Viral Hepat* 1999;6:35-47.
408. Wiedmann M, Liebert UG, Oesen U, et al. Decreased immunogenicity of recombinant hepatitis B vaccine in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2000;31:230-234.
409. Wietzke P, Schott P, Braun F, et al. Clearance of HCV RNA in a chronic hepatitis C virus-infected patient during acute hepatitis B virus superinfection. *Liver* 1999;19:348-353.
410. Wiley TE, Brown J, Chan J. Hepatitis C virus infection in African Americans: its natural history and histological progression. *Am J Gastroenterol* 2002;97:700-706.
411. Wiley TE, McCarthy M, Breidi L, et al. Impact of alcohol on the histological and clinical progression of hepatitis C infection. *Hepatology* 1998;28:805-809.
412. Wong DC, Purcell RH, Sreenivasan MA, et al. Epidemic and endemic hepatitis in India: evidence for non-A/non-B hepatitis virus etiology. *Lancet* 1980;2:876.
413. Wong V, Caronia S, Wight D, et al. Importance of age in chronic hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat* 1997;4:255-264.
414. Wright M, Goldin R, Fabre A, et al, on behalf of the HENCORE collaboration. Measurement and determinants of the natural history of liver fibrosis in hepatitis C virus infection: a cross sectional and longitudinal study. *Gut* 2003a;52:574-579.
415. Wright M, Goldin R, Hellier S, et al. Factor V Leiden polymorphism and the rate of fibrosis development in chronic hepatitis C virus infection. *Gut* 2003b;52:1206-1210.
416. Wright TL, Mamish D, Combs C, et al. Hepatitis B virus and apparent fulminant non-A, non-B hepatitis. *Lancet* 1992;339:952-955.
417. Wynne HA, Cope LH, Mutch E, et al. The effect of age upon liver volume and apparent liver blood flow in healthy man. *Hepatology* 1989;9:297-301.

418. Yamada M, Kakomu S, Yoshioka K, et al. Hepatitis C virus genotypes are not responsible for the development of serious liver disease. *Dig Dis Sci* 1994;39:234-239.
419. Yano M, Kumada H, Kage M, et al. The long-term pathological evolution of chronic hepatitis C. *Hepatology* 1996;23:1334.
420. Yasuda M, Shimizu I, Shiba M, Ito S. Suppressive effects of estradiol on dimethylnitrosamine-induced fibrosis of the liver in rats. *Hepatology* 1999;29:719-727.
421. Yeo AET, Ghany M, Conry-Cantilena C, et al. Stability of HCV-RNA level and its lack of correlation with disease severity in asymptomatic chronic hepatitis C virus carriers. *J Viral Hepat* 2001;8:256-263.
422. Yeung LT, King SM, Roberts EA. Mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. *Hepatology* 2001;34:223-229.
423. Yotsuyanagi H, Koike K, Yasuda K, et al. Hepatitis C virus genotypes and development of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1995;76:1352-1355.
424. Yotsuyanagi H, Shintani Y, Moriya K, et al. Virologic analysis of non-B, non-C hepatocellular carcinoma in Japan: frequent involvement of hepatitis B virus. *J Infect Dis* 2000;181:1920-1928.
425. Yotsuyanagi H, Yasuda K, Iino S, et al. Persistent viremia after recovery from self-limited acute hepatitis B. *Hepatology* 1998;27:1377-1388.
426. Yu MC, Yuan JM, Ross RK, Govindarajan S. Presence of antibodies to the hepatitis B surface antigen associated with an excess risk for hepatocellular carcinoma among non-Asians in Los Angeles County, California. *Hepatology* 1997;25:226-228.
427. Yuki N, Nagaoka T, Yamashiro M, et al. Long-term histologic and virologic outcomes of acute self-limited hepatitis B. *Hepatology* 2003;37:1172-1179.
428. Zarski JP, Bohn B, Bastie A, et al. Characteristics of patients with dual infection by hepatitis B and C virus. *J Hepatol* 1998;28:27-33.

429. Zeuzem S, Feinman SV, Rasenack J, et al. Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 2000;343:1666-1672.
430. Zeuzem S, Franke A, Lee J-H, et al. Phylogenetic analysis of hepatitis C virus isolates and their correlation to viremia, liver function tests, and histology. *Hepatology* 1996;24:1003-1009.
431. Zhang YY, Hansson BG, Kuo LS, et al. Hepatitis B virus DNA in serum and liver is commonly found in Chinese patients with chronic liver disease despite the presence of antibodies to HBsAg. *Hepatology* 1993;17:538-544.
432. Zhou S, Terrault MA, Ferrell L, et al. Severity of liver disease in liver transplantation recipients with hepatitis C virus infection: relationship to genotype and level of viremia. *Hepatology* 1996;24:1041-1046.
433. Zignego AL, Bréchet C. Extrahepatic manifestations of HCV infection: facts and controversies. *J Hepatol* 1999;31:369-376.
434. Zignego AL, Fontana R, Puliti S, et al. Impaired response to alpha interferon in patients with an inapparent hepatitis B and hepatitis C virus coinfection. *Arch Virol* 1997;142:535-544.
435. Zignego AL, Foschi M, Laffi G, et al. "Inapparent" hepatitis B virus infection and hepatitis C virus replication in alcoholic subjects with and without liver disease. *Hepatology* 1994;19:577-582.



## ABSTRACT

**Background:** Occult hepatitis B virus (HBV) infection is defined by the presence of HBV-DNA by PCR in serum or liver tissue samples from HBsAg-negative individuals. Recent reports suggest that hepatitis C virus (HCV) carriers who also harbor this silent infection have more advanced liver fibrosis, reduced response to interferon, and increased risk of developing hepatocellular carcinoma. Similar findings have been described among chronic hepatitis C patients with serological markers of prior HBV infection (anti-HBc positive, with or without anti-HBs), irrespective of HBV-DNA detection. However, these studies have failed to appropriately control for factors known to impact HCV-related fibrogenesis including duration of infection, alcohol abuse, and age at infection. **Aims:** To assess the prevalence and impact of occult and previous HBV infection on clinical, biochemical, virological and histological features in patients with chronic hepatitis C from a liver clinic cohort. **Methods:** This case-control study included non-alcoholic subjects whose sera tested negative for HBsAg and anti-HIV, and positive for HCV-RNA. All patients had prior parenteral exposure as the probable source of HCV infection (blood transfusions or IV drug use). Serum samples were collected within 6 months of liver biopsy and were tested for HBV-DNA using a commercial PCR assay with sensitivity of  $10^3$  copies/mL (Amplicor HBV MONITOR® Test, Roche). METAVIR scoring system was applied for grading necroinflammatory activity and staging fibrosis. **Results:** One hundred and eleven patients were evaluated. Forty six percent were male and 82% reported past transfusion of blood derivatives. The mean age at infection and the estimated duration of infection were  $25.5 \pm 12.4$  and  $21.9 \pm 6.5$  years, respectively. Thirty-one out of 111 patients (28%) tested positive for anti-HBc. HBV-DNA was not detected in any sample. There were no differences between anti-HBc-positive and -negative patients concerning gender, age at infection, estimated duration of infection, ethnicity, source of HCV infection, and prevalence of hepatic decompensation. In addition, HCV genotyping distribution were not influenced by anti-HBc status. However, anti-HBc-positive patients showed lower albumin levels ( $P = 0.001$ ), lower prothrombin activity ( $P = 0.046$ ) and higher levels of ALT ( $P = 0.052$ ), AST ( $P = 0.004$ ), and GGT ( $P = 0.010$ ). These patients also showed higher histological grading ( $P < 0.001$ ) and staging scores ( $P = 0.001$ ), and higher rate of fibrosis progression (RFP) ( $P = 0.002$ ) as compared to those who tested negative for anti-HBc. By multivariate analysis, ALT  $> 2x$  upper limit of normal (ULN) (OR = 4.460;  $P = 0.002$ ), GGT  $> 1.5x$  ULN (OR = 7.582;  $P < 0.001$ ) and anti-HBc-positivity (OR = 4.009;  $P = 0.019$ ) were predictive of moderate to severe necroinflammatory activity (A2/A3). Anti-HBc-positivity (OR = 3.364;  $P = 0.017$ ) and age at infection  $> 30$  years (OR = 4.252;  $P = 0.002$ ) were independently associated with significantly hepatic fibrosis (F2/F3/F4). Likewise, independent predictors of rapid fibrosis progression, defined as a RFP  $> 0,133$  fibrosis unit/year, were age at infection  $> 30$  years (OR = 2.913;  $P = 0.033$ ) and anti-HBc-positivity (OR = 3.241;  $P = 0.015$ ). The median duration from HCV infection to cirrhosis was 26 years (20 to 44) in anti-HBc-positive patients who were infected with HCV when older than 30 years. On the other hand, among anti-HBc-negative subjects who acquired HCV before the age of 30, the expected time to cirrhosis was 80 years (60 to 93) ( $P < 0,001$ ). **Conclusions:** Previous HBV infection is common among HCV-infected individuals and may exert a negative impact on the natural history of hepatitis C virus infection. This effect seems to be independent of the presence of occult HBV infection.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)