

**MARCIA FERREIRA DA COSTA**

**Esteato-hepatite não alcoólica e esteatose em  
hepatite crônica pelo vírus C: prevalência e relações  
entre dados demográficos e clínico-laboratoriais com  
parâmetros histopatológicos**

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

Área de concentração: Patologia  
Orientadora: Profa. Dra. Edna Strauss

**SÃO PAULO  
2010**

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

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

©reprodução autorizada pelo autor

Costa, Marcia Ferreira da

Esteato-hepatite não alcoólica e esteatose em hepatite crônica pelo vírus C :  
prevalência e relações entre dados demográficos e clínico-laboratoriais com  
parâmetros histopatológicos / Marcia Ferreira da Costa. -- São Paulo, 2010.

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

Departamento de Patologia .

Área de concentração: Patologia.

Orientador: Edna Strauss

Descritores: 1.Hepatite C crônica 2.Fígado gorduroso 3.Hepatopatias  
4.Fígado/anatomia & histologia

USP/FM/SBD-105/10

*A curiosidade como inquietação indagadora, como inclinação ao desvelamento de algo, como pergunta verbalizada ou não, como procura de esclarecimento, como sinal de atenção que sugere alerta faz parte integrante do fenômeno vital.*

*Não haverá criticidade sem a curiosidade que nos põe pacientemente impacientes diante do mundo que não fizemos, acrescentando algo a ele que fazemos*

Paulo Freire

## Dedicatória

Às minhas filhas, Nathália e Helena, e a meu marido, Klinger, por me ensinarem a valorizar cada momento da vida.

A meu pai, Nelson, pelo exemplo de amor, ética e profundo apego à Medicina, essências de minha formação.

A minha mãe, pelo apoio, amor e atenção que sempre recebi.

## **AGRADECIMENTOS**

À Profa. Dra. Edna Strauss, minha orientadora, pilar da minha formação na área da Hepatologia. Professora dedicada, crítica, indagadora, estusiasta do conhecimento! Profissional íntegra, ética e apaixonada pela Medicina! Compreensiva nos momentos de inquietação e insegurança que passei, insuflou, com seu apoio, “vida” ao meu trabalho. Amiga, compartilhamos momentos de vida nos últimos três anos que só fizeram aumentar a minha profunda admiração.

Ao Prof. Dr. Venâncio Avancini Ferreira Alves, Professor Titular de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, incansável na busca e na disseminação do conhecimento acadêmico da Patologia para o enriquecimento de seus alunos. Agradeço em especial, à sua dedicação ao estudo histológico desta tese, o que acendeu meu interesse científico por minúcias até então não percebidas.

À Profa. Cláudia Pinto Marques Souza de Oliveira e ao Prof. Dr. Evandro Sobroza de Mello, cujos ensinamentos e críticas construtivas resultaram em valiosas contribuições.

À Profa. Dra. Maria de Fátima Gomes de Sá Ribeiro, médica profundamente dedicada aos seus pacientes, professora preocupada em transmitir valores éticos e compartilhar seu conhecimento.

À Cacilda Pedrosa de Oliveira, amiga inseparável, com quem compartilhei conhecimentos na residência médica e que muito me apoiou no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Monir Hanania, pela oportunidade de ingresso na vida acadêmica e por seu devotamento à atividade didática. Agradeço por seu intermédio ao apoio de todos os meus colegas docentes da Propedêutica Clínica da Faculdade de Medicina da Fundação do ABC.

Ao Klinger Luiz de Oliveira Sousa, meu marido, pela atenção às nossas filhas, respeito ao meu trabalho, contínua procura do saber e pelo exemplo de superação dos obstáculos.

À Nathália da Costa Sousa, pelo exemplo de filha dedicada. Em seu nome agradeço também a todos os meus alunos da Faculdade de Medicina da Fundação do ABC, ansiosos pelo conhecimento e responsáveis pelo meu empenho no contínuo aprimoramento educacional.

À Helena da Costa Sousa, minha filha, modelo de felicidade e de manifestação de carinho.

Aos meus pais, Nelson e Nely, e a minha irmã Leila, pelo apoio nos momentos difíceis e pela vibração nas conquistas.

À Regina Gomes dos Santos, pelo apoio, amizade e exemplo de profissionalismo.

Ao meu colega de doutorado, Francisco Ferreira Porto, pelo apoio e compreensão.

À secretária Liduvina da Silva Neta de Barros, pelo empenho no cumprimento do cronograma da pós-graduação.

Aos funcionários do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo pelo apoio na execução deste trabalho.

Aos pacientes deste e dos demais estudos ao longo de minha vida profissional, que contribuíram para a minha inquietação diante de seus momentos difíceis.



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

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

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

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

## SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas	
Lista de figuras	
Lista de tabelas	
Lista de gráficos	
Resumo	
Summary	
1 INTRODUÇÃO.....	01
2 OBJETIVOS.....	08
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	10
3.1 Hepatite crônica pelo vírus C.....	11
3.1.1 O vírus e seus genótipos.....	11
3.1.2 História natural da doença.....	12
3.1.3 Fatores prognósticos.....	13
3.1.4 Avaliação histopatológica e conduta terapêutica.....	15
3.2 Doença hepática gordurosa não alcoólica.....	17
3.2.1 Fatores associados à DHGNA.....	18
3.2.2 História natural.....	19
3.2.3 Síndrome metabólica e patogênese da DHGNA.....	20
3.2.4 Avaliação histopatológica.....	22
3.3 Interação entre hepatite crônica pelo vírus C e esteatose hepática.....	24
3.3.1 Conceitos básicos.....	24
3.3.2 Fatores associados à interação entre DHGNA e hepatite crônica pelo VHC.....	25
3.3.3 Mecanismo viral induzido.....	26
3.3.4 Mecanismo metabólico induzido.....	28
3.3.5 História natural.....	30
4 MÉTODOS.....	32
4.1 Delineamento e local do estudo.....	33
4.2 Considerações éticas.....	34
4.3 População do estudo.....	34
4.3.1 Critérios de inclusão.....	34
4.3.2 Critérios de exclusão.....	36
4.4 Avaliação clínica e laboratorial.....	39
4.4.1 Avaliação clínica.....	39
4.4.2 Avaliação laboratorial.....	41
4.5 Indicação de rebiópsia e avaliações comparativas.....	42
4.5.1 Indicação de rebiópsia.....	42
4.5.2 Avaliações comparativas.....	43
4.6 Análise histológica.....	43
4.7 Graduação de achados histopatológicos em relação aos dados clínico-laboratoriais.....	49

4.8 Definição de grupos histopatológicos.....	51
4.9 Variáveis estudadas.....	53
4.10 Análise estatística.....	55
5 RESULTADOS.....	56
5.1 Caracterização clínico-laboratorial dos pacientes.....	57
5.2 Graduações de achados histopatológicos em relação aos dados clínico-laboratoriais.....	63
5.3 Avaliação do desenvolvimento da fibrose perivenular e perissinusoidal e associação com a glicemia de jejum.....	76
5.4 Fatores associados a maiores alterações de parâmetros histopatológicos.....	77
5.5 Caracterização dos pacientes com esteatose e hepatite crônica pelo vírus C.....	82
5.6 Caracterização dos pacientes com esteato-hepatite e hepatite crônica pelo vírus C.....	84
5.7 Fatores associados à progressão da fibrose em biópsias seriadas.....	88
5.8 Estudo comparativo entre os grupos com hepatite crônica pelo vírus C (HCVC) sem esteatose, HCVC com esteatose e HCVC associada com EHNA.....	91
5.9 Estudo comparativo dos 79 pacientes com genótipos 1 e 3 entre os grupos, hepatite crônica pelo vírus C (HCVC), hepatite crônica pelo vírus C associada à esteatose (HCVC com esteatose) e hepatite crônica pelo vírus C associada com esteato-hepatite não alcoólica (HCVC com EHNA), considerando o grau de fibrose à biópsia inicial.....	94
6 DISCUSSÃO.....	99
6.1 Análise das características clínico-laboratoriais dos pacientes em estudo.....	107
6.2 Fatores associados aos achados histopatológicos.....	108
6.3 Variáveis clínico-laboratoriais associadas aos parâmetros histopatológicos.....	113
6.4 Prevalência de esteatose e esteato-hepatite na hepatite crônica pelo vírus C.....	118
6.5 Análise comparativa entre os grupos histopatológicos.....	123
6.6 Análise da progressão da fibrose em biópsias pareadas.....	132
6.7 Considerações finais.....	133
7 CONCLUSÕES.....	136
8 ANEXOS.....	139
9 REFERÊNCIAS.....	156

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG	Ácidos graxos
AGL	Ácidos graxos livres
ALT	Alanina aminotransferase
ANOVA	<i>Analysis of variance</i>
Anti-VHC	Anticorpo antivírus da hepatite C
Apo-B	Apolipoproteína B
APRI	<i>AST-to-platelet ratio index</i>
AST	Aspartato aminotransferase
ATP III	<i>Adult Treatment Panel III</i>
CAPPesq	Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CPT1A	<i>Carnitine palmitoyl acyl-CoA transferase 1</i>
CYP2E1	<i>Cytochrome P4502E1</i>
CYP4A	<i>Cytochrome P4504A</i>
DHGNA	Doença hepática gordurosa não alcoólica
DM	<i>Diabetes mellitus</i>
dp	Desvio-padrão
EHNA	Esteato-hepatite não alcoólica
ERO	Espécies reativas de oxigênio
EUA	Estados Unidos da América
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HCVC	Hepatite crônica pelo vírus C
HDL-Colesterol	Lipoproteína de alta densidade
HOMA-IR	<i>Homeostasis model assessment – Insulin resistance</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Intervalo de confiança
IL-6	Interleucina-6
IMC	Índice de massa corpórea
INR	Relação normatizada internacional

IRS-1 e IRS-2	<i>Insulin receptor substrate</i>
LSN	Limite superior normal
LTCD4+	Linfócitos T citotóxicos D4+
LTCD8+	Linfócitos T citotóxicos D8+
MTP	<i>Microsomal triglyceride transfer protein</i>
NS5A	Proteína não estrutural da região NS5A
OR	<i>Odds ratio</i>
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PPAR $\alpha$	<i>Peroxisome proliferator-activated receptor-<math>\alpha</math></i>
RI	Resistência insulínica
RNA	Ácido ribonucleico
RVP	Resposta virológica precoce
RVS	Resposta virológica sustentada
SBH	Sociedade Brasileira de Hepatologia
SBP	Sociedade Brasileira de Patologia
SOC3	<i>Suppressor of cytokine signalling 3</i>
SREBP	<i>Sterol response element-binding proteins</i>
STAT-1	<i>Signal transducer &amp; activator of transcription 1</i>
STAT-3	<i>Signal transducer and activator of transcription 3</i>
TAP	Tempo de atividade de protrombina
TGF- $\beta$	Fator transformador de crescimento $\beta$
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral $\alpha$
VHC	Vírus da hepatite C
VLDL-Colesterol	Lipoproteína de densidade muito baixa

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Hepatite crônica com alteração estrutural grau 1: infiltrado inflamatório portal grau 2, atividade periportal grau 2 (Coloração: hematoxilina-eosina, aumento original de 200x).....	67
Figura 2 -	Hepatite crônica associada a esteatose com alteração estrutural grau 2: infiltrado inflamatório portal grau 3, atividade periportal grau 3, atividade parenquimatosa grau 2, esteatose macrovacuolar grau 2, reação ductular grau 2 (Coloração: hematoxilina-eosina, aumento original de 100x).....	69
Figura 3 -	Hepatite crônica associada a esteato-hepatite não alcoólica com alteração estrutural grau 2: fibrose centrolobular grau 2 e fibrose perissinusoidal grau 2 (Coloração: picrosirius, aumento original de 100 x).....	72
Figura 4 -	Hepatite crônica associada a esteato-hepatite não alcoólica com alteração estrutural grau 3: fibrose centrolobular e perissinusoidal grau 2 (Coloração: hematoxilina-eosina, aumento original de 200 x).....	72
Figura 5 -	Hepatite crônica associada a esteato-hepatite não alcoólica com alteração estrutural grau 2: corpúsculos hialinos de Mallory-Denk grau 2 (Coloração: hematoxilina-eosina, aumento original de 200 x).....	75
Figura 6 -	Hepatite crônica associada a esteato-hepatite não alcoólica com alteração estrutural grau 2: esteatose macrovacuolar e microvacuolar grau 1, balonização hepatocelular grau 2 e corpúsculos hialinos de Mallory-Denk grau 2 (Coloração: hematoxilina-eosina, aumento original de 400 x).....	75
Figura 7 -	Hepatite crônica associada a esteato-hepatite não alcoólica com alteração estrutural grau 2: infiltrado inflamatório portal grau 2, atividade periportal grau 2, atividade parenquimatosa grau 2, esteatose macrovacuolar grau 2, balonização hepatocelular grau 2 (Coloração: hematoxilina-eosina, aumento original de 100 x).....	86
Figura 8 -	Hepatite crônica associada a esteato-hepatite não alcoólica: esteatose macrovacuolar grau 2, esteatose microvacuolar grau 1, balonização hepatocelular grau 2 (Coloração: hematoxilina-eosina, aumento original de 200 x).....	86

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Equivalência dos sistemas de classificação das hepatites crônicas.....	46
Tabela 2-	Características clínicas dos 81 pacientes incluídos no estudo.....	58
Tabela 3-	Prevalência das condições clínicas nos 81 pacientes.....	58
Tabela 4-	Análise descritiva do perfil laboratorial dos 81 pacientes relacionados às duas biópsias.....	60
Tabela 5-	Análise descritiva da histologia hepática inicial nos 81 pacientes.....	62
Tabela 6-	Análise descritiva de alteração arquitetural na rebiópsia dos 81 pacientes.....	63
Tabela 7-	Dados clínicos e laboratoriais relacionados a diferentes graus de alterações estruturais em biópsias pareadas.....	64
Tabela 8-	Dados clínicos e laboratoriais relacionados a diferentes graus de atividade inflamatória portal.....	65
Tabela 9-	Dados clínicos e laboratoriais relacionados a diferentes graus de atividade inflamatória periportal e atividade lobular.....	68
Tabela 10-	Dados clínicos e laboratoriais relacionados a diferentes graus de esteatose macrovacuolar e esteatose microvacuolar.....	70
Tabela 11-	Dados clínicos e laboratoriais relacionados a diferentes graus de fibrose perivenular e fibrose perissinusoidal.....	71
Tabela 12-	Dados clínicos e laboratoriais relacionados a diferentes graus de balonização e corpúsculos hialinos de Mallory-Denk.....	74
Tabela 13-	Graduação de esteatose macrovacuolar correlacionada a diferentes graduações de fibrose perivenular e níveis de glicemia.....	76
Tabela 14-	Graduação de esteatose macrovacuolar correlacionada a diferentes graduações de fibrose perissinusoidal e níveis de glicemia.....	77

Tabela 15-	Análise univariada dos fatores clínicos e laboratoriais associados à esteatose macrovacuolar.....	79
Tabela 16-	Análise multivariada dos fatores clínicos e laboratoriais associados à presença de corpúsculos hialinos de Mallory- Denk.....	80
Tabela 17-	Análise multivariada dos fatores clínicos e laboratoriais associados à fibrose perivenular.....	80
Tabela 18-	Prevalência de genótipo viral nos 81 pacientes com ou sem esteatose macrovacuolar.....	82
Tabela 19-	Prevalência de esteatose macrovacuolar nos 81 pacientes em relação ao IMC.....	83
Tabela 20-	Indicação de tratamento antiviral nos 81 pacientes em relação à presença ou ausência de esteatose macrovacuolar.....	84
Tabela 21-	Prevalência de genótipo viral nos 81 pacientes com ou sem esteato-hepatite associada.....	84
Tabela 22-	Prevalência de esteato-hepatite nos 81 pacientes em relação ao IMC.....	85
Tabela 23-	Prevalência de esteato-hepatite nos 81 pacientes em relação à presença ou ausência de dislipidemia.....	85
Tabela 24-	Indicação de tratamento antiviral nos 81 pacientes em relação à presença ou ausência de esteato-hepatite.....	87
Tabela 25-	Progressão da fibrose nos pacientes sem indicação de tratamento nos grupos sem esteatose, com esteatose e com esteato-hepatite associada.....	89
Tabela 26-	Progressão da fibrose nos pacientes submetidos ao tratamento nos grupos sem esteatose, com esteatose e com esteato-hepatite associada.....	89
Tabela 27-	Progressão da fibrose em relação ao perfil lipídico da síndrome metabólica.....	90
Tabela 28-	Progressão da fibrose em relação à presença de esteato-hepatite.....	90



## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Distribuição dos 150 pacientes que participaram inicialmente do estudo.....	38
Gráfico 2 -	Distribuição dos genótipos 1 e 3 do vírus C nos 79 pacientes de acordo com os grupos sem esteatose, com esteatose pura e com esteato-hepatite associada.	91
Gráficos 3 e 4 -	Distribuição do IMC e perfil lipídico da síndrome metabólica nos 79 pacientes de acordo com os grupos sem esteatose, com esteatose pura e com esteato-hepatite associada.....	92
Gráfico 5 -	Indicação de tratamento nos 79 pacientes de acordo com os grupos sem esteatose, com esteatose pura e com esteato-hepatite associada.....	93
Gráfico 6 -	Distribuição de fibrose grau 0-1 e grau 2-4 nos 67 pacientes com genótipo 1, de acordo com os grupos sem esteatose, com esteatose pura e com esteato-hepatite associada.....	95
Gráfico 7 -	Distribuição de fibrose grau 0-1 e grau 2-4 nos 55 pacientes com faixa etária menor que 45 anos, de acordo com os grupos sem esteatose, com esteatose pura e com esteato-hepatite associada.....	96
Gráficos 8 e 9 -	Distribuição de fibrose grau 0-1 e grau 2-4 nos 32 pacientes do sexo feminino e 47 pacientes do sexo masculino, de acordo com os grupos sem esteatose, com esteatose pura e com esteato-hepatite associada.	97
Gráfico 10 -	Distribuição de fibrose grau 0-1 e grau 2-4 nos 79 pacientes com IMC $\geq$ 25, de acordo com os grupos sem esteatose, com esteatose pura e com esteato-hepatite associada.....	98

## RESUMO

Costa MF. *Esteato-hepatite não alcoólica e esteatose em hepatite crônica pelo vírus C: prevalência e relações entre dados demográficos e clínico-laboratoriais com parâmetros histopatológicos* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2010. 182 p.

A hepatite crônica pelo vírus C é a principal causa de doença hepática crônica progressiva e complicações relacionadas, como a cirrose hepática e o carcinoma hepatocelular. O estadiamento de fibrose e a graduação da atividade necroinflamatória são excelentes preditores de progressão da doença na hepatite crônica pelo vírus C (HCVC). A epidemia global de obesidade e *diabetes mellitus* é responsável pela crescente incidência da doença hepática gordurosa não alcoólica, caracterizada por achados histológicos que variam da esteatose “pura” até a esteato-hepatite não alcoólica (EHNA), com potencial risco de evolução para a cirrose hepática e suas complicações. Na HCVC, fatores virais e do hospedeiro podem contribuir para a associação com a doença hepática gordurosa não alcoólica. Não há consenso sobre a prevalência de esteatose e esteato-hepatite não alcoólica em pacientes com HCVC, com ampla variabilidade na dependência do genótipo viral, fatores metabólicos da população em estudo e variáveis histológicas utilizadas para a definição. **Objetivos:** a) Definir a prevalência de esteatose hepática e da esteato-hepatite não alcoólica em pacientes com hepatite crônica pelo vírus C; b) Avaliar a relação entre variáveis clínico-laboratoriais e diferentes graduações de parâmetros histopatológicos; c) Avaliar a influência da EHNA na progressão da fibrose; d) Determinar os fatores virais e do hospedeiro associados a diferentes grupos histológicos, assim definidos: hepatite crônica pelo vírus C (HCVC), hepatite crônica com esteatose (>5%), hepatite crônica associada à esteato-hepatite não alcoólica (esteatose + fibrose perissinusoidal); e) Determinar fatores virais e do hospedeiro associados aos grupos HCVC, HCVC com esteatose e HCVC com EHNA, considerando estadiamento maior de fibrose à biópsia inicial. **Métodos:** Em 81 pacientes com HCVC seguidos no ambulatório de hepatites crônicas, parâmetros clínico-laboratoriais foram relacionados ao estadiamento da fibrose em biópsias pareadas. Dentre os dados clínicos, a síndrome metabólica foi definida pelo critério do ATP III. À biópsia inicial, achados histopatológicos de HCVC e doença hepática gordurosa não alcoólica foram graduados como ausente/leve ou moderado/intenso. Posteriormente, excluindo os pacientes com o genótipo do VHC tipo 2, dados clínicos e laboratoriais e estágios de fibrose 0-1 ou 2-4 foram analisados em pacientes com hepatite crônica pelo vírus C divididos em três grupos: HCVC sem esteatose, HCVC com esteatose e HCVC com esteato-hepatite não alcoólica (EHNA), definida pela associação com

balonização e fibrose perissinusoidal. **Resultados:** A idade avançada esteve associada a estágio maior de fibrose e atividade inflamatória portal e periportal; o escore de APRI – “AST / Platelets Relation Index” foi associado a estágios maiores de fibrose e maior atividade necroinflamatória. Na análise multivariada, o perfil lipídico da síndrome metabólica foi associado à fibrose perivenular enquanto a glicemia elevada esteve associada ao hialino de Mallory-Denk. Esteatose isolada esteve presente em 35 (43.2%) e associada a EHNA em 21 (25.9%) dos pacientes. O genótipo 3 do vírus da hepatite C foi mais prevalente nos pacientes com HCVC com esteatose ou EHNA, porém evolução para estágios maiores de fibrose associou-se ao genótipo viral 1 ( $p= 0.000$ ). A presença de HCVC + EHNA esteve associada com fibrose  $\geq 2$  em pacientes com menos de 45 anos, independentemente do sexo. Sobrepeso ou obesidade também estiveram associados à fibrose intensa ( $p < 0.05$ ). Em biópsias pareadas, o perfil lipídico de síndrome metabólica foi o único parâmetro associado com progressão da fibrose ( $p= 0.012$ ). **Conclusão:** a) A associação de esteatose e esteato-hepatite não alcoólica é elevada em pacientes com HCVC, sendo mais frequente no genótipo viral 3; b) Fatores metabólicos, como o sobrepeso ou obesidade e a presença do perfil lipídico da síndrome metabólica, estiveram associados à esteatose e EHNA em pacientes com HCVC; c) A associação de NASH com hepatite crônica pelo vírus C pode modificar a evolução da doença e demandar atenção cuidadosa desses pacientes.

Descritores: 1.Hepatite C crônica 2.Fígado gorduroso 3.Hepatopatias  
4.Fígado/anatomia & histologia

## SUMMARY

Costa MF. *Nonalcoholic steatohepatitis and steatosis in chronic hepatitis C: prevalence and the relationship between demographic, clinical and laboratory data with histopathological parameters* [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2010. p. 182

Chronic hepatitis C is the leading cause of progressive liver damage and related complications, such as cirrhosis and primary hepatocellular carcinoma. Fibrosis stage and necro-inflammatory activity grade are good predictors of disease progression in chronic hepatitis C (CHC). The global epidemic of obesity and diabetes are associated with the increasing incidence of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD), ranging from the “pure” steatosis to nonalcoholic steatohepatitis (NASH), the latter with the potential to progress to cirrhosis and its complications. In CHC patients, viral and host factors may contribute to the association with NAFLD. There is no consensus about the prevalence of steatosis and NASH in CHC patients, with variability depending on the genotype, host metabolic conditions and histological variables. **Objectives:** a) To define the prevalence of steatosis and nonalcoholic steatohepatitis in CHC patients; b) To assess the relationship between various clinical and laboratory data and the grading of histological parameters; c) To evaluate the influence of NASH in the progression of fibrosis; d) To determine viral and host factors associated with different histopathological groups classified as: CHC alone, CHC with steatosis (> 5%) and CHC with NASH (steatosis + perisinusoidal fibrosis); e) To determine viral and host factors associated with higher stages of fibrosis in the three groups. **Methods:** We investigated clinical and laboratory data in 81 CHC patients under scrutiny in a public tertiary hospital and related them to fibrosis stage at paired biopsies. Among clinical data, metabolic syndrome was defined according to ATP III. At initial biopsy, histopathological features of chronic hepatitis C and nonalcoholic steatohepatitis were graded as absent/light or moderate/severe. Later on, except for genotype 2 patients, we analysed clinical, biochemical data and stage of fibrosis 0-1 vs. 2-4 among CHC patients divided into three groups: without steatosis, with steatosis and with nonalcoholic steatohepatitis (NASH). **Results:** In multivariate analysis, lipid profile of metabolic syndrome was associated with perivenular fibrosis whereas elevated glycemia levels were associated with Mallory’s hyaline. Steatosis was present in 35 (43.2%) and NASH in 21 (25.9%) patients. HCV genotype 3 was more prevalent among CHC patients associated with steatosis or NASH but higher fibrosis stages were associated with HCV genotype 1 ( $p = 0.000$ ). The presence of CHC + NASH was associated with fibrosis  $\geq 2$  in patients under 45 years, irrespective of sex ( $p < 0.05$ ). Overweight and obesity ( $p < 0.05$ ) were also related to severe fibrosis ( $p < 0.05$ ). In paired biopsies, lipid profile of metabolic syndrome was the only parameter associated with progression of fibrosis ( $p = 0.012$ ). **Conclusion:** a)

Steatosis and nonalcoholic steatohepatitis are frequent histopathological features in our CHC patients, especially in HCV genotype 3; b) Metabolic factors, like overweight, obesity and lipid profile of metabolic syndrome were associated with steatosis and NASH in CHC patients; c) The association of NASH in chronic hepatitis C may modify the outcome of CHC and demand close examination.

Descriptors: 1.Chronic hepatitis C 2.Fatty liver 3.Liver diseases  
4.Liver/anatomy & histology

## **1 INTRODUÇÃO**

A infecção crônica pelo vírus da hepatite C (VHC) é a principal causa de cirrose e indicação de transplante hepático no Ocidente (Gane, 2003). Dados da *World Health Organization* estimam que 3% da população mundial estavam infectados pelo vírus C em 2000, enquanto dados mais recentes sugerem prevalência mundial de 3,3%, com diferentes padrões de distribuição relacionados a região geográfica e temporal (C. Everett Koop Institute, 2008). Dados do Ministério da Saúde (2009) contabilizam 93238 casos confirmados de hepatite C no Brasil entre 1996 e 2006, com prevalência de distribuição de 52,5% na região Sudeste, 31,9% na região Sul, 6,5% na região Centro-Oeste, 6,2% na região Nordeste e 2,9% na região Norte.

A importância da infecção crônica pelo VHC reside na potencial evolução para cirrose e carcinoma hepatocelular, sendo a cirrose a consequência final da progressão da fibrose (NIHCDC, 2002). O tempo de evolução para cirrose, entre 10 e 30 anos, contribui para a elevada morbidade e mortalidade na hepatite C.

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) caracteriza-se pelo acúmulo de gordura, principalmente triglicérides, nos hepatócitos, excedendo 5% do peso hepático, em pacientes sem história de excessivo consumo de álcool. A DHGNA engloba um espectro de condições patológicas que vai desde a esteatose pura para a esteato-hepatite, fibrose, cirrose até o câncer hepático. De particular importância é a distinção entre

esteatose pura e esteato-hepatite não alcoólica (EHNA), sendo a primeira de condição benigna e reversível enquanto a segunda apresenta potencial evolução para cirrose e carcinoma hepatocelular (Neuschwander-Tetri e Caldwell, 2003). A esteato-hepatite não alcoólica foi descrita por Ludwig *et al.* em 1980, com achados histológicos de esteatose, balonização e inflamação na ausência de hepatite viral crônica e álcool.

A prevalência de DHGNA e EHNA é de difícil uniformização, dependendo das variáveis anátomopatológicas utilizadas para seu diagnóstico, do modelo de estudo epidemiológico, além de variações fenotípicas. Mesmo assim, é considerada atualmente uma das principais causas de doença hepática crônica com prevalências variando entre 14-39% de DHGNA e entre 1,2-4,8% de EHNA (Hultcrantz *et al.*, 1986; Propst *et al.*, 1995; Charlton *et al.*, 2001). O sobrepeso ou a obesidade, atualmente considerados epidemia mundial, têm contribuído para a elevada prevalência da DHGNA. No Brasil, estima-se prevalência de 40% de sobrepeso na população adulta acima de 20 anos (IBGE-POF 2000-2003).

Existe evidência crescente de que a DHGNA representa a manifestação hepática da síndrome metabólica, essa caracterizada pela presença de obesidade, intolerância a glicose ou diabetes, hipertensão arterial sistêmica e dislipidemia (AGA, 2002; Chitturi *et al.*, 2002; Eckel *et al.*, 2005).

Vários trabalhos científicos têm demonstrado recente preocupação com a interação dessas duas doenças, dando especial atenção a dois aspectos. Primeiro, a presença de fatores associados à síndrome metabólica



em pacientes com hepatite crônica pelo vírus C que poderiam contribuir para o surgimento de esteatose e subsequente inflamação e fibrose. A associação também é capaz de influenciar negativamente a resposta virológica sustentada ao tratamento desses pacientes. Segundo, a infecção crônica pelo vírus C poderia exacerbar várias anormalidades metabólicas nesses pacientes, como a presença de resistência insulínica e a interferência no metabolismo lipídico (Negro e Sanyal, 2009; Serfaty e Capeau, 2009; Younossi e McCullough, 2009). A coexistência dessas doenças poderia aumentar a probabilidade de *diabetes mellitus* tipo 2, hipertensão arterial, dislipidemia e, conseqüentemente, o risco de complicações e morbidade cardiovasculares (Eckel *et al.*, 2005).

O conhecimento da influência negativa do sobrepeso e/ou obesidade e da gordura visceral na progressão da doença hepática gordurosa não alcoólica e o aumento da mortalidade global relacionada à doença hepática levaram ao estudo da associação da hepatite crônica pelo vírus C com fatores metabólicos do hospedeiro (Serfaty *et al.*, 2002; Bressler *et al.*, 2003). Por outro lado, na hepatite crônica pelo vírus C, fatores virais, como o genótipo e níveis intra-hepáticos da proteína do *core* além de fatores do hospedeiro, podem influenciar o desenvolvimento de esteatose (Fujie *et al.*, 1999).

Vários pesquisadores têm registrado maior prevalência da infecção crônica pelo vírus C em pacientes diabéticos, assim como presença de resistência insulínica e/ou maior prevalência de *diabetes mellitus* em

pacientes com hepatite crônica pelo vírus C (Özyilkan *et al.*, 1994; Mehta *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2003).

A biópsia hepática é considerada o padrão ouro para a avaliação da hepatite crônica pelo vírus C. O dano ao tecido hepático pelo vírus não é diretamente citopático, mas um processo imunomediado associado à replicação viral. A resposta imune leva a injúria hepatocelular no parênquima hepático e na interface entre áreas portais e o parênquima. Como consequência da hepatite de interface ocorre progressão da fibrose (Goodman, 2007). Além do estadiamento e da graduação, outros achados histopatológicos podem ser observados na hepatite crônica pelo vírus C, como a presença de agregados linfoides portais, siderose, esteatose, lesão do ducto biliar e/ou associação com outras doenças hepáticas. Dentre esses, a presença de esteatose e sobrecarga de ferro tem valor preditivo para avaliar a progressão da doença e/ou resposta ao tratamento antiviral (Kleiner, 2005).

A prevalência da associação de esteatose em pacientes com hepatite crônica pelo vírus C tem ampla variabilidade na literatura (Giannini *et al.*, 1999; Lonardo *et al.*, 2006). Ao tentar definir a prevalência associada de esteato-hepatite não alcoólica, a avaliação dos resultados é de difícil uniformização, fruto do emprego de metodologias diferentes, relacionadas em especial à graduação da esteatose e a critérios empregados na definição histopatológica de esteato-hepatite (Brunt *et al.*, 2003; Bedossa *et al.*, 2007). Revisando a literatura sobre o estudo da prevalência da esteato-hepatite não alcoólica, observa-se que o emprego de critérios histopatológicos amplo,

restrito ou ultrarrestrito resulta em diferentes taxas de prevalências (Oliveira *et al.*, 2007). Também na análise dos parâmetros histopatológicos utilizados, descreve-se discordância interobservadores com pequena variação apenas na quantificação da esteatose (Kleiner *et al.*, 2005).

Quando analisada pela ótica da hepatite crônica pelo vírus C, a prevalência da associação com esteatose ou esteato-hepatite não alcoólica pode variar na dependência de fatores virais como o genótipo viral, tratamento antiviral prévio e graduação da fibrose (Castéra *et al.*, 2004; Rubbia-Brandt *et al.*, 2004).

O emprego de estudos de corte transversal ou de coorte, com a análise pontual ou pareada de biópsias hepáticas, é outra informação relevante no estudo da associação e correlação com fibrose (Castéra *et al.*, 2003; Perumalswami *et al.*, 2006).

A presença de esteatose e/ou EHNA em pacientes com VHC parece favorecer o agravamento e a subsequente progressão da fibrose hepática. Todavia, existem poucos dados sobre a relação entre o achado de esteatose/ esteato-hepatite e hepatite crônica pelo VHC em biópsias seriadas.

Devido à elevada prevalência de hepatite crônica pelo vírus C em nossa população, assim como da doença hepática gordurosa não alcoólica, delineou-se este estudo a fim de conhecer as taxas de prevalências de esteatose hepática e esteato-hepatite não alcoólica em pacientes com hepatite crônica pelo vírus C e os fatores associados a maior risco de doença hepática crônica avançada. Objetivou-se também avaliar a relação

entre vários parâmetros clínicos e laboratoriais com diferentes graus de achados histopatológicos, indicativos de menor ou maior agressão histológica. Analisando a rebiópsia dos pacientes, procurou-se avaliar se a presença de esteato-hepatite não alcoólica ou fatores clínicos e/ou laboratoriais associados à DHGNA teriam influência na progressão da fibrose hepática.

Esperamos que os resultados aqui encontrados possam contribuir para estratégias de abordagem clínica e tratamento dos paciente com hepatite crônica pelo vírus C, otimizando a resposta antiviral, com benefício para a evolução desses pacientes.

## **2 OBJETIVOS**

a) Definir a prevalência de esteatose hepática e da esteato-hepatite não alcoólica em pacientes com hepatite crônica pelo vírus C.

b) Avaliar a relação entre variáveis demográficas, clínico-laboratoriais e diferentes graduações de parâmetros histopatológicos.

c) Avaliar na rebiópsia a influência da esteato-hepatite não alcoólica na progressão da fibrose.

d) Avaliar a associação do genótipo viral e parâmetros do hospedeiro com os três diferentes grupos histopatológicos, assim definidos: hepatite crônica pelo vírus C (HCVC), hepatite crônica com esteatose (HCVC + esteatose), hepatite crônica associada à esteato-hepatite não alcoólica (HCVC + EHNA).

e) Avaliar a associação do genótipo viral e parâmetros do hospedeiro nos grupos HCVC, HCVC com esteatose e HCVC com EHNA, considerando diferentes graus de fibrose à biópsia inicial.

### **3 REVISÃO DA LITERATURA**

### 3.1 Hepatite crônica pelo vírus da hepatite C

#### 3.1.1 O vírus e seus genótipos

O vírus da hepatite C, identificado em 1989 por Choo e colaboradores, é transmitido principalmente por via parenteral (mediante drogas ilícitas, transfusão de sangue e derivados, antes de 1992, quando ainda não havia o teste para os anticorpos contra o vírus), além da exposição sexual e transmissão perinatal.

A hepatite C é causada pelo vírus da hepatite C, membro da família *Flaviviridae*, gênero *Hepacivirus*, de constituição esférica, pequeno (50nm de diâmetro), com genoma RNA de fita linear e nucleocapsídeo envelopado (Lauer e Walker, 2001). O vírus tem alto poder de replicação no fígado, infectando cerca de 10% das células hepáticas (Dustin e Rice, 2007), de que resultam níveis médios séricos de RNA-VHC de 1 a 2 milhões de genomas equivalentes/mililitro (Neumann *et al.*, 1998).

O genoma do VHC revela elevada heterogeneidade de apresentações, denominadas *quasiespécies*, devido à elevada taxa de mutação. Em decorrência da seleção e adaptação do hospedeiro às *quasiespécies* do VHC, originaram-se distintos genótipos, com classificação baseada na similaridade da sequência de nucleotídeos proposta por Simmonds *et al.* (2005). Classificam-se os genótipos em seis tipos (1-6) e vários subtipos (1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 2c, 3a, 3b, 4a, 5a e 6a) com grande variabilidade de distribuição epidemiológica mundial. Na África central e



ocidental, predominam os genótipos 1, 2 e 4, enquanto o genótipo 5 predomina na África do Sul. Os genótipos 3 e 6 são mais frequentes na China, Sudoeste da Ásia e subcontinente indiano. Nos EUA, o genótipo 1 é o mais frequente (particularmente subtipo 1a), em 75% dos casos, seguido pelos genótipos 2 e 3, com aproximadamente 15% e 7% dos casos, respectivamente (Hoofnagle e Seeff, 2006). O genótipo 1 tem distribuição predominante no Brasil, em aproximadamente 75% dos pacientes infectados, seguido pelos genótipos 3 e 2, com cerca de 20-30% e 5%, respectivamente (Cavalheiro *et al.*, 2002). O conhecimento do genótipo do VHC é de fundamental importância, não só epidemiologicamente, mas também quanto à patogenia da infecção, história natural da doença, planejamento de duração do tratamento e resposta virológica sustentada.

### **3.1.2 História natural da doença**

Com relação à história natural da infecção pelo VHC, estima-se que 15% dos pacientes infectados obtêm resposta imunossuficiente para eliminar o vírus, enquanto a infecção crônica desenvolve-se em torno de 55 a 85% dos indivíduos (EASL, 1999; Hoofnagle, 2002). A evolução para doença hepática crônica ou eliminação do vírus depende da resposta inata, com ativação de citocinas e potencial inibição da replicação viral, da resposta adaptativa ao vírus, com neutralização das partículas virais e destruição de células infectadas (Thimme *et al.*, 2006), assim como da resposta

imunomediada, com participação de linfócitos T citotóxicos, LTCD8+ ou LTCD4+ e secreção de citocinas mediadoras da inflamação (Viso, 2007).

Na patogênese pelo VHC, ocorre uma progressão lenta da fibrogênese e desenvolvimento da cirrose após longo período de latência (Massard *et al.*, 2006). A inflamação, liberação de citocinas e, possivelmente, a apoptose de hepatócitos decorrentes da infecção levam à ativação de células estreladas, que resultam na excessiva deposição de colágeno e fibrogênese hepática (Tillmann *et al.*, 2005).

### **3.1.3 Fatores prognósticos**

Dentre os fatores prognósticos de desenvolvimento da doença, a idade de infecção pelo VHC e a presença de fibrose são altamente preditores no desenvolvimento de fibrose progressiva. Consumo de etanol acima de 50g/dia, duração da infecção, idade à infecção, sexo masculino, obesidade/sobrepeso/diabetes e/ou esteatose são fatores associados à progressão da fibrose (Massard *et al.*, 2006).

Outros fatores, como deficiência do sistema imunoadaptativo em pacientes imunodeficientes ou imunocomprometidos, podem levar a doença mais acelerada nesse grupo (Tillmann *et al.*, 2005; Vallet-Pichard e Pol, 2006).

Estudo realizado por Poynard *et al.* (1997) registra três fases evolutivas - *lenta, moderada ou rápida* - para a progressão da fibrose correlacionada com a idade do paciente à época da infecção pelo VHC. A

diminuição da função imunológica e a menor capacidade regenerativa hepática são fatores que poderiam explicar a rápida progressão para fibrose avançada em pacientes idosos (Tillmann *et al.*, 2005).

Diversos estudos associam a presença de fibrose com a evolução acelerada para a formação de cirrose. Modelo telomérico de formação de cirrose descrito por Tillmann *et al.* (2005) demonstra que a infecção crônica pelo VHC leva à necrose e ao aumento do *turnover* do hepatócito, com encurtamento do telômero hepatocelular. Esse encurtamento ocasionaria desequilíbrio entre destruição e regeneração do hepatócito além de aumento de citocinas inflamatórias, levando à ativação de células estreladas e fibrogênese hepática.

O sexo masculino está 10 vezes mais sujeito à progressão rápida da cirrose, independentemente da idade (Deuffic-Burban *et al.*, 2002). O consumo de etanol em quantidades elevadas, apesar de diferenças individuais de tolerância e metabolismo, pode ser considerado fator de risco em pacientes com infecção crônica pelo VHC. Em estudo realizado em pacientes alcoolistas e abstêmios com hepatite crônica pelo VHC, submetidos à biópsia hepática para estadiamento da doença, a presença de inflamação periportal severa com atividade de interface graus 3 e 4 foi observada em pacientes com ingestão maior que 20g/etanol/dia e acima de 40g/etanol/dia para o sexo feminino e masculino, respectivamente (Ribeiro *et al.*, 2005).

Fatores metabólicos como obesidade, diabetes tipo 2 e distúrbios no metabolismo de lipídes e insulina podem contribuir para a atividade

necroinflamatória aumentada e fibrose (Hickman *et al.*, 2002; Hui *et al.*, 2003; Charlton *et al.*, 2006).

### **3.1.4 Avaliação histopatológica e conduta terapêutica**

O diagnóstico histológico que resulta da biópsia hepática é de fundamental importância para confirmar o diagnóstico de hepatite crônica pelo vírus C, avaliar o grau e o estadiamento da doença. A presença de infiltrado inflamatório portal, predominantemente linfocitário, com ou sem plasmócitos e histiócitos, acompanhada por graus variáveis de atividade periportal (atividade de interface ou necrose em saca-bocados), atividade lobular e fibrose são parâmetros básicos para o diagnóstico de hepatite crônica pelo VHC (Mello e Alves, 2007). Permite também detectar padrões conflitantes de lesão, além de achados adicionais como esteatose ou acúmulo de ferro. Apresenta risco mínimo de morte, estimado em 0,03% e complicações relacionadas à dor e/ou hemorragia em minoria significativa dos casos (Kleiner, 2005). É importante, por isso, realizá-lo sempre em ambiente hospitalar, com observação mínima de 6 horas. O fragmento deve ter no mínimo 1,5cm de comprimento, idealmente 2,5cm ou mais, 1mm de espessura e dez ou mais espaços-porta (Gayotto *et al.*, 2000; Bedossa *et al.*, 2003; Kleiner, 2005).

A realização de testes simples, não invasivos, baseados em análise de parâmetros bioquímicos séricos e sorológicos, mostrou-se de modesto

valor na capacidade de predizer fibrose em relação à biópsia hepática (Lackner *et al.*, 2005).

Em 1990, alteraram-se os padrões de avaliação histopatológica da hepatite crônica com a introdução do conceito de estadiamento e graduação. O estadiamento avalia o grau de fibrose, indicando a posição do paciente na continuidade da progressão da doença até evoluir para a cirrose hepática. Utiliza principalmente a classificação de METAVIR (METAVIR, 1994) e a classificação modificada de Ishak *et al.* (1995). A graduação avalia a atividade necroinflamatória, com acometimento focal, confluyente ou difuso dos hepatócitos, além de determinar a localização, ou seja, portal, periportal e/ou lobular. As alterações necroinflamatórias são categorizadas em *leves, moderadas e severas*.

Em 2008, o Ministério da Saúde publicou uma portaria de revisão sobre o protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para hepatite viral C como parte integrante do Programa Nacional para Prevenção e Controle das Hepatites Virais. Constam como critérios gerais de inclusão para o tratamento da infecção crônica pacientes com as seguintes características: detecção qualitativa do RNA-VHC por biologia molecular; biópsia hepática no período de 24 meses com atividade necroinflamatória de moderada a intensa ( $\geq A2$ ) pela Classificação Metavir (1994) ou atividade periportal ou perisseptal  $\geq 2$  pela classificação da Sociedade Brasileira de Patologia e Sociedade Brasileira de Hepatologia- SBP/SBH (2000) e/ou fibrose de moderada a intensa ( $\geq F2$  pelas classificações Metavir ou da SBP/SBH);

idade entre 12 e 70 anos; plaquetas acima de  $50.000/\text{mm}^3$  e leucócitos acima de  $1.500/\text{mm}^3$ .

Em 2005, consenso elaborado pela Sociedade Brasileira de Hepatologia para tratamento das hepatites virais estabeleceu como tratamento da hepatite crônica pelo vírus C o uso de interferon peguilado associado à ribavirina por 48 semanas para pacientes com genótipo 1 e interferon convencional ou interferon peguilado associado à ribavirina durante 24 semanas para portadores crônicos com genótipos 2 ou 3. Os pacientes sem indicação ao tratamento devem realizar seguimento clínico ambulatorial, no mínimo três vezes ao ano, e biópsia hepática no período de três a cinco anos para reavaliação histológica.

### **3.2 Doença hepática gordurosa não alcoólica**

Estima-se prevalência de doença hepática gordurosa não alcoólica de 20-30% na população adulta ocidental, 15% em asiáticos e de 2-3% de esteato-hepatite não alcoólica na população geral (Nomura *et al.*, 1988; Neuschwander-Tetri e Caldwell, 2003; Bellentani *et al.*, 2004). Estudo em autópsias de indivíduos com acidentes automobilísticos conduzido por Hilden *et al.* (1977) demonstrou prevalência de DHGNA e EHNA em 24% e 2,4%, respectivamente. Modelo epidemiológico semelhante foi realizado por Ground (1982) em autópsias de tripulantes por acidentes aéreos, com prevalência de 16% de DHGNA e 2,1% de EHNA.

No Brasil, prevalência de 19,2% de esteatose ao ultrassom, foi observada em estudo retrospectivo analisando 9345 indivíduos durante um ano (Parise *et al.*, 2001).

O estudo de Dionysos, conduzido em duas cidades do norte da Itália com seguimento da população por 10 anos, demonstrou prevalência inicial de esteatose ao ultrassom de 61%, com maior prevalência no sexo masculino (3:1) em relação ao sexo feminino (Bellentani *et al.*, 1994). No segundo estudo, após exclusão de doença hepática crônica viral e *cut-off* de 20g/etanol/dia, a DHGNA esteve presente em 24,5% de indivíduos com índice de massa corpórea normal ( $IMC \leq 25 \text{ kg/m}^2$ ), 67% com sobrepeso ( $IMC > 25 \text{ e } < 30 \text{ kg/m}^2$ ) e em 91% dos indivíduos obesos (Bellentani e Tiribelli, 2001).

### **3.2.1 Fatores associados à DHGNA**

Apesar da ampla variabilidade dos diversos estudos, vários fatores são consistentes na doença hepática gordurosa não alcoólica e EHNA, sendo os mais importantes a associação com obesidade, *diabetes mellitus* tipo 2 e hiperlipidemia (Angulo *et al.*, 1999). Estudo realizado em pacientes obesos com  $IMC \geq 35 \text{ kg/m}^2$  encaminhados para tratamento cirúrgico da obesidade encontrou prevalência de DHGNA de 76% e EHNA de 25,3 a 55,5%, dependendo do critério histológico utilizado na classificação de esteato-hepatite não alcoólica (Oliveira *et al.*, 2006).

Outros fatores são considerados secundários para a DHGNA, incluindo causas nutricionais, metabólicas, genéticas, drogas, toxinas, virais e outras (Falck-Ytter *et al.*, 2001).

### 3.2.2 História natural

Na história natural da DHGNA, quatro diferentes estados histológicos podem modificar a evolução para doença hepática crônica avançada. São eles: esteatose hepática pura, esteato-hepatite, esteato-hepatite com fibrose e cirrose (AGA, 2002). A esteatose pura é predominantemente do tipo macrovesicular e estimada em *leve* (5-33% de hepatócitos da amostra contendo gotículas de gordura), *moderada* (34-66% de hepatócitos com gotículas de gordura) e *intensa* (>66% de hepatócitos com gotículas de gordura). A alteração gordurosa geralmente ocorre na região junto à veia centrolobular (zona 3) nos casos leves, podendo estender-se para todo o lóbulo (Hübscher, 2004). Na esteatose pura, a progressão para fibrose e cirrose é rara (Teli *et al.*, 1995).

A esteato-hepatite não alcoólica caracteriza-se por um conjunto de achados histológicos, como a esteatose macrovesicular, a balonização hepatocelular, o infiltrado inflamatório misto e a fibrose perissinusoidal envolvendo predominantemente a zona 3 acinar (Hübscher, 2004). Estudo realizado por Bacon *et al.* (1994) demonstra a presença de fibrose avançada em 30-40% e de cirrose em 10-15% em biópsias iniciais de pacientes com EHNA.



No estudo realizado por Matteoni *et al.* (1999), balonização hepatocitária e inflamação, juntamente com hialinos de Mallory e/ou fibrose, estiveram mais associadas com cirrose. Nesses pacientes, houve maior mortalidade relacionada à doença hepática.

### **3.2.3 Síndrome metabólica e patogênese da DHGNA**

A patogênese mais aceita para a DHGNA é a proposta por Day e James (1988), cujo denominador principal é a resistência insulínica e o hiperinsulinismo. Baseia-se na hipótese dos dois estímulos (*hits*), decorrendo o acúmulo de lipídios nos hepatócitos da resistência insulínica (primeiro estímulo) e devendo-se o desenvolvimento de esteato-hepatite não alcoólica à liberação de citocinas, adipocinas e ao estresse oxidativo, além de fatores genéticos e ambientais (segundo estímulo).

Níveis normais de sensibilidade periférica à insulina estão associados à captação normal de ácidos graxos (AG) pelo fígado,  $\beta$  oxidação de ácidos graxos livres (AGL), formação e liberação de triglicérides, inibição da produção hepática de glicose com síntese normal de glicogênio hepático. Por outro lado, no estado de resistência insulínica, ocorrem alterações na homeostase de glicose e lipídios, com falência da supressão de produção hepática de glicose e glicogenólise, favorecimento da lipólise nos adipócitos, com aumento da captação de AG pelo fígado, estímulo à síntese hepática de AG e interferência na  $\beta$  oxidação mitocondrial de AG, resultando no acúmulo de triglicérides no fígado (Eckel *et al.*, 2005).

Na segunda etapa, múltiplos estímulos contribuem para a EHNA. Novos conceitos na patogênese da DHGNA reconhecem que a compartimentalização de lipídios nos hepatócitos e que o tipo e a “qualidade” de lipídeos acumulados, em oposição à “quantidade”, são fatores importantes no desenvolvimento de doença progressiva (Feldstein, 2007).

O acúmulo de AGL leva ao aumento da regulação de receptores de apoptose celular, além da ativação de caspases, aumento da permeabilidade mitocondrial e produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), induzindo a apoptose dos hepatócitos (Feldstein *et al.*, 2003; Feldstein, 2007). A gordura visceral abdominal e a consequente produção de citocinas pró-inflamatórias têm ação mediadora no desenvolvimento de lesão hepática, como a inflamação e a fibrose. A leptina aumenta a liberação de fator transformador de crescimento- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), que promove a ativação de células estreladas e a síntese de colágeno, contribuindo para a fibrogênese. Outras citocinas, como o fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e a interleucina-6 (IL-6), bloqueiam a sinalização de insulina nos hepatócitos, aumentam a resistência insulínica e promovem a inflamação (Younossi, 2007).

O estado pró-inflamatório e consequente estresse oxidativo contribuem para a peroxidação lipídica na membrana do hepatócito, com ativação de células estreladas e morte celular. O hiperinsulinismo, o aumento da concentração hepática de ácidos graxos e o consequente estresse oxidativo contribuem para o aumento de peroxidases lipídicas, mediadas pelo aumento da expressão de CYP2E1 e CYP4A, as quais, por

sua vez, se regulam via receptor PPAR $\alpha$  (*peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$* ). O receptor PPAR $\alpha$  desempenha papel importante na regulação dos sistemas de oxidação hepática e do balanço energético celular. Além do componente peroxissomal, o estresse oxidativo também está relacionado a espécies reativas de oxigênio ou substâncias liberadas pelas mitocôndrias, por macrófagos, neutrófilos e células de Kupffer, ultrapassando a capacidade antioxidante hepática. A peroxidação lipídica, juntamente com a ação da leptina, contribui para a progressão da fibrose na EHNA e consequente cirrose (Mulhall *et al.*, 2002).

Além da leptina, níveis diminuídos de adiponectina, adipocina anti-inflamatória que atua inibindo o TNF- $\alpha$ , podem contribuir para a resistência insulínica e DHGNA (López-Bermejo *et al.*, 2004).

### **3.2.4 Avaliação histopatológica**

A distinção entre esteatose hepática pura e esteato-hepatite somente é possível pela observação histológica. A biópsia hepática é indicada em pacientes com fatores de risco potenciais para desenvolver formas mais graves da doença, como esteato-hepatite ou fibrose. Os fatores preditores de progressão da doença incluem idade acima de 45 anos, índice AST/ALT > 1, obesidade e/ou *diabetes mellitus* e hipertensão arterial sistêmica (Angulo *et al.*, 1999; Hübscher, 2004).

Não há um dado histopatológico patognomônico que possa distinguir as características da doença hepática gordurosa não alcoólica dos achados

da doença hepática alcoólica. A presença de inflamação portal na histologia de pacientes com DHGNA pode sugerir alguma doença associada, como a hepatite crônica pelo VHC (Brunt, 2007).

Várias propostas para estadiamento e graduação histológica para a esteato-hepatite não alcoólica têm sido preconizadas (Brunt, 2004; Kleiner *et al.*, 2005). O protocolo atual da Sociedade Brasileira de Patologia para o estudo da DHGNA, elaborado pelo Clube do Fígado, analisa os diversos parâmetros sob o ponto de vista semiquantitativo e topológico (Gayotto, 2001; Freitas, 2005). Os parâmetros histológicos avaliados são:

- Esteatose macrovacuolar: graduada quanto à intensidade em 0 (<5%), 1 (5-33%), 2 (33-66%) e 3 (>66%);
- Esteatose microvacuolar: ausente (0), escassa (1) ou presente (2);
- Balonização hepatocelular: intensidade de grau 0 a 2;
- Inflamação acinar: graduada quanto à intensidade em 0 (ausente), 1 (<2 focos por 200x), 2 (2-4 focos por 200x), 3 (>4 focos por 200x) e do tipo mononuclear, granulocítico ou misto;
- Inflamação portal: intensidade de 0 a 4 e fenótipo celular mononuclear, granulocítico ou misto;
- Fibrose: de localização perivenular, perissinusoidal, septal ou portal e de intensidade graduada de 0 a 4;
- Estadiamento arquitetural: graduado de 0 a 4, sendo 0 a presença de esteatose pura até estágio 4, com cirrose;
- Sobrecarga de ferro: intensidade de 0 a 4 e localizada nos hepatócitos, células de Kupffer ou ductos;

- Corpos hialinos de Mallory-Denk (Brunt, 2007): ausentes (0), escassos (1) ou abundantes (2);
- Pseudoinclusão nuclear de glicogênio: ausentes (0), escassos (1) ou abundantes (2).

### **3.3 Interação entre hepatite crônica pelo vírus C e esteatose hepática**

#### **3.3.1 Conceitos básicos**

A esteatose interage com outras doenças hepáticas crônicas, como a hepatite crônica pelo vírus C e B, doença hepática induzida por medicamentos, doença hepática alcoólica e hemocromatose. O conhecimento da patogênese da DHGNA e sua progressão para EHNA e cirrose contribuem para avaliar melhor a progressão dessas doenças hepáticas coexistentes (Younossi, 2007).

Avaliações histológicas iniciais em pacientes com hepatite pelo VHC já demonstravam prevalência aumentada de esteatose em relação à hepatite crônica pelo vírus B, com um total de 55,5% nos diversos estudos e variando entre 34,8 a 81,2% (Czaja *et al.*, 1999; Lonardo, 2006).

A esteatose na hepatite C é predominantemente macrovacuolar, com localização na zona 1 acinar e/ou zona 3, distribuição panacinar, focal ou irregular (Kleiner, 2005).

### **3.3.2 Fatores associados à interação entre DHGNA e hepatite crônica pelo VHC**

Possíveis fatores etiológicos foram analisados para explicar a interação entre a hepatite crônica pelo vírus C e a esteatose, incluindo variáveis virais e do hospedeiro. Níveis intra-hepáticos da proteína do *core* do VHC, marcadores de carga viral, estiveram paralelamente relacionados à presença de esteatose (Fujie *et al.*, 1999). Importante associação entre genótipo e esteatose na infecção pelo VHC foi inicialmente descrita em 2001 (Adinolfi *et al.*) e posteriormente confirmada. Em pacientes com genótipo 3, o grau de esteatose esteve associado ao grau de fibrose em estudo transversal (Rubbia-Brandt *et al.*, 2004). A esteatose associada ao genótipo 3 não se relaciona com fatores do hospedeiro, tais como obesidade e dislipidemia (Sharma *et al.*, 2004).

Em estudo realizado por Poynard *et al.* (2003), com 1428 pacientes virgens de tratamento, submetidos à análise histológica, houve prevalência de 65% de esteatose, com predomínio no genótipo 3 em relação a outros genótipos (83% *versus* 62%). Fibrose extensa, além de fatores relacionados ao hospedeiro, como idade, índice de massa corpórea e triglicérides, foram relacionados à esteatose no genótipo 1; no genótipo 3, os fatores associados foram elevada carga viral e colesterol sérico diminuído. Desaparecimento e regressão de esteatose estiveram significativamente associados ao genótipo 3 em relação aos outros genótipos após tratamento com interferon peguilado e ribavirina.

O uso contínuo abusivo de álcool e idade acima de 45 anos são fatores de risco para a presença de esteatose em pacientes não genótipo 3 (Rubbia-Brandt *et al.*, 2004). Graus 3 e 4 de fibrose estiveram associados com graus acentuados de hepatite de interface e uma combinação entre esteatose moderada e grave e uso abusivo de álcool (Serfaty *et al.*, 2002).

Fatores metabólicos do hospedeiro, como obesidade e *diabetes mellitus* tipo 2 contribuem para a esteatose na hepatite pelo VHC, independentemente do genótipo viral (Monto *et al.*, 2002).

Além do impacto na progressão da doença, a esteatose influencia a resposta virológica precoce (RVP) e a resposta virológica sustentada (RVS) no tratamento de pacientes crônicos (Patton *et al.*, 2004).

A presença de fibrose perissinusoidal associada ao grau de esteatose na hepatite crônica pelo VHC confirma mecanismo patogênico de lesão semelhante à EHNA, na evolução da cirrose (Clouston *et al.*, 2001).

Dois mecanismos são propostos para explicar a frequente associação entre esteatose e hepatite crônica pelo VHC, relacionados ao vírus - esteatose vírus induzida -, ou relacionados ao hospedeiro - esteatose metabólica induzida.

### **3.3.3 Mecanismo viral induzido**

No mecanismo viral induzido, a patogênese está diretamente associada ao efeito citopático do VHC genótipo 3. O desenvolvimento de esteatose em ratos transgênicos é induzido pelo aumento da expressão da

proteína do *core* e de proteínas não estruturais (NS5A) (Moriya *et al.*, 1997). A proteína do *core* do VHC aumenta a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) e peroxidação lipídica, com consequente dano hepático e fibrose (Okuda *et al.*, 2002).

A proteína do *core* do VHC genótipo 3 induz a transcrição de genes envolvidos no metabolismo lipídico, interferindo na formação e liberação de lipoproteínas apo-B (Lonardo *et al.*, 2004). Ela interfere também na função da MTP (*microsomal triglyceride transfer protein*), localizada no retículo endoplasmático dos hepatócitos, impedindo a formação de lipoproteínas apo-B (apo-B) e a consequente formação e liberação de VLDL (*very low density lipoproteins*) (Mirandola *et al.*, 2006).

Prevalência aumentada de hipobetalipoproteinemia na hepatite crônica pelo genótipo 3 é associada à esteatose. A erradicação do vírus associa-se ao aumento dos níveis séricos de apo-B e do colesterol (Serfaty *et al.*, 2001).

No genótipo 3, níveis elevados de RNA do VHC correlacionam-se com o grau de esteatose, a qual melhora após erradicação viral (Poynard *et al.*, 2003; Patton *et al.*, 2004).

Modelo *in vitro* para o estudo de acúmulo de triglicérides após transfecção de proteínas do *core* em células Huh7 demonstra que o genótipo 3a induz o aumento na concentração de lipídios três vezes mais do que o genótipo 1b e duas vezes mais do que o genótipo 3h (Abid *et al.*, 2005).



Embora esteatose moderada a acentuada seja um sinal morfológico sugestivo de infecção pelo genótipo 3 do VHC, sua presença não é necessariamente obrigatória na cirrose (Rubbia-Brandt *et al.*, 2001).

### **3.3.4 Mecanismo metabólico induzido**

No mecanismo metabólico induzido, fatores do hospedeiro contribuem para a esteatose, associados principalmente ao genótipo 1. A esteatose é reconhecida como componente da síndrome metabólica e invariavelmente associada à resistência insulínica. Outros fatores de risco também são considerados, como a idade avançada, sobrepeso e/ou obesidade, hiperglicemia de jejum e/ou diabetes, hipertrigliceridemia e obesidade central.

Na patogênese da interação entre hepatite crônica pelo vírus C e DHGNA, considerando a teoria dos dois estímulos (*hits*), a resistência insulínica contribui para a esteatose inicial. Como segundo estímulo, além do estresse oxidativo e outros fatores, a resposta inflamatória viral-induzida atua na liberação de citocinas pró-inflamatórias e pró-fibróticas. Lesão direta mitocondrial induzida por proteínas virais piora o estresse oxidativo e a produção de ERO, com peroxidação lipídica, inflamação e fibrose (Younossi, 2007).

Índice de massa corpórea acima da faixa considerada normal está associado ao grau de esteatose em genótipos não 3, prevalência maior nos pacientes obesos em relação àqueles com sobrepeso (Hwang *et al.*, 2001;

Hui *et al.*, 2002). No estudo realizado por Younossi *et al.* (2004), graus elevados de esteatose e EHNA em obesos relacionaram-se com fibrose avançada. A obesidade influencia negativamente a resposta virológica sustentada na hepatite crônica pelo VHC, sendo fator importante a ponderar no genótipo 1 (Bressler *et al.*, 2003).

A resistência insulínica, mensurada pelo HOMA-IR, é um preditor independente de esteatose e fibrose na hepatite pelo VHC genótipo 1 (Hui *et al.*, 2003; Fartoux *et al.*, 2005). A RI, juntamente com fibrose e genótipo 1, são preditores independentes de não resposta à terapia (Romero-Gómez *et al.*, 2005).

Pacientes genótipos 2 e 3 com HOMA-IR < 2 têm chance de resposta virológica sustentada 6,5 vezes maior que pacientes com HOMA-IR ≥ 2, independentemente do estágio de fibrose (Poustchi *et al.*, 2008).

Existe maior prevalência de *diabetes mellitus* tipo 2 em pacientes com hepatite crônica pelo VHC, principalmente associado à idade e presença de fatores de risco para a síndrome metabólica (Mehta *et al.*, 2000; Mehta *et al.*, 2003). Em pacientes com *diabetes mellitus* tipo 2, a positividade do VHC é maior que na população geral (Özyilkan *et al.*, 1994). Fatores específicos do hospedeiro, como idade, IMC, história familiar de *diabetes mellitus*, além de fibrose ≥ 3 na classificação METAVIR, associam-se ao *diabetes mellitus* e hepatite crônica pelo VHC (Petit *et al.*, 2001).

A resistência insulínica em pacientes com hepatite crônica pelo VHC e sem fatores de risco para a síndrome metabólica sugere que o VHC pode induzir RI, mediante aumento de citocinas como TNF- $\alpha$ , aumento de SOC3

(*suppressor of cytokine signalling 3*) e diminuição da atividade de STAT-3 (*signal transducer and activator of transcription 3*) (Shintani *et al.*, 2004; Zerky *et al.* 2005).

### 3.3.5 História natural

A interação entre DHGNA e hepatite crônica pelo VHC pode modificar negativamente o curso natural da infecção, induzindo fibrose, *diabetes mellitus* tipo 2 e carcinoma hepatocelular, além de diminuir a resposta antiviral. A esteatose associada a fatores de risco do hospedeiro como idade, duração da infecção, atividade necroinflamatória e *diabetes mellitus* não insulino dependente favorece o agravamento e a subsequente progressão da fibrose hepática (Ong *et al.*, 2001).

Estudo recente sugere que a presença de fibrose sinusoidal e a balonização de hepatócitos, achados histopatológicos de EHNA, acelera a progressão da fibrose, independentemente da etiopatogenia da esteatose (Bedossa *et al.*, 2007).

Esteatose associada à menor resposta à terapia antiviral é específica para a esteatose metabólico-induzida, especialmente na presença de obesidade e genótipo 1. No genótipo 3, a esteatose viral-induzida não está associada à menor RVS. Na obesidade, os fatores propostos para a menor RVS são a produção de adipocinas pró-inflamatórias, a resistência insulínica e menor biodisponibilidade do interferon (Charlton *et al.*, 2006).

O tecido adiposo branco é metabolicamente ativo, e produz proteínas anti-inflamatórias e pró-inflamatórias, atuando na resposta imune. Na obesidade, a diminuição da produção de adiponectina e o aumento da liberação de leptina, correlacionam-se com atividade necroinflamatória e ativação de células estreladas em pacientes com hepatite crônica pelo VHC, além de menor resposta aos interferons. O aumento da gordura subcutânea e a alteração da drenagem linfática nos indivíduos obesos diminuem a biodisponibilidade do interferon (Charlton *et al.*, 2006).

Estudo demonstrando a associação entre esteatose e carcinoma hepatocelular sugere que a proteína do *core* do VHC pode agravar o estresse oxidativo, além de interferir no metabolismo lipídico e favorecer a proliferação celular (Lonardo *et al.*, 2006).

## **4 MÉTODOS**

#### **4.1 Delineamento e local do estudo**

Durante o período compreendido entre janeiro de 2007 e dezembro de 2008, foi realizado um estudo de coorte, aberto, retrospectivo e evolutivo, para avaliar pacientes com hepatite crônica pelo vírus C, com ou sem doença hepática gordurosa não alcoólica. A progressão da doença hepática, assim como a interação com a doença hepática gordurosa não alcoólica, foi avaliada pela evolução da fibrose.

O estudo foi conduzido em dois locais da cidade de São Paulo: o Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo – hospital público terciário, com pacientes procedentes do Banco de Sangue e atendidos no ambulatório de hepatites do Serviço de Clínica Médica – e um consultório privado com especialidade em Hepatologia.

O estudo inclui a análise retrospectiva pormenorizada da primeira biópsia hepática, realizada pré-tratamento, com a finalidade de graduar e estadiar a hepatite crônica pelo vírus C, com especial atenção aos dados histopatológicos de diagnóstico da doença hepática gordurosa não alcoólica. A avaliação evolutiva foi aferida pela análise do estadiamento da arquitetura hepática na rebiópsia realizada no período do estudo. A avaliação histopatológica foi realizada no Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

## **4.2 Considerações éticas**

Um protocolo de pesquisa foi submetido previamente à Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e aprovado em sessão em 18 de abril de 2007. Todos os pacientes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido antes da inclusão, consentimento informado que consta como documento anexo ao protocolo de pesquisa aprovado pela CAPPesq (Anexos A, B e C).

## **4.3 População do estudo**

### **4.3.1 Critérios de inclusão**

Foram considerados como critérios de inclusão os pacientes com as seguintes características:

- Idade variando de 18 a 65 anos para ambos os sexos;
- Diagnóstico de hepatite crônica pelo vírus C confirmado após a

realização dos seguintes exames:

- a) Teste para detecção de anticorpos antivírus da hepatite C (anti-VHC) pelo método imunoenzimático, com valores considerados como reagentes acima de 1.1 DO/C (densidade óptica/valor de corte);
- b) Teste complementar para detecção de anticorpos contra o vírus da hepatite C (anti-VHC) pelo método imunoblot com pesquisa de reatividade contra as frações antigênicas C100(p)/5-1-1(p)(4+); C33C(4+) e C22P(4+),

sendo considerado positivo na presença de reatividade em pelo menos duas bandas reativas, com intensidade maior ou igual a 1+;

c) Detecção qualitativa do RNA do VHC pela técnica da Reação de Polimerização em Cadeia (PCR Qualitativo) mediante transcrição reversa inicial e amplificação de um fragmento de 244 bp interna à região 5' não codificadora do genoma do vírus da hepatite C, método AMPLICOR HCV, versão 2.0 da *Roche Diagnostics*. A sensibilidade do teste é de 50 UI/ml, sendo considerado positivo um número de partículas do vírus presente na amostra acima desses valores;

- Genotipagem do vírus da hepatite C, nos pacientes com diagnóstico definitivo da infecção pelo VHC, mediante realização do seguinte exame:

a) Genotipagem para o vírus da hepatite C pelo método de Hibridização com sondas específicas aos principais tipos e subtipos do VHC (1,1a, 1b, 1a/1b, 2, 2a/2c, 2b, 3, 3a, 3b, 3c, 4, 4a, 4b, 4c/4d, 4e, 4f, 4h, 5a e 6a), em fita de nitrocelulose. Método realizado pelo laboratório *Innogenetics*, comercialmente distribuído sob descrição *Line Probe Assay* ( INNO- LIPA HCV II) utilizando o plasma para amplificar a região não codificadora 5UR do VHC, com sensibilidade de cerca de 100% e especificidade de 98% para os tipos e subtipos;

- Níveis de alanina aminotransferase (ALT) igual ou acima de 1,5 vezes o valor considerado normal, indicativo de doença hepática crônica;

- Biópsia hepática realizada previamente e solicitada pelo ambulatório de hepatites do Serviço de Clínica Médica e pelo ambulatório privado de hepatologia, analisada pelo Departamento de Patologia da Faculdade de



Medicina da Universidade de São Paulo e pelo Centro Imuno-histoquímica Citopatologia Anátomo-Patológico S/C Ltda. (CICAP), com presença de, pelo menos, dez espaços-porta (Colloredo *et al.*, 2003); - Dados clínicos e laboratoriais coletados, em todos os pacientes, por ocasião da biópsia hepática;

- Indicação de rebiópsia clínica durante o período de estudo;
- Todos os pacientes foram informados sobre a investigação e assinaram o termo de consentimento (Anexo B).

#### **4.3.2 Critérios de exclusão**

Foram considerados como critérios de exclusão os pacientes com as seguintes características:

- Diagnóstico de hepatite B, confirmado pela presença do antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg);
- Positividade para o vírus da imunodeficiência humana, mediante sorologia positiva para o anti-HIV;
- Ingestão alcoólica igual ou superior a 20g de etanol puro/dia para o sexo feminino e igual ou acima de 40g de etanol puro/dia para o sexo masculino, atualmente ou nos dois meses precedentes à primeira biópsia (Strauss E, 2001; Freitas LAR, 2005);
- Uso de medicamentos reconhecidamente causadores de esteato-hepatite, como corticóides, nifedipina, amiodarona, terapia antiretroviral, uso

de estrógenos em altas doses, dentre outros (Falck-Ytter *et al.*, 2001; AGA, 2002);

- Pacientes com diagnóstico clínico, laboratorial ou histológico sugestivo de associação com outras doenças hepáticas crônicas, como: hepatite autoimune, doença de Wilson, hemocromatose, deficiência de  $\alpha$ 1 antitripsina, cirrose biliar primária;

- Pacientes com sinais clínicos e/ou laboratoriais de cirrose hepática descompensada ou diagnóstico de carcinoma hepatocelular;

- Ausência de avaliação histológica inicial para estadiamento e graduação da doença hepática crônica, inviabilizando o estudo histológico comparativo da rebiópsia e a interação com a doença hepática gordurosa não alcoólica;

- Presença de material histológico insuficiente para a análise (número de espaços-porta na amostra);

- Terapia antiviral posterior à realização da biópsia hepática, com resposta virológica sustentada.

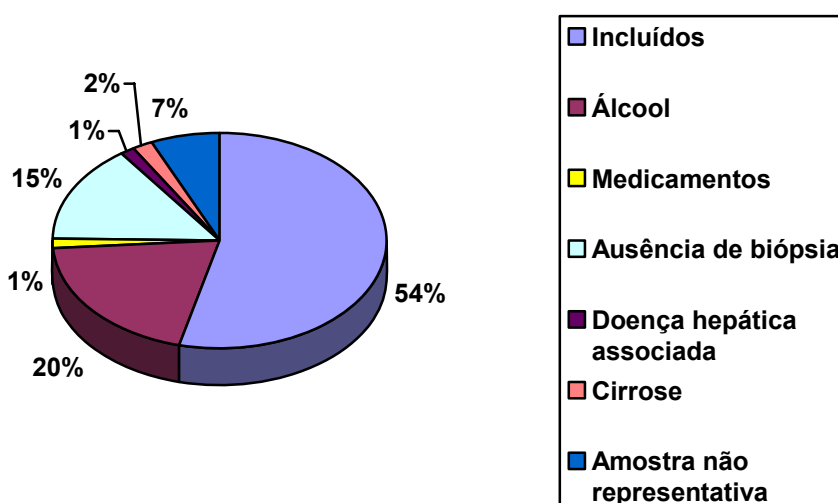
Inicialmente foram avaliados 150 pacientes com hepatite crônica pelo vírus C, todos em acompanhamento regular na instituição e no consultório privado.

Sessenta e nove pacientes não foram incluídos pelos seguintes critérios: 30 pacientes com uso recente (menos de dois meses) ou atual de álcool  $\geq$  20g de etanol e  $\geq$  40g/etanol para o sexo feminino e masculino, respectivamente; uso de medicações causadoras de esteato-hepatite (n= 2),

ausência de biópsia inicial que permitisse o estudo comparativo ou tempo superior ao término do estudo para a rebiópsia (n= 22), associação de outra doença hepática à histologia (n= 2), presença de evidência clínica, laboratorial e/ou de imagem de cirrose hepática descompensada (n= 3), amostra histológica não representativa para o estudo comparativo (n= 10).

Resumiram-se no gráfico 1 os dados citados acima.

**Gráfico 1 – Distribuição dos 150 pacientes que participaram inicialmente do estudo**



Em relação aos 69 pacientes que não participaram do estudo, 60,9% eram do sexo masculino, com idade média e desvio-padrão de  $39,5 \pm 11,46$  e IMC médio de  $24,7 \text{ kg/m}^2$  ( $dp = \pm 3,74$ ). O genótipo 1 era prevalente, encontrado em 72,5% dos pacientes.

Após o critério de exclusão, participaram do estudo 49 pacientes do sexo masculino e 32 do feminino, perfazendo um total de 81 pacientes, com

prevalência do genótipo 1 (82,7%) e com IMC médio de  $26 \pm 4,5$  à primeira biópsia.

#### **4.4 Avaliação clínica e laboratorial**

O presente estudo consiste na avaliação clínica, laboratorial e histológica de pacientes com hepatite crônica pelo vírus C associados ou não com doença hepática gordurosa não alcoólica.

##### **4.4.1 Avaliação clínica**

De todos os pacientes coletaram-se dados demográficos como sexo, idade (em anos), peso (em quilogramas) e altura (em metros). Esses dados foram obtidos em dois períodos de avaliação: quando da primeira biópsia hepática e antes da segunda biópsia.

O índice de massa corpórea foi calculado de acordo com a fórmula  $IMC = \text{peso (em quilogramas)} / \text{altura (em m}^2\text{)}$ . Índice de massa corpórea  $< 25$  foi considerado normal, enquanto  $IMC 25-29 \text{ kg/m}^2$  foi considerado sobrepeso e  $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ , obeso (Willett *et al.*, 1999).

Informações de comorbidades, medicamentos de uso rotineiro e passado de alcoolismo foram obtidas com a revisão do prontuário médico e durante a anamnese com o próprio paciente e/ou com familiares.

Para a definição de alcoolistas, foram avaliados os parâmetros de quantificação da ingestão diária de etanol, tempo de ingestão (em meses) no

uso passado de álcool. Para a quantificação de ingestão diária de etanol, utilizou-se a fórmula: volume (em mililitros) multiplicado por 0,8 (constante) e pelo teor alcoólico da bebida, dividido por 100 e expresso em gramas de etanol/dia. Foram consideradas alcoolistas as pacientes cujo consumo de etanol ficou igual ou acima de 20g de etanol/dia e os homens com consumo de etanol  $\geq$  40g/dia. O uso passado de etanol foi considerado nos pacientes abstêmios há mais de dois meses (Mincis, 2001; Strauss, 2001).

Na avaliação de comorbidades, a presença dessas doenças foi determinada segundo os seguintes critérios:

- A hipertensão arterial sistêmica foi definida como pressão arterial sistólica  $\geq$  140 mmHg e/ou diastólica  $\geq$  90 mmHg e/ou o uso rotineiro de medicamentos anti-hipertensivos. Nos pacientes com *diabetes mellitus* e/ou doença renal crônica, a hipertensão arterial é definida como a pressão arterial  $\geq$  130/80 mmHg. Nas aferições de pressão arterial sistólica entre 120-139 mmHg e/ou diastólica entre 80-89 mmHg, os pacientes foram definidos como pré-hipertensos. A aferição foi realizada com o paciente sentado, em repouso por pelo menos cinco minutos, e tomada duas vezes no mínimo, com intervalo de dez minutos entre elas (NHBPEP, 2003);

- O diagnóstico de *diabetes mellitus* tipo 2 foi estabelecido utilizando um dos seguintes critérios: (a) glicose plasmática de jejum  $\geq$  126mg/dl; (b) sintomas clínicos de *diabetes mellitus* e/ou glicemia  $\geq$  200mg/dl; (c) diagnóstico preexistente de diabetes e/ou uso de insulina ou hipoglicemiante oral. O diagnóstico de intolerância à glicose foi estabelecido com níveis de glicemia de jejum  $\geq$  110mg/dl e  $<$  126mg/dl (ADA, 2002);

-O perfil lipídico da síndrome metabólica foi estabelecido com a presença das seguintes alterações conforme os critérios do *Adult Treatment Panel III* (ATPIII): (a) hipertrigliceridemia, definida por triglicéride sérico em jejum  $\geq 150\text{mg/dl}$  ou uso de medicação hipolipemiante e/ou; (b) HDL-colesterol sérico em jejum  $< 50\text{mg/dl}$  no sexo feminino e  $< 40\text{mg/dl}$  no sexo masculino (Eckel, 2005).

#### **4.4.2 Avaliação laboratorial**

Exames laboratoriais foram coletados no período precedente à realização das biópsias hepáticas.

Como análise hematológica foi considerado o valor de plaquetas para investigar a presença ou não de trombocitopenia, parâmetro que, juntamente com a elevação de AST, segundo alguns autores, é descrito como inversamente correlacionado com o grau de fibrose na hepatite crônica pelo vírus C (Wai *et al.*, 2003). Consideramos como referência os valores de plaquetas entre 140 e 450 mil/mm<sup>3</sup> pelo exame automatizado.

O tempo de atividade de protrombina (TAP) e/ou relação normatizada internacional (INR) foram igualmente coletados, sendo tomados por referência os valores de TAP expressos em percentagem acima de 70 e INR entre 0,95 e 1,20 pelo método Quick modificado.

A avaliação bioquímica coletada seja no período da biópsia inicial, seja na rebiópsia, inclui as dosagens séricas das enzimas hepáticas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST). Devido a

diferentes padronizações de valores de referência, a comparação dos resultados foi obtida mediante a relação do valor absoluto encontrado e o limite superior normal (LSN) do referido teste, considerando igual a 1 o valor normal e > 1 valor acima da normalidade.

A partir dos valores de AST e plaquetas, foi calculado o índice de relação AST/plaquetas (APRI) como preditor de fibrose hepática (Wai *et al.* 2003; Lackner *et al.*, 2005). O teste APRI é obtido pela fórmula: valor de AST do paciente dividido pelo limite superior normal (LSN) do teste, multiplicado por 100 e dividido pelo número de plaquetas expresso somente em milhar.

Na avaliação metabólica, foram determinadas a dosagem de glicemia de jejum e o perfil lipídico de jejum, composto pelo colesterol total, HDL-colesterol e triglicéride, e padronizadas pelos respectivos laboratórios.

## **4.5 Indicação de rebiópsia e avaliações comparativas**

### **4.5.1 Indicação de rebiópsia**

A rebiópsia de pacientes com hepatite crônica pelo VHC foi realizada durante o seguimento clínico-laboratorial nas seguintes eventualidades:

- Após 3 a 5 anos da biópsia inicial, nos pacientes sem indicação de tratamento devido a baixos graus de fibrose e/ou atividade inflamatória, para reavaliar a possibilidade de evolução da fibrose, com necessidade da terapêutica antiviral;
- Em pacientes não respondedores ao tratamento antiviral, para reavaliar a necessidade ou não de condutas terapêuticas experimentais.

#### **4.5.2 Avaliações comparativas**

Em todos esses pacientes, com duas biópsias, foram realizadas as seguintes avaliações:

- Avaliações clínico-laboratoriais, tanto na época da primeira como da segunda biópsia, com subsequente análise comparativa a fim de avaliar evolutivamente a melhora ou o agravamento dos parâmetros;

Na primeira biópsia, foi realizada a avaliação histopatológica de diversos parâmetros relacionados à hepatite crônica pelo vírus da hepatite C e doença hepática gordurosa não alcoólica.

Na segunda biópsia, foi feita a análise da fibrose como parâmetro de progressão da doença ao longo do período. A progressão da fibrose foi definida como o aumento de pelo menos um ponto na graduação de alteração estrutural em biópsias seriadas. Fatores do hospedeiro foram estudados como associados ou não à progressão da fibrose, sendo eles: sexo, idade, uso prévio de etanol, genótipo viral, indicação de tratamento antiviral, índice de APRI, IMC, alteração glicêmica ou diabetes e perfil lipídico da síndrome metabólica.

#### **4.6 Análise histológica**

O fragmento hepático da rebiópsia foi obtido por punção percutânea orientada pelo ultrassom. A biópsia hepática foi realizada pela agulha de *tru cut*, com tamanho mínimo de 1,5 cm de comprimento e representação mínima de dez espaços-porta na amostra.



O fragmento de biópsia foi fixado em formol-salino (10%), incluído em parafina e submetido às seguintes colorações: hematoxilina-eosina (HE), tricômio de Masson e impregnação da reticulina pelos sais de prata, os últimos dois utilizados para avaliar fibrose e distorção da arquitetura lobular; além da coloração de Perls para avaliar a quantidade de ferro.

A análise histológica foi realizada pelo Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. A avaliação histológica foi feita sempre pelo mesmo patologista, com experiência em fígado e sem conhecimento das informações clínicas e laboratoriais dos pacientes.

A análise histopatológica referente à primeira biópsia foi baseada nos seguintes protocolos: Consenso Nacional das Hepatites Crônicas, da Sociedade Brasileira de Patologia, para o estudo da hepatite crônica, elaborado pelo Clube do Fígado e no estudo histopatológico da doença hepática gordurosa não alcoólica, seguindo o protocolo da Sociedade Brasileira de Patologia para o estudo da DHGNA, elaborado pelo Clube do Fígado (Anexo D).

Para o estudo da hepatite crônica, as variáveis histológicas foram analisadas e semiquantificadas (Gayotto *et al.*, 2000; Mello e Alves, 2007). As características das variáveis são descritas a seguir:

- **Alterações estruturais:** Descrevem-se os aspectos relacionados ao estadiamento. São graduadas de 0 a 4, sendo 0 a arquitetura lobular normal; 1 a presença de expansão da área portal por fibrose, com alargamento dessas áreas; 2 expansão fibrosa portal com desenvolvimento

de septos porta-porta; 3 presença de septos porta-porta e porta-centro, com preservação parcial da arquitetura lobular e esboços de nódulos; 4 cirrose;

- **Alterações necroinflamatórias**, nos compartimentos portal, periportal (hepatite de interface) e lobular, e semiquantificadas quanto à atividade, sendo descritas a seguir:

- **Infiltrado inflamatório portal/septal**: Semiquantificação dos linfócitos portais, graduados de 0 a 4, da seguinte forma: 0 = raros; 1 = aumento discreto; 2 = aumento moderado; 3 = aumento acentuado; 4 = aumento muito acentuado de linfócitos portais. Essa semiquantificação independe da presença de folículos linfóides;

- **Atividade periportal/ perisseptal**: Avalia a atividade de interface, ou necrose em saca-bocados, entre o espaço-porta e parênquima, graduada de 0 a 4 quanto à presença de necrose, da forma a seguir: 0 = ausência de atividade de interface; 1= presença de linfócitos na interface (*spill-over*), sem achado de necrose em saca-bocados; 2 = necrose em saca-bocados discreta, com focos ocasionais em poucos espaços-porta; 3 = necrose em saca-bocados moderada, com focos ocasionais em muitos espaços-porta ou extensas áreas de necrose em poucos espaços-porta; 4 = necrose em saca-bocados acentuada, em muitos espaços-porta ou com áreas extensas de necrose;

- **Atividade parenquimatosa**: A graduação de inflamação lobular é baseada na presença de agregados inflamatórios e corpos acidófilos identificados por área, categorizada de 0 a 4, sendo 0 ausente; 1 tumefação discreta de hepatócitos, infiltrado linfocitário sinusoidal e raros focos de

necrose; 2 numerosos sítios de necrose lítica hepatocitária; 3 áreas limitadas de necrose confluyente; 4 necrose confluyente em múltiplas áreas ou áreas de necrose pan-acinar.

Diversas classificações internacionais são utilizadas no estadiamento e graduação das hepatites crônicas. A tabela 1 fornece uma equivalência aproximada da classificação da Sociedade Brasileira de Hepatologia, 2000, às classificações Metavir (1994) e Ishak (1995).

**Tabela 1- Equivalência dos sistemas de classificação das hepatites crônicas**

<b>ALTERAÇÃO ARQUITETURAL (FIBROSE)</b>		
<b>SBP, 2000</b>	<b>METAVIR, 1994</b>	<b>ISHAK, 1995</b>
0	0	0
1	1	1 ou 2
2	2	3
3	3	4 ou 5
4	4	6

ATIVIDADE INFLAMATÓRIA		
SBP, 2000, e ISHAK, 1995		METAVIR, 1994
Atividade periportal	Atividade parenquimatosa	
0 ou 1	0	0
0 ou 1	1 ou 2	1
2	0 – 1	1
2	2	2
2	3 – 4	3
3	0 – 2	2
3	3 – 4	3
4	0 – 4	3

[ Fonte: Mello e Alves, 2007]

Na avaliação histológica da doença hepática gordurosa não alcoólica, segundo diretrizes da Sociedade Brasileira de Patologia, assim se descrevem os parâmetros pesquisados:

- ***Esteatose macrovacuolar***. Resulta do acúmulo de lipídios nos hepatócitos, principalmente triglicérides, com a formação de um grande vacúolo no citoplasma que desloca periféricamente o seu núcleo. Nos adultos com DHGNA, esse acometimento predomina na zona 3 do ácino hepático, mas também pode ser azonal ou panacinar. A DHGNA é definida como a presença de esteatose macrovesicular acometendo acima de 5% dos hepatócitos e graduada quanto à intensidade em: 0 = ausente ou

comprometendo menos de 5% dos hepatócitos; 1 = comprometimento de 5 a 33% dos hepatócitos; 2 = presente em 33% até 66% dos hepatócitos; 3 = acometimento acima de 66% (Kleiner *et al.*, 2005);

- **Esteatose microvacuolar.** Resulta do acúmulo de vacúolos de gordura pequenos e múltiplos, porém definidos, no citoplasma dos hepatócitos. A distribuição das microgotículas de gordura não desvia o núcleo, e os hepatócitos envolvidos não aumentam de tamanho, diferentemente do observado na esteatose macrovacuolar. Quanto à presença, está semiquantificado quanto à presença em 0 ausente, 1 distribuição escassa e 2 abundante (Kleiner *et al.*, 2005);

- **Balonização hepatocelular.** Caracteriza-se pela presença de hepatócitos maiores que os não envolvidos, com presença de citoplasma mais claro, vacuolado ou finamente granular. Devido à perda da afinidade tintorial, têm aparência de células claras ou vazias (Gayotto, 2001a). São classificados quanto à intensidade em: 0 = ausente; 1 = raros; 2 = balonização proeminente em vários hepatócitos (Kleiner *et al.*, 2005);

- **Fibrose:** O padrão característico da fibrose que distingue a esteato-hepatite não alcoólica não cirrótica de outras doenças hepáticas crônicas é a deposição inicial de colágeno nos espaços perissinusoidais na zona 3 do ácino hepático. Quando densa, a fibrose pode ser detectada pela coloração de HE, mas é mais facilmente detectada com o emprego de coloração específica para a fibrose, como o tricômio de Masson (Kleiner *et al.*, 2005). No estudo, avaliou-se a fibrose quanto à localização em perissinusoidal/pericelular, perivenular, portal e septal. A fibrose perivenular

caracteriza os estágios iniciais da esteato-hepatite, enquanto, com a progressão, aparecem a fibrose portal e septal. A fibrose perissinusoidal e perivenular foram semiquantificadas de 0 a 4, sendo: 0= ausente, 1= leve; 2= moderada; 3= acentuada; 4= muito acentuada.

- **Corpúsculos hialinos de Mallory-Denk:** Localizados usualmente no citoplasma de hepatócitos balonizados na zona 3 de Rappaport, são inclusões perinucleares formadas por agregados de polipeptídeos do citoesqueleto, de material amorfo eosinofílico e com formatos irregulares. São semiquantificados de 0 a 2 (ausente, escassos ou abundantes);

- **Pseudoinclusão nuclear de glicogênio:** Acúmulo de glicogênio no núcleo dos hepatócitos é achado mais frequente na DHGNA que na doença hepática alcoólica, tendo distribuição zonal. É semiquantificado de 0 a 2, sendo 0 ausente, 1 raros e 2 abundantes.

Achados histológicos como a presença de agregados ou folículos linfoides portais, lesão ao epitélio dos ductos biliares e grau de siderose foram descritos. Semiquantificação de 0 a 4 foi utilizada para a presença de reação ductular assim como a deposição de ferro nas células de Kupffer e/ou nos hepatócitos.

#### **4.7 Graduação de achados histopatológicos em relação aos dados clínico-laboratoriais**

Dois níveis de graduação de cada variável histopatológica, indicativos de maior ou menor atividade histológica, foram utilizados para a comparação

estatística com variáveis clínicas e laboratoriais em relação à média e desvio-padrão. As variáveis utilizadas foram: idade, IMC, plaquetas, ALT, AST, APRI, glicemia de jejum, colesterol total, HDL-colesterol e triglicérides.

Também foram relacionados os valores de glicemia de jejum com fibrose perivenular e perissinusoidal em dois grupos, a saber, com ou sem esteatose hepática.

As variáveis histológicas foram consideradas conforme a descrição abaixo:

- Alterações arquiteturais foram agrupadas como 0-1 (leve) e 2-4 (moderada a grave), levando em consideração a indicação ou não de tratamento antiviral;
- Infiltrado portal: 0-2 (leve) e 3-4 (grave);
- Atividade periportal/septal: 0-1 (ausente ou leve) e 2-4 (necrose);
- Atividade parenquimatosa: 0-2 (ausente ou necrose discreta) e 3-4 (necrose grave);
- Fibrose perivenular, fibrose perissinusoidal, reação ductular, acúmulo de ferro nos hepatócitos e /ou células de Kupffer: 0-1 (ausente ou leve) e 2-4 (moderado a grave);
- Esteatose macrovacuolar: 0-1 (ausente ou leve) e 2-3 (moderada a grave);
- Esteatose microvacuolar e balonização hepatocelular: 0-1 (ausente ou leve e discreta) e 2 (grave);
- Corpúsculos hialinos de Mallory-Denk e vacuolação nuclear: 0 (ausente) e 1-2 (presente).

Para a análise univariada e multivariada foram utilizados como variáveis dependentes os parâmetros histológicos graduados, como descritos acima, e, como variáveis independentes, as descritas a seguir: genótipo viral (tipo 3 ou tipos não 3), sexo (masculino ou feminino), idade à biópsia ( $<$  ou  $\geq$  45 anos), IMC ( $<$  25 ou  $\geq$  25 kg/m<sup>2</sup>), uso passado de álcool (sim ou não), APRI ( $<$  1,5 ou  $\geq$  1,5), alteração glicêmica (presente ou ausente) e/ou diabetes, perfil lipídico da síndrome metabólica (presente ou ausente) e indicação ou não de tratamento posterior à biópsia.

#### **4.8 Definição de grupos histopatológicos**

Para o estudo da doença hepática crônica pelo vírus C associada com a doença hepática gordurosa não alcoólica, foram considerados os dois grupos principais deste último, ou seja, esteatose hepática e esteato-hepatite não alcoólica. Os pacientes foram então classificados em três grupos, definidos a seguir:

- Hepatite crônica pelo vírus C (HCVC);
- Hepatite crônica pelo vírus C associada à esteatose (HCVC com esteatose): a esteatose foi definida pela presença de esteatose macrovacuolar maior ou igual a 1 (acima de 5% de hepatócitos acometidos);
- Hepatite crônica pelo vírus C associada à esteato-hepatite não alcoólica (HCVC com EHNA): a esteato-hepatite não alcoólica foi definida pela presença de esteatose macrovacuolar grau  $\geq$  1



associado à fibrose perissinusoidal grau  $\geq 1$ , com ou sem corpúsculos hialinos de Mallory Denk (Brunt *et al.*, 2003; Kleiner *et al.*, 2005b; Bedossa *et al.*, 2007; Oliveira *et al.*, 2007).

Uma vez estabelecida a prevalência dos dois grupos de pacientes – hepatite crônica pelo vírus C associada à esteatose e hepatite crônica pelo vírus C associada à esteato-hepatite – procedeu-se à análise estatística correlacionando sua presença com as seguintes variáveis: genótipo viral, sexo, idade à biópsia, IMC, uso passado de álcool, APRI, alteração glicêmica e/ou diabetes, perfil lipídico da síndrome metabólica e indicação ou não de tratamento posterior à biópsia. Na associação com esteatose ou esteato-hepatite não alcoólica, foram avaliados os valores médios e desvios-padrões do IMC, assim como dos níveis séricos de glicemia de jejum, colesterol total, HDL-colesterol e triglicérides.

Objetivando uma análise mais específica já descrita na literatura e relacionada à interação entre hepatite crônica pelo vírus C, esteatose metabólica e esteatose viral induzida, outro estudo foi delineado com censura de pacientes com genótipo 2 nos três grupos. Nesse estudo comparativo, excluíram-se os dois pacientes com genótipo 2, de que resultou um total de 79 pacientes, nos quais foi realizada a distribuição dos grupos de acordo com a presença das seguintes variáveis: idade, sexo, genótipo viral, IMC, alteração glicêmica, perfil lipídico da síndrome metabólica e indicação de tratamento antiviral.

Considerando o estágio de fibrose na primeira biópsia, dividido em 0-1 e 2-4, realizou-se nova análise, em que se compararam os três grupos com as variáveis clínico-laboratoriais acima descritas.

#### **4.9 Variáveis estudadas**

##### a) Variáveis demográficas

- Sexo: masculino e feminino
- Idade: medida em anos (variável contínua)

##### b) Variáveis antropométricas

- IMC: medido em  $\text{kg/m}^2$  (variável contínua)

##### c) Variáveis clínicas

- Genotipagem do VHC: genótipo 1, genótipo 2, genótipo 3 e outros genótipos
- Tempo médio entre as biópsias: medido em meses (variável contínua)
- Grupos: não tratamento e não respondedor
- Álcool: sim ou não
- Tempo de abstinência do álcool: medido em meses (variável contínua)
- HAS: sim e não
- Dislipidemia: sim e não
- DM tipo 2: sim e não

- Alteração glicêmica: sim e não

d) Variáveis laboratoriais

- Plaquetas: variável contínua
- ALT: (LSN<sup>-1</sup>), variável contínua
- AST: (LSN<sup>-1</sup>), variável contínua
- APRI: variável contínua
- APRI  $\geq 1,5$ : sim e não
- Glicemia de jejum: medida em mg/dl (variável contínua)
- Colesterol total: medido em mg/dl (variável contínua)
- HDL-Colesterol: medido em mg/dl (variável contínua)
- Triglicéride: medido em mg/dl (variável contínua)

e) Variáveis histológicas

Para comparações estatísticas entre grupos ou variáveis:

- Alterações arquiteturais: 0-1 e 2-4
- Infiltrado portal: 0-2 e 3-4
- Atividade periportal/septal: 0-1 e 2-4
- Atividade parenquimatosa: 0-2 e 3-4
- Fibrose perivenular, fibrose perissinusoidal, reação ductular, acúmulo de ferro nos hepatócitos e /ou células de Kupffer: 0-1 e 2-4
- Esteatose macrovacuolar: 0-1 e 2-3
- Esteatose microvacuolar e balonização hepatocelular: 0-1 e 2
- Corpúsculos hialinos de Mallory-Denk e vacuolação nuclear: 0 e 1-2.

#### 4.10 Análise estatística

As variáveis quantitativas contínuas foram expressas em termos de seus valores de tendência central e de dispersão e as variáveis qualitativas expressas segundo o número e a percentagem.

Para a análise estatística dos resultados, aplicaram-se os seguintes testes:

- Para comparar as variáveis categóricas, o teste de associação pelo qui-quadrado ( $\chi^2$ ) e, em casos em que o valor “esperado” seja menor do que 5, o teste Exato de Fisher. A ANOVA foi utilizada para comparar variáveis contínuas por variável categórica;

- Para avaliar a associação de diferentes graduações de parâmetros histopatológicos com variáveis clínicas e laboratoriais, as análises simples e múltipla mediante regressão logística. Na análise múltipla, para selecionar a variável que melhor explica a variável resposta, o método de seleção *forward*. O método de entrada foi por nível de significância sem a presença obrigatória de uma variável específica no modelo.

Valores de  $p < 0,05$  foram considerados significantes.

Os dados foram analisados com o programa estatístico SPSS versão 15.0.

## **5 RESULTADOS**

### **5.1 Caracterização clínico-laboratorial dos pacientes**

Dos 81 pacientes submetidos ao estudo, quarenta e nove eram do sexo masculino (60,5%) e trinta e dois do sexo feminino (39,5%). A média de idade dos pacientes à primeira biópsia foi de 38,3 anos, com idade mínima de 14 e máxima de 61 anos; na segunda biópsia, a média de idade foi de 42,3 anos. O genótipo do VHC tipo 1 foi prevalente em 67 pacientes (82,7%), enquanto o genótipo 2 esteve presente em dois casos (2,5%) e o genótipo 3 em doze pacientes (14,8%). A média de tempo entre a primeira biópsia e a rebiópsia foi de 47,5 meses (dp= 13,2), com mínimo de 15 e máximo de 84 meses.

Passado de ingestão de álcool esteve presente em 29 pacientes, sendo a média de tempo de abstinência de  $28,8 \pm 33$  meses anterior à biópsia inicial.

O índice de massa corpórea (IMC) foi avaliado nos 81 pacientes. A média de IMC na ocasião da primeira e segunda biópsia foi de  $26 \pm 4$  kg/m<sup>2</sup> e  $26,4 \pm 4$  kg/m<sup>2</sup>, respectivamente. Em 66,7% dos pacientes não houve necessidade de tratamento antiviral após a primeira biópsia e 33,3% eram não respondedores. Os dados acima foram sintetizados na tabela 2.

**Tabela 2 - Características clínicas dos 81 pacientes incluídos no estudo**

<b>Variável</b>	<b>N (%)</b>
<b>Sexo (masculino/feminino)</b>	49/32 (60,5%/39,5%)
<b>Genótipo 1 / Genótipo 2</b>	67/2 (82,7%/2,5%)
<b>Genótipo 3</b>	12 (14,8%)
<b>Não tratamento/ tratamento</b>	54/27 (66,7%/33,3%)
<b>Passado de etanol</b>	29(35,8%)

N = Número de casos

Analisando a prevalência de condições clínicas associadas à síndrome metabólica, 36 pacientes (44,4%) apresentavam dislipidemia, 14 (17,3%) tinham antecedentes de hipertensão arterial sistêmica, 5 (6,2%) alteração glicêmica e 2 (2,5%) eram diabéticos. Segundo a definição do ATPIII, a síndrome metabólica esteve presente em 5 (6,2%) dos 81 pacientes submetidos ao estudo, os quais apresentavam três ou mais critérios para o diagnóstico. Trinta e sete (45,7%) não apresentavam nenhum critério para a SM, 29 (35,8%) tinham um critério e 10 (12,3%) apresentavam dois critérios. O índice de massa corpórea maior ou igual a 30 esteve presente em 12 (14,8%) pacientes (tabela 3).

**Tabela 3 - Prevalência das condições clínicas nos 81 pacientes**

<b>Variável</b>	<b>%</b>
<b>Passado de etanol</b>	35,8
<b>HAS</b>	17,3
<b>Perfil lipídico alterado</b>	44,4
<b>Alteração glicêmica</b>	6,2
<b>Diabetes</b>	2,5
<b>Síndrome metabólica</b>	6,2
<b>Sobrepeso</b>	38,3
<b>Obesidade</b>	14,8

N = Número de casos

Na avaliação laboratorial referente à primeira biópsia, os valores médios de ALT e AST foram, respectivamente, 2,2 (dp= 1,58) e 1,65 (dp= 0,99) em relação ao limite superior ao normal (LSN). O valor médio da contagem de plaquetas foi de  $221,07 \times 10^3/\text{mm}^3$  (dp= 51,6) e a média do índice de APRI de 0,79 (dp= 0,64). A média de glicemia de jejum foi de 88,28 mg/dL (dp= 19,49). No perfil lipídico, o nível sérico médio de colesterol total foi de 164,88 mg/dL (dp= 38,09), enquanto o HDL-colesterol e triglicéride foram, em média, respectivamente, 49,7 mg/dL (dp= 14,8) e 97,8 mg/dL (dp= 40,17).

Na segunda biópsia, os valores médios de ALT e AST foram, respectivamente, de 2,14 x LSN (dp= 1,37) e 1,63 x LSN (dp= 1,04), enquanto a contagem de plaquetas e o índice de APRI foram, em média, respectivamente,  $214,15/\text{mm}^3$  (dp= 46,34) e 0,8 (dp= 0,63). A média dos níveis séricos de glicemia de jejum, colesterol total, HDL-colesterol e triglicéride foram, respectivamente, de 91,69 mg/dL (dp= 10,73), 163,57 mg/dL (dp= 34,44), 51,02 mg/dL (dp= 15,67) e 99,11 mg/dL (dp= 43,06). O perfil laboratorial realizado previamente as duas biópsias está sumarizado na tabela 4.

Os dados clínicos e laboratoriais referentes à primeira biópsia e rebiópsia dos 81 pacientes estão demonstrados nos Anexo E e F.



**Tabela 4 - Análise descritiva do perfil laboratorial dos 81 pacientes relacionados às duas biópsias**

Variável	1ª BIÓPSIA Média ± dp	2ª BIÓPSIA Média ± dp
ALT (LSN <sup>-1</sup> )*	2,2 ± 1,58	2,14 ± 1,37
AST (LSN <sup>-1</sup> )*	1,65 ± 0,99	1,63 ± 1,04
Plaquetas (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	221,07 ± 51,6	214,15 ± 46,34
APRI	0,79 ± 0,64	0,8 ± 0,63
Glicemia (mg/dL)	88,28 ± 19,49	91,69 ± 10,73
Colesterol total (mg/dL)	164,88 ± 38,09	163,57 ± 34,44
HDL-colesterol (mg/dL)	49,7 ± 14,8	51,02 ± 15,67
Triglicéride (mg/dL)	97,8 ± 40,17	99,11 ± 43,06

\* LSN - Limite superior normal; dp- Desvio-padrão

A descrição dos achados histopatológicos relacionados à primeira biópsia hepática e a rebiópsia encontram-se no anexo G. Arquitetura lobular normal esteve presente em 15/81 pacientes (18,5%), expansão fibrosa portal em 39 (48,1%), expansão fibrosa portal com septos porta-porta em 20 (24,7%), transformação nodular em 6 (7,4%) e cirrose em 1 paciente (1,2%). Infiltrado inflamatório portal e septal grau 0 somente foi observado em 2,5%, enquanto em 27,2% houve aumento discreto do número de linfócitos portais. Aumento moderado, acentuado e muito acentuado do número de linfócitos foi encontrado em, respectivamente, 50,6, 16 e 3,7% dos pacientes.

Alterações inflamatórias periportais e lobulares graus 4 estiveram ausentes nos 81 pacientes. Em 65,4% foi observada necrose em sacabocados discreta a moderada; necrose focal de hepatócitos com agregados linfo-histiocitários em 35,8%, associados com a presença de áreas limitadas de necrose confluyente parenquimatosa em 6,2%.

Fibrose perivenular e perissinusoidal, parâmetros histológicos característicos da doença gordurosa do fígado, estiveram ausentes em 34 (42%) e 53 (65,4%), respectivamente. Em 17/81 (21%) observou-se esteatose macrovacuolar com acometimento de 5 a 33% dos hepatócitos, em 15/81 (18,5%) atingiu de 33 a 66% dos hepatócitos e em 3/81 (3,7%), acima de 66%. Esteatose microvacuolar esteve ausente em 70,4% das análises histológicas, mas foi abundante em 7,4%. Acúmulo de glicogênio no núcleo de hepatócitos, de distribuição predominantemente zonal, foi observada em 27,2%; balonização hepatocelular de leve a muito acentuada esteve presente em 59,3% dos pacientes, enquanto inclusões perinucleares de Mallory-Denk foram observadas em apenas 12,4%.

Achados histológicos associados à doença hepática crônica viral ou à doença hepática gordurosa, como sobrecarga de ferro ou lesão de ductos biliares também foram analisados. O depósito de ferro nos hepatócitos ou células de Kupffer não foi achado frequente, com ausência em 93,8% e 82,7% dos pacientes, respectivamente, enquanto a reação ductular esteve presente em 55,6%. Os achados histológicos estão sumarizados na tabela 5.

**Tabela 5 - Análise descritiva da histologia hepática inicial nos 81 pacientes**

Variável	Ausente N (%)	Grau 1 N (%)	Grau 2 N (%)	Grau 3 N (%)	Grau 4 N (%)
<b>Alteração estrutural</b>	15 (18,5)	39 (48,1)	20 (24,7)	6 (7,4)	1 (1,2)
<b>Inf. Inflamatório</b>					
<b>Portal</b>	2 (2,5)	22 (27,2)	41 (50,6)	13 (16)	3 (3,7)
<b>Periportal</b>	19 (23,5)	9 (11,1)	39 (48,1)	14 (17,3)	0
<b>Lobular</b>	3 (3,7)	44 (54,3)	29 (35,8)	5 (6,2)	0
<b>Fibrose</b>					
<b>Perivenular</b>	34 (42)	36 (44,4)	10 (12,3)	1 (1,2)	0
<b>Perissinusoidal</b>	53 (65,4)	21 (25,9)	6 (7,4)	1 (1,2)	0
<b>Esteatose</b>					
<b>Macrovacuolar</b>	46 (56,8)	17 (21)	15 (18,5)	3 (3,7)	-
<b>Microvacuolar</b>	57 (70,4)	18 (22,2)	6 (7,4)	-	-
<b>Vac. nuclear</b>	59 (72,8)	20 (24,7)	2 (2,5)	-	-
<b>Balonização</b>	33 (40,7)	29 (35,8)	19 (23,5)	-	-
<b>C. hial. Mallory-Denk</b>	71 (87,7)	8 (9,9)	2 (2,5)	-	-
<b>Ferro</b>					
<b>Hepatócito</b>	76 (93,8)	3 (3,7)	2 (2,5)	0	0
<b>Kupffer</b>	67 (82,7)	10 (12,3)	4 (4,9)	0	0
<b>Lesão ducto biliar</b>	36 (44,4)	32 (39,5)	11 (13,6)	2 (2,5)	0

N= número de casos; Vac.= vacuolação; C.hial. Mallory-Denk= Corpúsculos hialinos de Mallory-Denk; inf.= infiltrado; 0= não encontrado; -= ausência da graduação nesse item histológico

Na segunda biópsia, foi realizada a análise evolutiva da fibrose como parâmetro de progressão da doença. A arquitetura lobular normal esteve presente apenas em 5 pacientes (6,2%); a expansão fibrosa de espaços-porta em 38 (46,9%); expansão fibrosa portal com septos porta-porta em 26 (32,1%); preservação parcial da arquitetura lobular com formação de septos porta-porta e porta-centro em 8 (9,9%) e cirrose em 4 pacientes (4,9%) (tabela 6).

**Tabela 6 - Análise descritiva de alteração arquitetural na rebiópsia dos 81 pacientes**

<b>ALTERAÇÃO ESTRUTURAL</b>	<b>N (%)</b>
<b>GRAU 0</b>	5 (6,2)
<b>GRAU 1</b>	38 (46,9)
<b>GRAU 2</b>	26 (32,1)
<b>GRAU 3</b>	8 (9,9)
<b>GRAU 4</b>	4 (4,9)

N = Número de casos

## **5.2 Graduações de achados histopatológicos em relação aos dados clínico-laboratoriais**

Na primeira biópsia, 54 (66,7%) pacientes tinham fibrose de grau 0-1 e 27 (33,3%) de grau 2-4. Estágio de fibrose maior ou igual a 2 esteve associado com idade mais avançada ( $43,33 \pm 8,4$  versus  $35,81 \pm 11,8$ ;  $p=0,004$ ). Níveis mais elevados de AST ( $1,98 \pm 1,1$  versus  $1,49 \pm 0,8$ ;  $p=0,034$ ), maior valor de APRI ( $1,02 \pm 0,8$  versus  $0,67 \pm 0,2$ ;  $p=0,019$ ), glicemia mais elevada ( $96,07 \pm 29,4$  versus  $84,39 \pm 10,1$ ;  $p=0,01$ ) e níveis mais elevados de triglicérides ( $111,85 \pm 35,8$  versus  $90,78 \pm 40,7$ ;  $p=0,025$ ) estiveram associados a graus mais elevados de fibrose. Não houve diferença significativa de IMC ( $p=0,59$ ), ALT ( $p=0,035$ ), plaquetas ( $p=0,37$ ), colesterol total ( $p=0,765$ ) e HDL-colesterol ( $p=0,477$ ) em graus de fibrose maior ou igual a 2 (tabela 7).

Na rebiópsia, 43 (53,1%) pacientes apresentavam fibrose grau 0-1 e, 38 (46,9%), fibrose maior ou igual a 2. Estágio de fibrose maior ou igual a 2 esteve associado à idade mais elevada nesses pacientes ( $41,79 \pm 10,5$

versus  $35,26 \pm 11,3$ ;  $p= 0,009$ ), níveis mais elevados de AST ( $1,97 \pm 1,1$  versus  $1,38 \pm 0,7$ ;  $p= 0,007$ ) e maior valor de APRI ( $0,97 \pm 0,6$  versus  $0,62 \pm 0,4$ ;  $p= 0,012$ ). Graus mais elevados de fibrose não estiveram associados ao IMC ( $26,52 \pm 4,7$  versus  $25,62 \pm 4,3$ ;  $p= 0,373$ ), aos valores de ALT ( $p= 0,377$ ), contagem de plaquetas ( $p= 0,392$ ) ou aos níveis séricos de glicose, triglicérides, colesterol total ou HDL-colesterol ( $p= 0,863$ ,  $p=0,897$ ,  $p= 0,303$  e  $p= 0,318$ , respectivamente) (tabela 7).

**Tabela 7 - Dados clínicos e laboratoriais relacionados a diferentes graus de alterações estruturais em biópsias pareadas**

Dados Clínicos e Laboratoriais	ALTERAÇÕES ARQUITETURAIS - 1ª BIÓPSIA		*p-valor	ALTERAÇÕES ARQUITETURAIS - 2ª BIÓPSIA		*p-valor
	0-1 (n=54)	2-4 (n=27)		0-1 (n=43)	2-4 (n=38)	
Idade (anos)						
Média ± dp	35,8±11,8	43,3±8,4	<b>0,004</b>	35,2±11,3	41,7±10,5	<b>0,009</b>
IMC (kg/m <sup>2</sup> )						
Média ± dp	25,8±4,8	26,4±3,7	0,591	25,6±4,2	26,5±4,7	0,373
Plaquetas(mm <sup>3</sup> )						
Média ± dp	224,7±48,1	213,7±58,1	0,369	225,7±49,2	215,8±54,3	0,392
ALT (xLSN)						
Média ± dp	2,1±1,6	2,3±1,5	0,659	2±1,4	2,3±1,7	0,377
AST (xLSN)						
Média ± dp	1,4±0,8	1,9±1,1	<b>0,035</b>	1,3±0,7	1,9±1,1	<b>0,007</b>
APRI						
Média ± dp	0,6±0,4	1,02±0,8	<b>0,019</b>	0,6±0,4	0,97±0,7	<b>0,012</b>
Glicemia mg/dl)						
Média ± dp	84,3±10,1	96±29,3	<b>0,01</b>	87,9±25,5	88,6±9	0,863
Colest. (mg/dl)						
Média ± dp	165,7±38,3	163±38,1	0,765	169±37,3	160,2±38,9	0,303
HDL-col (mg/dl)						
Média ± dp	50,5±15,1	48±14,2	0,477	51,2±16	47,9±13,2	0,318
Triglic. (mg/dl)						
Média ± dp	90,7±40,6	111,8±35,8	<b>0,025</b>	98,3±44,7	97,1±34,9	0,897

\* ANOVA

Abreviações: n: número de casos; IMC: índice de massa corpórea; ALT: alanina aminotransferase; AST: aspartato aminotransferase; xLSN: limite superior ao normal; HDL: lipoproteínas de alta densidade; Triglic.: triglicéride

Atividade inflamatória portal de graus leve a moderado foi observada em 80,2% dos pacientes. Graus 3-4 (acentuado a muito acentuado) de infiltrado inflamatório portal esteve significativamente associado à idade avançada ( $44,44 \pm 10,5$  versus  $36,82 \pm 11,4$ ;  $p= 0,015$ ), IMC mais elevado ( $28,65 \pm 5,7$  versus  $25,4 \pm 4$ ;  $p= 0,009$ ) e aos valores mais elevados de AST e APRI ( $2,28 \pm 1,4$  versus  $1,5 \pm 0,8$ ;  $p= 0,004$  e  $1,19 \pm 1,1$  versus  $0,69 \pm 0,4$ ;  $p= 0,004$ , respectivamente). As demais variáveis de interesse, como ALT, plaquetas, assim como glicemia, triglicérides, colesterol total e HDL-colesterol não foram estatisticamente significantes. Os dados encontram-se na tabela 8.

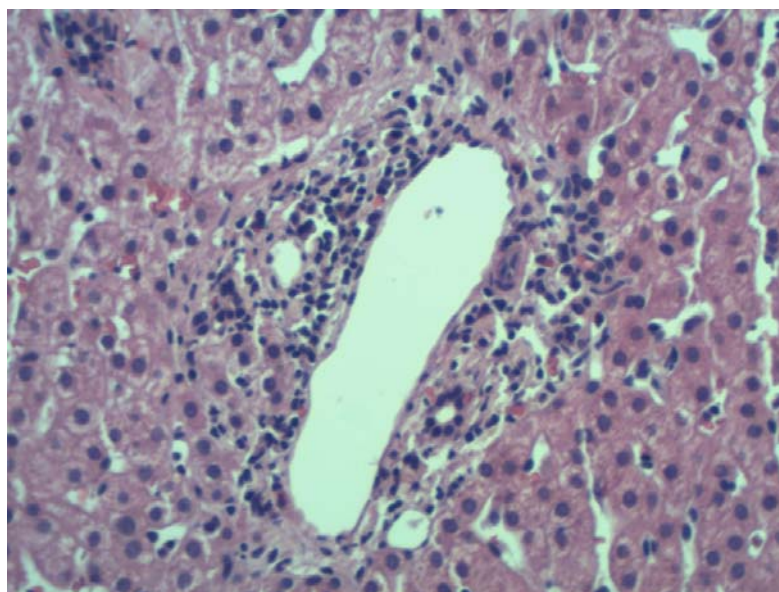
**Tabela 8 - Dados clínicos e laboratoriais relacionados a diferentes graus de atividade inflamatória portal**

Dados Clínicos e Laboratoriais	INFILTRADO PORTAL		
	0-2 (n=65)	3-4 (n=16)	*p-valor
Idade (anos)			
Média ± dp	36,8±11,1	44,4±10,4	<b>0,015</b>
IMC (kg/m <sup>2</sup> )			
Média ± dp	25,4±3,9	28,6±5,6	<b>0,009</b>
Plaquetas(mm <sup>3</sup> )			
Média ± dp	222,5±51,6	215±52,7	0,606
ALT (xLSN)			
Média ± dp	2±1,4	2,7±2	0,159
AST (xLSN)			
Média ± dp	1,5±0,7	2,2±1,4	<b>0,004</b>
APRI			
Média ± dp	0,6±0,4	1,1±1	<b>0,004</b>
Glicemia mg/dl)			
Média ± dp	88±20,7	89,1±13,4	0,849
Colest. (mg/dl)			
Média ± dp	161,4±39,2	178,8±30,2	0,101
HDL-col (mg/dl)			
Média ± dp	49,5±14,6	50,1±15,8	0,856
Triglic. (mg/dl)			
Média ± dp	94,7±43,2	110±20,4	0,174

\* ANOVA

Abreviações: n: número de casos; IMC: índice de massa corpórea; ALT: alanina aminotransferase; AST: aspartato aminotransferase; xLSN: limite superior ao normal; HDL: lipoproteínas de alta densidade; Triglic.: triglicéride.

Atividade inflamatória periportal e septal ausente ou sem necrose hepatocelular foram observadas em 28 pacientes (34,6%), havendo nos 53 restantes a presença de necrose em saca-bocados de discreta até acometimento de extensas áreas (graus 2-4) (Figura 1). Graus mais elevados de atividade inflamatória periportal estiveram associados à idade mais avançada ( $40,7 \pm 10,9$  versus  $33,82 \pm 11$ ;  $p= 0,009$ ), ao IMC ( $26,88 \pm 4,9$  versus  $24,44 \pm 3,2$ ;  $p= 0,019$ ), nível de AST ( $1,89 \pm 1,1$  versus  $1,21 \pm 0,3$ ;  $p= 0,003$ ), APRI ( $0,93 \pm 0,7$  versus  $0,52 \pm 0,2$ ;  $p= 0,006$ ) e aos níveis de glicemia ( $91,83 \pm 22,5$  versus  $81,57 \pm 8,4$ ;  $p= 0,023$ ). Uma tendência à significância foi observada em graus maiores de atividade inflamatória periportal e valores de ALT ( $2,43 \pm 1,8$  versus  $1,77 \pm 0,9$ ;  $p= 0,074$ ) e não estiveram estatisticamente associadas às variáveis de plaquetas, triglicérides, colesterol total e HDL-colesterol ( $p > 0,05$ ).



**Figura 1- Caso nº 3 – Hepatite crônica com alteração estrutural grau 1: infiltrado inflamatório portal grau 2, atividade periportal grau 2 (Coloração:hematoxilina-eosina, aumento original de 200 x)**

Com relação à atividade parenquimatosa de leve a necrose focal (0-2), este achado foi predominante em 93,8% dos pacientes analisados. Maiores níveis de AST ( $3,02 \pm 1,9$  versus  $1,56 \pm 0,8$ ;  $p= 0,001$ ), menores valores de plaquetas ( $171,8 \pm 33,9$  versus  $224,32 \pm 51$ ;  $p= 0,027$ ) e maior valor de APRI ( $1,99 \pm 1,6$  versus  $0,71 \pm 0,4$ ;  $p < 0,001$ ) estiveram significativamente associados com atividade lobular grave. Na tabela 9 estão sumarizados os dados acima.



**Tabela 9 - Dados clínicos e laboratoriais relacionados a diferentes graus de atividade inflamatória periportal e atividade lobular**

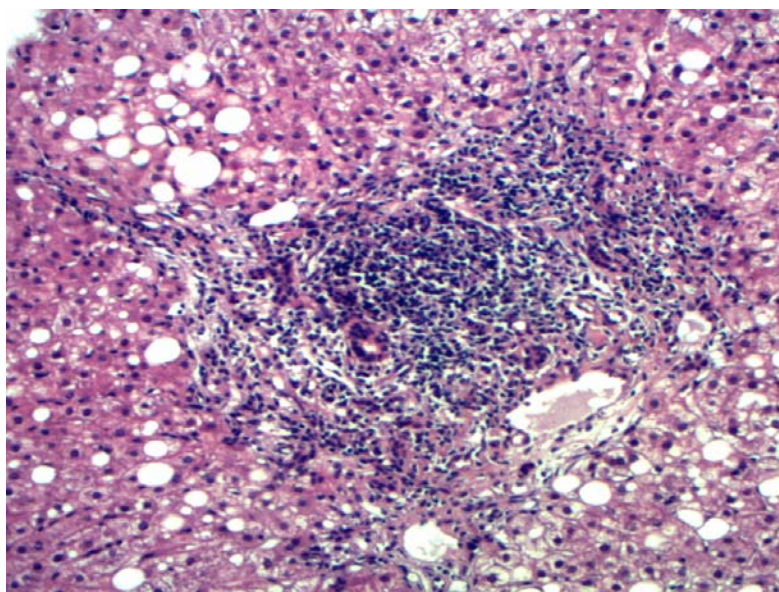
Dados Clínicos e Laboratoriais	ATIVIDADE PERIPORTAL		*p-valor	ATIVIDADE LOBULAR		*p-valor
	0-1 (n=28)	2-4 (n=53)		0-2 (n=76)	3-4 (n=5)	
Idade (anos)						
Média ± dp	33,8±11	40,7±10,9	<b>0,009</b>	38±11,6	42,4±6,4	0,434
IMC (kg/m <sup>2</sup> )						
Média ± dp	24,4±3,2	26,8±4,8	<b>0,019</b>	25,9±4,4	28±5,9	0,298
Plaquetas(mm <sup>3</sup> )						
Média ± dp	226,6±53,2	218,1±50,9	0,486	224,3±51	171,8±33,8	<b>0,027</b>
ALT (xLSN)						
Média ± dp	1,7±0,8	2,4±1,8	0,074	2,1±1,5	3±1,8	0,242
AST (xLSN)						
Média ± dp	1,2±0,3	1,8±1,1	<b>0,003</b>	1,5±0,8	3±1,9	<b>0,001</b>
APRI						
Média ± dp	0,5±0,2	0,9±0,7	<b>0,006</b>	0,7±0,4	1,9±1,6	<b>&lt;0,001</b>
Glicemia mg/dl)						
Média ± dp	81,5±8,4	91,8±22,5	<b>0,023</b>	88,2±20	88,8±7,7	0,952
Colest. (mg/dl)						
Média ± dp	165,1±42,7	164,7±35,8	0,959	164,6±38,7	168,6±29,5	0,823
HDL-col (mg/dl)						
Média ± dp	50,6±15,4	49,1±14,5	0,669	50,1±15	42,8±8,2	0,284
Triglic. (mg/dl)						
Média ± dp	94,5±49,1	99,5±34,9	0,602	97,4±41,1	103,2±23,5	0,759

\* ANOVA

Abreviações: n: número de casos; IMC: índice de massa corpórea; ALT: alanina aminotransferase; AST: aspartato aminotransferase; xLSN: limite superior à normalidade; HDL: lipoproteínas de alta densidade; Triglic.: triglicéride.

A esteatose macrovacuolar esteve presente em 43,2% dos pacientes (35/81), sendo ausente e leve (0-1) em 63 (77,8%) e moderada a grave (2-3) nos 18 restantes (22,2%) (Figura 2). Valores mais elevados de IMC foram significativamente maiores para esteatose macrovacuolar com acometimento em mais de 33% dos hepatócitos ( $28,23 \pm 4,7$  versus  $25,41 \pm 4,3$ ;  $p= 0,018$ ). Valores mais baixos de colesterol total e HDL-colesterol associaram-se com esteatose macrovesicular moderada a grave ( $147,94 \pm 47$  versus  $169,71 \pm 34$ ;  $p= 0,032$  e  $43,33 \pm 14,7$  versus  $51,52 \pm 14,4$ ;  $p= 0,037$ , respectivamente), com tendência à significância nos valores de ALT ( $2,04 \pm$

1,4 versus  $2,78 \pm 1,9$ ;  $p= 0,08$ ). Não houve associação de graus de esteatose macrovacuolar 2 e 3 com as demais variáveis de interesse (AST,  $p= 0,104$ ; plaquetas,  $p= 0,41$ ; APRI,  $p= 0,3$ ; glicemia,  $p= 0,523$  e triglicérides,  $p= 0,835$ ) (tabela 10).



**Figura 2- Caso nº 60 – Hepatite crônica associada a esteatose com alteração estrutural grau 2: infiltrado inflamatório portal grau 3, atividade periportal grau 3, atividade parenquimatosa grau 2, esteatose macrovacuolar grau 2, reação ductular grau 2 (Coloração: hematoxilina-eosina, aumento original de 100 x)**

Na esteatose microvacuolar, agrupada em 0-1 (ausente a leve) e 2 (abundante), a idade menos avançada ( $28,67 \pm 10$  versus  $39,1 \pm 11,2$ ;  $p= 0,03$ ), menores valores de colesterol total e HDL-colesterol ( $122,5 \pm 44,8$  versus  $168,27 \pm 35,7$ ;  $p= 0,004$  e  $34,5 \pm 9,5$  versus  $50,92 \pm 14,5$ ;  $p= 0,008$ , respectivamente) foram associadas a grau 2 de esteatose microvacuolar.

Vale a pena ressaltar que a esteatose microvacuolar foi abundante em apenas seis pacientes (tabela 10).

**Tabela 10 - Dados clínicos e laboratoriais relacionados a diferentes graus de esteatose macrovacuolar e esteatose microvacuolar**

Dados Clínicos e Laboratoriais	ESTEATOSE MACROVACUOLAR		*p-valor	ESTEATOSE MICROVACUOLAR		*p-valor
	0-1 (n=63)	2-3 (n=18)		0-1 (n=75)	2 (n=6)	
Idade (anos)						
Média ± dp	37,8±11,1	39,8±12,4	0,51	39±11,1	28,6±9,9	<b>0,03</b>
IMC (kg/m <sup>2</sup> )						
Média ± dp	25,41±4,2	28,2±4,6	<b>0,018</b>	26,1±4,5	24,5±3,4	0,393
Plaquetas(mm <sup>3</sup> )						
Média ± dp	223,6±52,2	212,1±49,5	0,41	228,2±52,1	206±46,3	0,461
ALT (xLSN)						
Média ± dp	2±1,4	2,7±1,8	0,08	2,1±1,5	2,4±1,5	0,647
AST (xLSN)						
Média ± dp	1,5±0,9	1,9±0,9	0,105	1,6±1	1,7±0,9	0,826
APRI						
Média ± dp	0,7±0,6	0,9±0,4	0,299	0,7±0,6	0,8±0,3	0,942
Glicemia mg/dl)						
Média ± dp	87,5±21,3	90,8±10,6	0,524	88,1±19,9	90,5±14,2	0,774
Colest. (mg/dl)						
Média ± dp	169,7±34	147,9±47	<b>0,032</b>	168,2±35,7	122,5±44,8	<b>0,004</b>
HDL-col (mg/dl)						
Média ± dp	51,5±14,4	43,3±14,7	<b>0,037</b>	50,9±14,5	34,5±9,5	<b>0,008</b>
Triglic. (mg/dl)						
Média ± dp	97,3±38,1	99,5±47,8	0,835	98,6±39,8	87,1±46,9	0,504

\* ANOVA

Abreviações: n: número de casos; IMC: índice de massa corpórea; ALT: alanina aminotransferase; AST: aspartato aminotransferase; xLSN: limite superior à normalidade; HDL: lipoproteínas de alta densidade; Triglic.: triglicéride.

Na fibrose perivenular e fibrose perissinusoidal, agrupadas em 0-1 (ausente ou leve) a 2-4 (presença de graus moderados a muito acentuados), graus leves foram encontrados em 70 (86,4%) e 74 (91,4%) pacientes, respectivamente. Valores de glicemia foram significativamente mais elevados em graus moderados a grave de fibrose perivenular ( $102,73 \pm 44,7$  versus  $86,01 \pm 10,6$ ;  $p= 0,007$ ) e fibrose perissinusoidal ( $109,14 \pm 56,5$

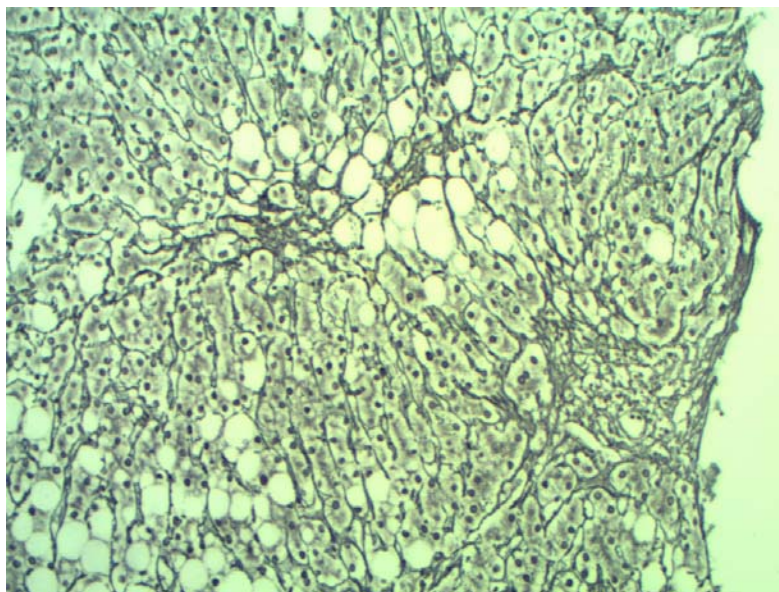
versus  $86,31 \pm 10,4$ ;  $p= 0,002$ ), enquanto menores determinações séricas de HDL-colesterol também estiveram associadas à fibrose perissinusoidal graus 2-4 ( $38,57 \pm 11,7$  versus  $50,76 \pm 14,7$ ;  $p= 0,036$ ). Ainda em relação à fibrose perivenular, uma tendência à significância foi observada em valores mais elevados de AST e APRI ( $2,17 \pm 0,8$  versus  $1,57 \pm 1$ ;  $p= 0,059$  e  $1,1 \pm 0,5$  versus  $0,74 \pm 0,64$ ;  $p= 0,083$ ). Outras variáveis de interesse, como idade, IMC, ALT, plaquetas, colesterol total e triglicéride não alcançaram diferença estatisticamente significativa (tabela 11) (figuras 3 e 4).

**Tabela 11 - Dados clínicos e laboratoriais relacionados a diferentes graus de fibrose perivenular e fibrose perissinusoidal**

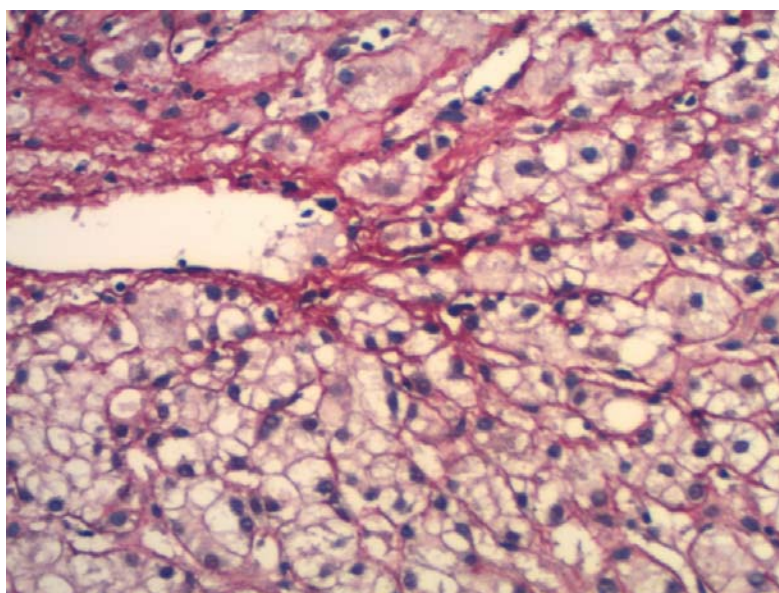
Dados Clínicos e Laboratoriais	FIBROSE PERIVENULAR		*p-valor	FIBROSE PERISSINUSOIDAL		*p-valor
	0-1 (n=70)	2-4 (n=11)		0-1 (n=74)	2-4 (n=7)	
Idade (anos)						
Média ± dp	38,2±11,5	39±10,8	0,811	38,2±11,7	39±6	0,87
IMC (kg/m <sup>2</sup> )						
Média ± dp	25,8±4,7	27±2,4	0,408	25,8±4,6	27,7±2,2	0,294
Plaquetas(mm <sup>3</sup> )						
Média ± dp	222,8±51,1	209,6±55,8	0,432	221,9±50,6	211,4±64,3	0,608
ALT (xLSN)						
Média ± dp	2,1±1,6	2,8±1,3	0,156	2,1±1,5	2,9±1,6	0,201
AST (xLSN)						
Média ± dp	1,5±1	2,1±0,8	0,059	1,6±0,9	2,1±0,9	0,18
APRI						
Média ± dp	0,7±0,6	1,1±0,5	0,083	0,7±0,6	1±0,6	0,184
Glicemia mg/dl)						
Média ± dp	86±10,5	102,7±44,7	<b>0,007</b>	86,1±10,4	109,4±56,4	<b>0,002</b>
Colest. (mg/dl)						
Média ± dp	166,4±37,3	154,8±42,9	0,349	166,9±37,0	142,5±44,9	0,105
HDL-col (mg/dl)						
Média ± dp	50,6±14,5	43,4±15,4	0,133	50,7±14,6	38,5±11,7	<b>0,036</b>
Triglic. (mg/dl)						
Média ± dp	98,1±41,5	95,6±31,1	0,849	98±40,7	94,8±36,3	0,841

\* ANOVA

Abreviações: n: número de casos; IMC: índice de massa corpórea; ALT: alanina aminotransferase; AST: aspartato aminotransferase; xLSN: limite superior à normalidade; HDL: lipoproteínas de alta densidade; Triglic.: triglicéride.



**Figura 3-** Caso nº 64 – Hepatite crônica associada a esteato-hepatite não alcoólica com alteração estrutural grau 2: fibrose centrolobular grau 2 e fibrose perissinusoidal grau 2 (Coloração: picrosirius, aumento original de 100 x)



**Figura 4-** Caso nº 42 – Hepatite crônica associada a esteato-hepatite não alcoólica com alteração estrutural grau 3: fibrose centrolobular e perissinusoidal grau 2 (Coloração: hematoxilina-eosina, aumento original de 200 x)

Os corpúsculos de Mallory-Denk foram agrupados como presentes ou ausentes (1-2 versus 0), estando ausentes em 87,7% dos pacientes (Figura 5). Os valores de plaquetas foram significativamente menores na presença de corpúsculos hialinos de Mallory-Denk ( $190,8 \pm 47$  versus  $225,34 \pm 51,1$ ;  $p= 0,047$ ), enquanto uma tendência à significância foi observada com valores mais elevados de APRI ( $1,13 \pm 0,8$  versus  $0,74 \pm 0,6$ ;  $p= 0,07$ ), menores valores de colesterol total ( $145,9 \pm 58,7$  versus  $167,55 \pm 34$ ;  $p= 0,093$ ) e menores valores de HDL-colesterol ( $41,4 \pm 16,4$  versus  $50,87 \pm 14,3$ ;  $p= 0,057$ ). Acentuada balonização esteve associada ao IMC mais elevado ( $27,83 \pm 5,1$  versus  $25,49 \pm 4,2$ ;  $p= 0,047$ ), maiores valores de ALT e AST ( $3,13 \pm 2$  versus  $1,92 \pm 1,3$ ;  $p= 0,003$  e  $2,49 \pm 1,4$  versus  $1,4 \pm 0,6$ ;  $p < 0,001$ , respectivamente) e maior índice de APRI ( $1,27 \pm 1$  versus  $0,64 \pm 0,4$ ;  $p < 0,001$ ) (Figura 6). Tendência à significância esteve associada à acentuada balonização e menores valores de HDL-colesterol ( $44,68 \pm 15,4$  versus  $51,24 \pm 14,4$ ;  $p= 0,091$ ). Não houve significância estatística quando avaliados os parâmetros de idade, plaquetas, glicemia, colesterol total e triglicéride (tabela 12).

Avaliada a pseudoinclusão nuclear de glicogênio, este achado esteve presente em 27,2% dos pacientes. Na presença de vacuolação nuclear, somente os valores de glicemia foram significativamente maiores ( $95,68 \pm 32,6$  versus  $85,53 \pm 10,5$ ;  $p= 0,036$ ). O acúmulo de ferro localizado nos hepatócitos e/ou nas células de Kupffer foi mínimo, encontrado em dois e quatro pacientes, respectivamente, e insuficiente para a análise estatística. Na presença de reação ductular, dois parâmetros foram estatisticamente

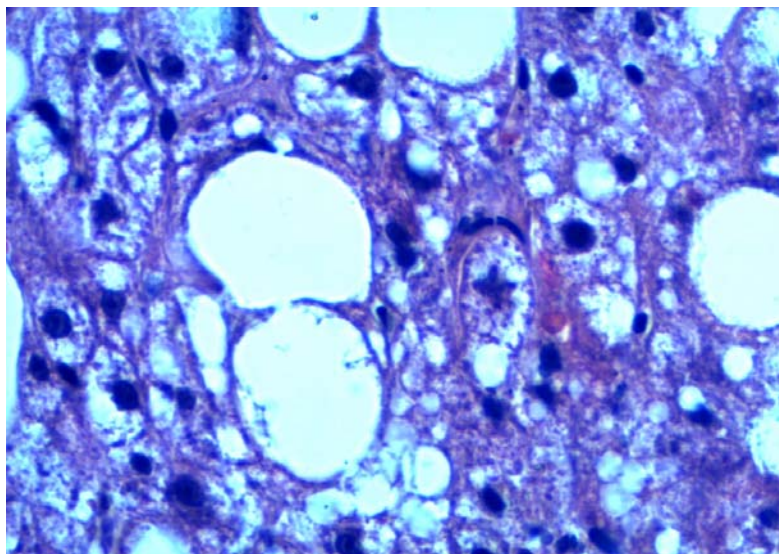
significantes, sendo eles, o índice mais elevado de APRI e valores mais elevados de AST ( $1,2 \pm 1,16$  versus  $0,71 \pm 0,45$  e  $2,13 \pm 1,43$  versus  $1,56 \pm 0,87$ , respectivamente).

**Tabela 12 - Dados clínicos e laboratoriais relacionados a diferentes graus de balonização e corpúsculos hialinos de Mallory-Denk**

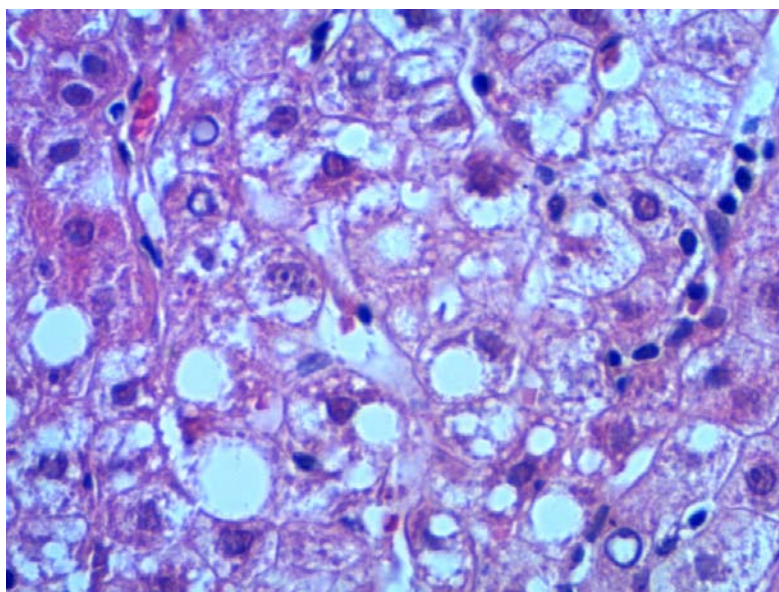
Dados Clínicos e Laboratoriais	BALONIZAÇÃO			C. HIAL. MAL.-DENK		*p-valor
	0-1 (n=62)	2 (n=19)	*p-valor	0 (n=71)	1-2 (n=10)	
Idade (anos)						
Média ± dp	37,7±11,1	40,3±12,3	0,385	38,1±11,3	39,8±12,1	0,663
IMC (kg/m <sup>2</sup> )						
Média ± dp	25,4±4,2	27,8±5	<b>0,047</b>	25,8±4,5	27,6±4,1	0,232
Plaquetas(mm <sup>3</sup> )						
Média ± dp	224,6±49,9	209,5±56,4	0,267	225,3±51	190,8±47	<b>0,047</b>
ALT (xLSN)						
Média ± dp	1,9±1,3	3,1±1,9	<b>0,003</b>	2,1±1,5	2,6±1,5	0,315
AST (xLSN)						
Média ± dp	1,4±0,6	2,4±1,3	<b>&lt;0,001</b>	1,5±0,9	2±1	0,158
APRI						
Média ± dp	0,6±0,3	1,2±0,9	<b>&lt;0,001</b>	0,7±0,6	1,1±0,7	0,07
Glicemia mg/dl)						
Média ± dp	88±21,5	88,95±10,5	0,867	87,6±20,1	93,1±13,7	0,407
Colest. (mg/dl)						
Média ± dp	168,6±33,4	152,4±49,5	0,104	167,5±34	145,9±58,6	0,093
HDL-col (mg/dl)						
Média ± dp	51,2±14,3	44,6±15,3	0,091	50,8±14,2	41,4±16,4	0,057
Triglic. (mg/dl)						
Média ± dp	100,2±41,5	89,7±35,1	0,32	96,5±40,4	106,9±39,1	0,448

\* ANOVA

Abreviações: n: número de casos; C.hial.Mal.-Denk: corpos hialinos de Mallory-Denk; IMC: índice de massa corpórea; ALT: alanina aminotransferase; AST: aspartato aminotransferase; xLSN: limite superior à normalidade; HDL: lipoproteínas de alta densidade; Triglic.: triglicéride.



**Figura 5-** Caso nº 34 – Hepatite crônica associada a esteato-hepatite não alcoólica com alteração estrutural grau 2: corpúsculos hialinos de Mallory-Denk grau 2 (Coloração: hematoxilina-eosina, aumento original de 400 x)



**Figura 6-** Caso nº 19 – Hepatite crônica associada a esteato-hepatite não alcoólica com alteração estrutural grau 2: esteatose macrovacuolar e microvacuolar grau 1, balonização hepatocelular grau 2 e corpúsculos hialinos de Mallory-Denk grau 2 (Coloração: hematoxilina-eosina, aumento original de 400 x)



### 5.3 Avaliação do desenvolvimento da fibrose perivenular e perissinusoidal e associação com a glicemia de jejum

Não houve diferença estatisticamente significativa na presença de fibrose perivenular moderada a grave em relação aos valores de glicemia de jejum e à presença ou não de esteatose, como demonstrado na tabela 13.

**Tabela 13 - Graduação de esteatose macrovacuolar correlacionada a diferentes graduações de fibrose perivenular e níveis de glicemia**

GLICEMIA	ESTEATOSE MACROVACUOLAR	ESTEATOSE MACROVACUOLAR
	0	1 A 3
<b>FIBROSE PERIVENULAR 0 A 1</b> Média ± dp N	83,58 ± 10,04 45	90,4 ± 10,32 25
<b>FIBROSE PERIVENULAR 2 A 4</b> Média ± dp N	85 ± 0 1	104,5 ± 46,73 10

\* ANOVA : p= 0,53

N: número de casos; dp: Desvio-padrão

Não foi possível analisar a interação entre níveis séricos de glicemia de jejum e diferentes graduações de fibrose perissinusoidal e presença ou não de esteatose por não ter havido pacientes com fibrose perissinusoidal de grau 0 a 1 na ausência de esteatose (tabela 14).

**Tabela 14 - Graduação de esteatose macrovacuolar correlacionada a diferentes graduações de fibrose perissinusoidal e níveis de glicemia**

GLICEMIA	ESTEATOSE MACROVACUOLAR	ESTEATOSE MACROVACUOLAR
	0	1 A 3
<b>FIBROSE PERISSINUSOIDAL 0 A 1</b> Média ± dp N	83,61 ± 9,93 46	90,75 ± 9,82 28
<b>FIBROSE PERISSINUSOIDAL 2 A 4</b> Média ± dp N	-	109,14 ± 56,47 7

\* ANOVA : não calculado; número insuficiente para análise.  
N: número de casos; dp: Desvio-padrão; -: Não existente.

#### **5.4 Fatores associados a maiores alterações de parâmetros histopatológicos**

Utilizando a regressão logística simples, graus de fibrose maior ou igual a 2 estiveram associados a indicação de tratamento antiviral [OR 43,12 (95% IC 11,32-164,31);  $p < 0,001$ ]. Foi observada tendência à significância para as variáveis de alteração glicêmica e perfil lipídico da síndrome metabólica [OR 9,22 (95% IC 0,98-87,04);  $p = 0,052$ ] e OR 2,47 (95% IC 0,96-6,37);  $p = 0,06$ . Na análise de regressão logística múltipla, com método de seleção *forward*, somente a indicação de tratamento antiviral esteve associada ao grau de fibrose maior ou igual a 2 [OR 43,12 (95% IC 11,32-164,31);  $p < 0,001$ ].

Indicação de tratamento antiviral esteve associada a graus 3-4 de atividade inflamatória portal e septal na análise de regressão logística simples e múltipla [OR 4,71 (95% IC 1,48-14,91); p= 0,008].

Na análise univariada da atividade periportal, graus intensos estiveram associados ao IMC  $\geq 25$  [OR 2,97 (95% IC 1,15-7,69); p= 0,025] e indicação de tratamento antiviral [OR 11,61 (95% IC 2,5-53,93); p= 0,001], com tendência à significância para a variável genótipo 3 [OR 7,07 (95% IC 0,86-57,94); p= 0,069] e idade  $\geq 45$  anos [OR 2,79 (95% IC 0,91-8,5); p= 0,071]. No modelo de regressão logística múltiplo com adição *forward*, o genótipo 3 [OR 8,78 (95% IC 1,02-75,91); p= 0,048] e indicação de tratamento antiviral [OR 12,84 (95% IC 2,71-60,83); p= 0,001] foram independentemente associados à atividade peri-portal severa.

O número de pacientes com atividade parenquimatosa grave foi pequeno, com apenas cinco pessoas nos graus 3-4, insuficientes para a análise estatística.

Na tabela 15, consta a análise univariada da presença de esteatose macrovacuolar com comprometimento em mais de 33% dos hepatócitos. Observou-se que os fatores associados foram IMC  $\geq 25$  [OR 6,25 (95% IC 1,64-23,76); p= 0,007], indicação de tratamento antiviral [OR 3,38 (95% IC 1,14-9,99); p= 0,027] e perfil lipídico da síndrome metabólica [OR 3,25 (95% IC 1,08-9,8); p= 0,036]. Houve tendência à associação na presença do genótipo 3 [OR 3,08 (95% 0,84-11,25); p= 0,089]. Somente o IMC permaneceu independentemente associado à esteatose macrovacuolar na análise multivariada. A amostra do grupo de esteatose microvacuolar foi

muito pequena, presente em apenas seis pacientes, impossibilitando a análise estatística.

**Tabela 15 - Análise univariada dos fatores clínicos e laboratoriais associados à esteatose macrovacuolar**

Variável	OR	IC 95%	p-valor
Sexo	1,41	0,47-4,23	0,544
Passado de álcool	2,15	0,74-6,24	0,16
Idade (< 45 ou ≥ 45)	1,16	0,38-3,54	0,798
Indicação de tratamento (sim ou não)	3,38	1,14-9,99	<b>0,028</b>
Genótipo (3 vs 1 e 2)	3,08	0,84-11,25	0,09
IMC (≥ 25 vs < 25)	6,25	1,64-23,76	<b>0,007</b>
Alteração glicêmica	0,87	0,09-8,29	0,901
Dislipidemia	3,25	1,08-9,8	<b>0,036</b>
APRI (≥ 1.5 vs < 1.5)	0,37	0,26-8,18	0,673

OR- Odds ratio; IC 95% - Intervalo de confiança de 95%; vs- versus.

Na presença de corpos hialinos de Mallory-Denk, o índice de APRI ≥ 1,5 esteve associado na análise univariada [OR 7,18 (95% IC 1,33-38,8); p= 0,022]. Houve tendência à significância nos seguintes parâmetros: indicação de tratamento antiviral [OR 3,57 (95% IC 0,91-13,97); p= 0,067]; IMC ≥ 25 [OR 4,11 (95% IC 0,82-20,74); p= 0,086]; alteração glicêmica [OR 5,67 (95% IC 0,82-39,17); p= 0,079] e perfil lipídico da síndrome metabólica [OR 3,38 (95% IC 0,81-14,16); p= 0,095]. No teste de regressão logística múltipla, os parâmetros de alteração glicêmica [OR 8,53 (95% IC 1,15-63,52); p= 0,036] e APRI ≥ 1,5 [OR 9,60 (95% IC 1,67-55,35); p= 0,011] permaneceram independentemente associados aos corpos hialinos de Mallory-Denk (tabela 16).

**Tabela 16 - Análise multivariada dos fatores clínicos e laboratoriais associados à presença de corpúsculos hialinos de Mallory-Denk**

Variável	OR	IC 95%	p-valor
<b>Constant</b>	-	-	0,000
<b>Alteração glicêmica</b>	8,53	1,15-63,52	<b>0,036</b>
<b>APRI (<math>\geq 1,5</math> vs <math>&lt; 1,5</math>)</b>	9,60	1,67-55,35	<b>0,011</b>

OR- Odds ratio; IC 95% - Intervalo de confiança de 95%; vs- versus.

Na análise univariada e multivariada relacionando fatores independentes à fibrose perivenular, pacientes com perfil lipídico para a síndrome metabólica apresentam chances 7,17 vezes maiores de ter fibrose perivenular graus 2-4 do que os pacientes sem dislipidemia [OR 7,17 (95% IC 1,44-35,71);  $p= 0,016$ ], com tendência à significância nos pacientes com IMC  $\geq 25$  [OR 4,76 (95% IC 0,96-23,65);  $p= 0,056$ ] na análise univariada (tabela 17).

**Tabela 17 - Análise multivariada dos fatores clínicos e laboratoriais associados à fibrose perivenular**

Variável	OR	IC 95%	p-valor
<b>Constant</b>	-	-	0,000
<b>Dislipidemia</b>	7,17	1,44-35,71	<b>0,016</b>

OR- Odds ratio; IC 95% - Intervalo de confiança de 95%.

Com relação à fibrose perissinusoidal, na análise univariada foi significativa a presença de alteração glicêmica [OR 9,47 (95% IC 1,27-70,36);  $p= 0,028$ ], com tendência à significância o índice de APRI  $\geq 1,5$  [OR 5,52 (95% IC 0,85-35,97;  $p= 0,074$ ]. Na análise multivariada, nenhum fator esteve independentemente associado a graus 2-4 de fibrose perissinusoidal.

Avaliando a influência da balonização acentuada, vários foram os fatores significativos na análise univariada: genótipo 3 [OR 4,31 (95% IC 1,19-15,53;  $p= 0,025$ ), indicação de tratamento antiviral [OR 3,95 (95% IC 1,35-11,57;  $p= 0,012$ ), IMC  $\geq 25$  [OR 4,55 (95% IC 1,36-15,29);  $p= 0,014$ ] e APRI  $\geq 1,5$  [OR 10,71 (95% IC 1,88-61,04);  $p= 0,007$ ]. Houve tendência à significância a presença de dislipidemia [OR 2,71 (95% IC 0,94-7,86);  $p= 0,065$ ]. Na regressão logística múltipla, os fatores que permaneceram independentemente associados foram o genótipo 3 [OR 4,81 (95% IC 1,13-20,51);  $p= 0,033$ ], a indicação de tratamento antiviral [OR 4,04 (95% IC 1,22-13,34);  $p= 0,022$ ] e o índice de APRI  $\geq 1,5$  [OR 8,59 (95% IC 1,32-56,02);  $p= 0,024$ ].

Na presença de vacuolação nuclear, somente o IMC  $\geq 25$  esteve associado na análise univariada e multivariada [OR 4,32 (95% IC 1,41-13,25);  $p= 0,01$ ]. Quando analisada a reação ductular, os fatores associados na análise univariada foram o genótipo 3 [OR 5,45 (95% IC 1,39-21,3);  $p= 0,015$ ], indicação de tratamento antiviral [OR 6,25 (95% IC 1,71-22,82);  $p= 0,006$ ] e a presença de perfil lipídico da síndrome metabólica [OR 5,38 (95% IC 0,39-13,32);  $p= 0,017$ ]. Na análise de regressão múltipla, esses mesmos fatores permaneceram independentemente associados, com *Odds Ratio* de 10,85 para o genótipo 3 (95% IC 1,92-61,22;  $p= 0,007$ ), OR de 9,25 para indicação de tratamento antiviral (95% IC 1,86-46;  $p= 0,007$ ) e OR de 7,02 para o perfil lipídico da síndrome metabólica (95% IC 1,31-37,52;  $p= 0,023$ ).

O número de pacientes com depósito de ferro nos hepatócitos e nas células de Kupffer foi pequeno e insuficiente para a análise estatística.

### 5.5 Caracterização dos pacientes com esteatose e hepatite crônica pelo vírus C

Trinta e cinco pacientes da amostra (43,2%) apresentavam esteatose macrovacuolar. Avaliando o genótipo viral, a prevalência de esteatose foi significativamente diferente ( $p= 0,002$ ), ocorrendo com maior frequência no genótipo 3 em relação aos genótipos 1 e 2 (tabela 18).

**Tabela 18 - Prevalência de genótipo viral nos 81 pacientes com ou sem esteatose macrovacuolar**

ESTEATOSE MACROVACUOLAR	GENÓTIPO VIRAL	
	1 e 2 N (%)	3 N (%)
0	44 (63,8%)	2 (16,7%)
1 A 4	25 (36,2%)	10 (83,3%)
TOTAL	69	12

Teste  $\chi^2$ : p- valor: 0,002  
Abreviação: N: Número de casos

A esteatose não esteve associada ao sexo ( $p= 0,704$ ), idade ( $p= 0,286$ ) e índice de APRI ( $p= 0,115$ ). Na avaliação dos critérios para a síndrome metabólica, a presença de esteatose não esteve associada à hipertensão arterial ( $p= 0,247$ ), porém com tendência à significância para a alteração glicêmica ( $p= 0,086$ ) e significativamente associada ao perfil lipídico da síndrome metabólica ( $p= 0,004$ ).

A esteatose foi detectada em maior percentagem nos pacientes com sobrepeso e obesidade (60,5%) em comparação com o índice de massa

corpórea menor que 25 (23,7%) ( $p= 0,001$ ). Considerando a presença de esteatose macrovacuolar com acometimento igual ou acima de 5% dos hepatócitos, a média de IMC foi significativamente maior nesses indivíduos ( $27,63 \pm 4,48$  versus  $24,83 \pm 4,18$ ;  $p= 0,005$ ), assim como os valores mais elevados de glicemia de jejum ( $94,43 \pm 26,36$  versus  $83,61 \pm 9,93$ ;  $p= 0,012$ ) e menores valores séricos de HDL-colesterol ( $45,23 \pm 13,88$  versus  $53,11 \pm 14,7$ ;  $p= 0,017$ ) (tabela 19).

**Tabela 19 - Prevalência de esteatose macrovacuolar nos 81 pacientes em relação ao IMC**

ESTEATOSE MACROVACUOLAR	IMC	
	< 25 N (%)	≥ 25 N (%)
0	29 (76,3%)	17 (39,5%)
1 A 4	9 (23,7%)	26 (60,5%)
TOTAL	38	43

Teste  $\chi^2$ : p- valor: 0,001

Abreviações: IMC: Índice de massa corpórea; N: número de casos

Como demonstrado na tabela 20, a indicação de tratamento antiviral após a primeira biópsia foi mais prevalente nos pacientes com esteatose associada à hepatite crônica pelo vírus C em comparação com os pacientes sem esteatose (63% versus 37%) ( $p= 0,01$ ).



**Tabela 20 - Indicação de tratamento antiviral nos 81 pacientes em relação à presença ou ausência de esteatose macrovacuolar**

<b>ESTEATOSE MACROVACUOLAR</b>	<b>NÃO TRATAMENTO N (%)</b>	<b>TRATAMENTO N (%)</b>
0	36 (66,7%)	10 (37%)
1 A 4	18 (33,3%)	17 (63%)
<b>TOTAL</b>	<b>54</b>	<b>27</b>

Teste  $\chi^2$ : p-valor: 0,01  
Abreviação: N: número de casos

### 5.6 Caracterização dos pacientes com esteato-hepatite e hepatite crônica pelo vírus C

A esteato-hepatite não alcoólica (EHNA) esteve presente em 21 (25,9%) pacientes. A EHNA foi significativamente mais prevalente no genótipo 3 em comparação aos genótipos 1 e 2 ( $p= 0,01$ ) (tabela 21) (figuras 7 e 8).

**Tabela 21 - Prevalência de genótipo viral nos 81 pacientes com ou sem esteato-hepatite associada**

<b>ESTEATO-HEPATITE</b>	<b>GENÓTIPO VIRAL</b>	
	<b>1 e 2 N (%)</b>	<b>3 N (%)</b>
AUSENTE	55 (79,7%)	5 (41,7%)
PRESENTE	14 (20,3%)	7 (58,3%)
<b>TOTAL</b>	<b>69</b>	<b>12</b>

Teste exato de Fisher: p-valor: 0,01  
Abreviação: N: Número de casos.

Não houve associação da presença de EHNA com o sexo ( $p= 1,00$ ), a idade ( $p= 0,422$ ) e índice de APRI ( $p= 0,368$ ). Maior percentual de EHNA foi observado nos pacientes com  $IMC \geq 25$  (39,5%) em comparação com  $IMC < 25$  (10,5%), como demonstrado na tabela 22.

**Tabela 22 - Prevalência de esteato-hepatite nos 81 pacientes em relação ao IMC**

ESTEATO-HEPATITE	IMC	
	< 25 N (%)	$\geq 25$ N (%)
AUSENTE	34 (89,5%)	26 (60,5%)
PRESENTE	4 (10,5%)	17 (39,5%)
TOTAL	38	43

Teste exato de Fisher: p- valor: 0,005

Abreviações: IMC: Índice de massa corpórea; N: número de casos

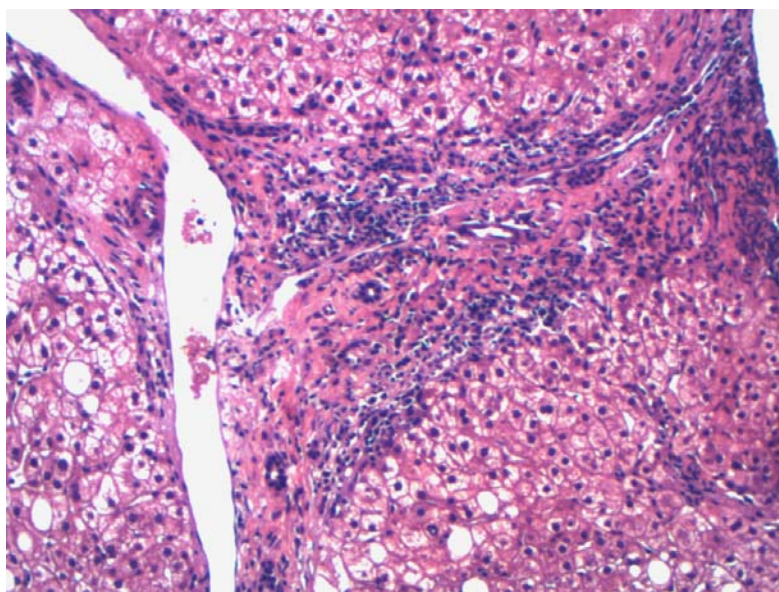
Avaliando os critérios para a síndrome metabólica, a EHNA não esteve associada à hipertensão arterial ( $p= 0,176$ ) nem à alteração glicêmica ( $p= 0,107$ ), porém esteve associada ao perfil lipídico da síndrome metabólica ( $p= 0,022$ ) (tabela 23).

**Tabela 23 - Prevalência de esteato-hepatite nos 81 pacientes em relação à presença ou ausência de dislipidemia**

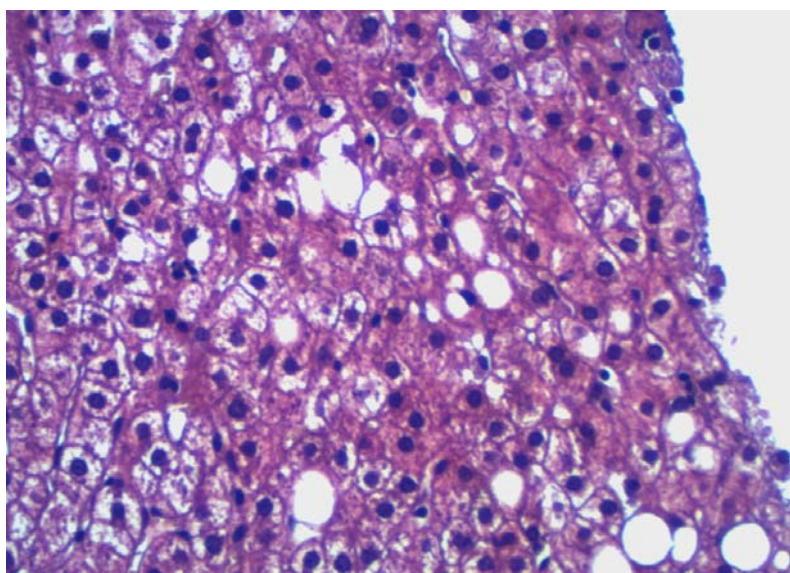
ESTEATO-HEPATITE	DISLIPIDEMIA	
	AUSENTE N (%)	PRESENTE N (%)
AUSENTE	38 (84,4%)	22 (61,1%)
PRESENTE	7 (15,6%)	14 (38,9%)
TOTAL	45	36

Teste exato de Fisher: p- valor: 0,022

Abreviação: N: Número de casos.



**Figura 7-** Caso nº 64 – Hepatite crônica associada a esteato-hepatite não alcoólica com alteração estrutural grau 2: infiltrado inflamatório portal grau 2, atividade periportal grau 2, atividade parenquimatosa grau 2, esteatose macrovacuolar grau 2, balonização hepatocelular grau 2 (Coloração: hematoxilina-eosina, aumento original de 100 x)



**Figura 8-** Caso nº 64 – Hepatite crônica associada a esteato-hepatite não alcoólica: esteatose macrovacuolar grau 2, esteatose microvacuolar grau 1, balonização hepatocelular grau 2 (Coloração: hematoxilina-eosina, aumento original de 200 x)

Na análise das variáveis de interesse, na presença de esteato-hepatite não alcoólica, a média de IMC foi significativamente maior nesses pacientes ( $28,13 \pm 4,87$  versus  $25,31 \pm 4,17$ ;  $p= 0,012$ ), assim como os valores médios de glicemia de jejum ( $98,24 \pm 32,79$  versus  $84,8 \pm 10,15$ ;  $p= 0,006$ ). Foram observados menores valores de colesterol total ( $146,62 \pm 48,06$  versus  $171,27 \pm 32,01$ ;  $p= 0,01$ ) e HDL-colesterol ( $43,29 \pm 13,91$  versus  $51,95 \pm 14,54$ ;  $p= 0,02$ ).

Dos 27 pacientes com indicação de tratamento antiviral após a primeira biópsia, 13 apresentavam esteato-hepatite não alcoólica associada (48,1%), conforme sumarizado na Tabela 24. Em contrapartida, nos 54 pacientes sem indicação de tratamento, 46 (85,2%) não tinham EHNA associada, detectada em apenas oito pacientes (14,8%).

**Tabela 24 - Indicação de tratamento antiviral nos 81 pacientes em relação à presença ou ausência de esteato-hepatite**

<b>ESTEATO-HEPATITE</b>	<b>NÃO TRATAMENTO N (%)</b>	<b>TRATAMENTO N (%)</b>
AUSENTE	46 (85,2%)	14 (51,9%)
PRESENTE	8 (14,8%)	13 (48,1%)
<b>TOTAL</b>	<b>54</b>	<b>27</b>

Teste  $\chi^2$ : p- valor: 0,002

Abreviação: N: Número de casos.

### **5.7 Fatores associados à progressão da fibrose em biópsias seriadas**

Não houve relação significativa entre progressão da fibrose e sexo ( $p= 0,099$ ), consumo prévio de álcool ( $p= 0,2$ ), genótipo viral ( $p= 0,745$ ), idade ( $p= 0,099$ ) ou índice de APRI ( $p= 0,445$ ).

Foi realizada a avaliação da progressão da fibrose em comparação à indicação ou não de tratamento após a primeira biópsia. Em metade dos 54 pacientes sem indicação de tratamento, constatou-se aumento maior ou igual a 1 na graduação da fibrose. No grupo submetido ao tratamento, não houve progressão da fibrose em 17/27 (63%), progressão que evoluiu para 10/27 (37%), sem diferença estatística.

Considerando os três grupos – sem esteatose, esteatose pura e esteato-hepatite não alcoólica –, avaliamos a progressão da fibrose nos pacientes submetidos ou não ao tratamento. No grupo de pacientes não tratados, não houve diferença estatística entre os grupos histopatológicos e progressão da fibrose ( $p=1,00$ ), ou mesmo quando considerado os grupos isoladamente. Os dados encontram-se na tabela 25. Nos pacientes tratados, não houve relação significativa entre os grupos e a progressão da fibrose ( $p=0,37$ ) (tabela 26). Além disso, não houve relação significativa entre progressão da fibrose para nenhum dos grupos isoladamente.

**Tabela 25 - Progressão da fibrose nos pacientes sem indicação de tratamento nos grupos sem esteatose, com esteatose e com esteato-hepatite associada**

GRUPOS	Sem progressão	Progressão da fibrose*	Total
Sem esteatose	18 (66,7%)	18 (66,7%)	36 (66,7%)
Esteatose pura	5 (18,5%)	5 (18,5%)	10 (18,5%)
Esteatohepatite	4 (14,8%)	4 (14,8%)	8 (14,8%)
Total	27	27	54

Teste  $\chi^2$ : p-valor = 1

\* Definida como piora do escore de fibrose  $\geq 1$

**Tabela 26 - Progressão da fibrose nos pacientes submetidos ao tratamento nos grupos sem esteatose, com esteatose e com esteato-hepatite associada**

GRUPOS	Sem progressão	Progressão da fibrose*	Total
Sem esteatose	8 (47,1%)	2 (20%)	10 (37%)
Esteatose pura	2 (11,8%)	2 (20%)	4 (14,8%)
Esteatohepatite	7 (41,2%)	6 (60%)	13 (48,1%)
Total	17	10	27

Teste  $\chi^2$ : p-valor = 0,37

\* Definida como piora do escore de fibrose  $\geq 1$

Analisando os fatores associados à síndrome metabólica, não houve relação significativa entre progressão da fibrose e IMC ( $p= 0,103$ ) ou alteração glicêmica ( $p= 1,0$ ). Como demonstrado na tabela 27, a presença de perfil lipídico da síndrome metabólica foi o único parâmetro associado à progressão da fibrose ( $p= 0,013$ ).

**Tabela 27 - Progressão da fibrose em relação ao perfil lipídico da síndrome metabólica**

Progressão da Fibrose*	Perfil Lipídico da Síndrome Metabólica		Total
	Ausente	Presente	
<b>Ausente (&lt;1)</b>	30 (66,7%)	14 (38,9%)	44 (54,3%)
<b>Presente (≥1)</b>	15 (33,3%)	22 (61,1%)	37 (45,7%)
<b>Total</b>	45	36	81

Teste  $\chi^2$ : p-valor = **0,0126**

\* Definida como piora do escore de fibrose  $\geq 1$

A presença de esteato-hepatite não esteve associada à progressão da fibrose (p= 0,836) (tabela 28).

**Tabela 28 - Progressão da fibrose em relação à presença de esteato-hepatite**

Progressão da Fibrose*	Esteato-hepatite		Total
	Não	Sim	
<b>Ausente (&lt;1)</b>	33 (55%)	11 (52,4%)	44 (54,3%)
<b>Presente (≥1)</b>	27 (45%)	10 (47,6%)	37 (45,7%)
<b>Total</b>	60	21	81

Teste  $\chi^2$ : p-valor = 0,8357

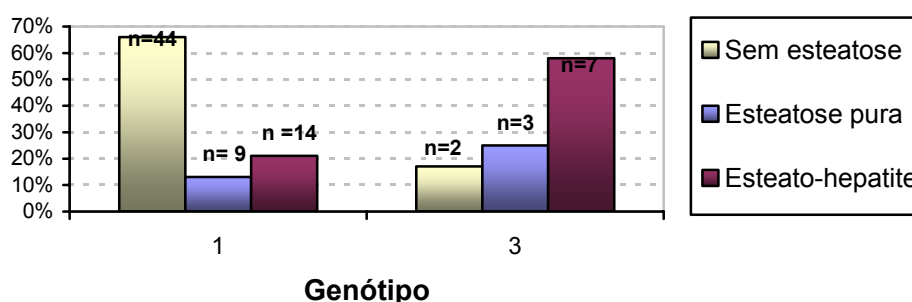
\* Definida como piora do escore de fibrose  $\geq 1$

### 5.8 Estudo comparativo entre os grupos com hepatite crônica pelo vírus C (HCVC) sem esteatose, HCVC associada à esteatose e HCVC associada com EHNA

Nos 79 pacientes, divididos entre os três grupos, não foi demonstrada associação com idade ( $p= 0,594$ ) e sexo ( $p= 0,966$ ).

Na avaliação dos grupos, tendo como variável o genótipo viral, o genótipo 3 foi significativamente mais prevalente nos pacientes com hepatite crônica pelo vírus C associado à esteato-hepatite (58,3%), em comparação com o grupo sem esteatose (16,7%) ou ao grupo com esteatose (25%). Nos 67 pacientes com genótipo 1, a prevalência de esteato-hepatite foi de 20,9%, em comparação a 13,4% de esteatose pura e 65,7% sem esteatose. Os dados encontram-se sumarizados no gráfico 2.

**Gráfico 2 - Distribuição dos genótipos 1 e 3 do vírus C nos 79 pacientes de acordo com os grupos sem esteatose, com esteatose pura e com esteato-hepatite associada**

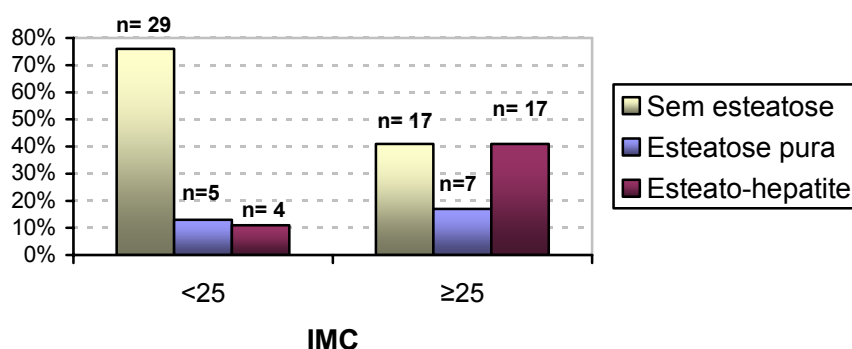


Teste exato de Fisher:  $p$ -valor: 0,002  
 $n$ = número de casos

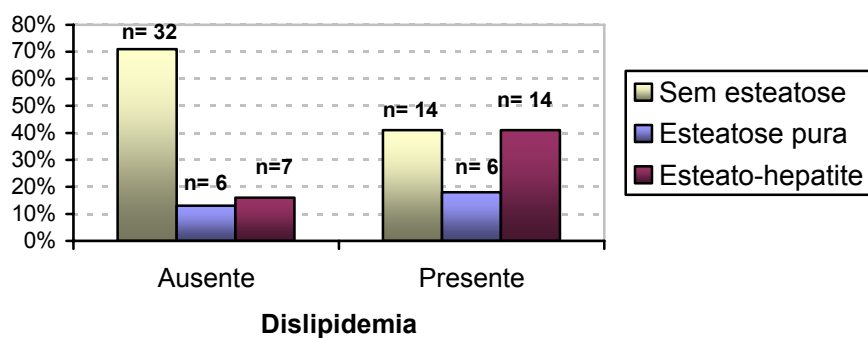


No grupo HCVC + EHNA, houve associação com sobrepeso ou obesidade ( $p= 0,003$ ). Do total de 41 pacientes com  $IMC \geq 25$ , 41,5% apresentavam esteato-hepatite, achado histológico que foi observado em apenas 4/38 pacientes com  $IMC < 25$  (10,5%). Houve relação significativa entre HCVC associado à EHNA e o perfil lipídico da síndrome metabólica ( $p= 0,018$ ); a esteato-hepatite foi prevalente em 41,2% e em 15,6% dos pacientes com e sem dislipidemia, respectivamente (gráficos 3 e 4).

**Gráficos 3 e 4 - Distribuição do IMC e perfil lipídico da síndrome metabólica nos 79 pacientes de acordo com os grupos sem esteatose, com esteatose pura e com esteato-hepatite associada**



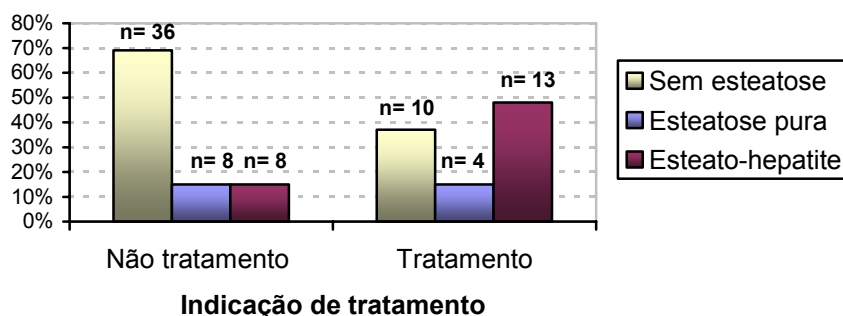
Teste  $\chi^2$ : p-valor: 0,003  
n= número de casos



Teste  $\chi^2$ : p-valor: 0,018  
n= número de casos

Como demonstrado no gráfico 5, a indicação de tratamento antiviral esteve associada ao grupo HCVC + EHNA, em relação aos demais grupos ( $p= 0,006$ ). Nos 52 pacientes sem indicação de tratamento antiviral, 36 (69,2%) pertenciam ao grupo sem esteatose, 8 (15,4%) apresentavam esteatose pura e 8 (15,4%), esteato-hepatite.

**Gráfico 5 - Indicação de tratamento nos 79 pacientes de acordo com os grupos sem esteatose, com esteatose pura e com esteato-hepatite associada**



Teste  $\chi^2$ : p- valor: 0,006  
n= número de casos

Na análise comparativa entre os diferentes grupos e os valores médios de IMC, glicemia de jejum, colesterol total, HDL-colesterol e triglicérides, houve diferença significativa. Observaram-se no grupo de HCVC associada à EHNA valores mais elevados de IMC ( $28,13 \pm 4,87$  versus  $24,83 \pm 4,18$ ;  $p= 0,016$ ) e de glicemia de jejum ( $98,24 \pm 32,79$  versus  $83,61 \pm 9,93$ ;  $p= 0,015$ ) em comparação ao grupo sem esteatose. Menores valores de colesterol total ( $146,62 \pm 48,06$  versus  $170,5 \pm 31,51$ ;  $p= 0,05$ ) e

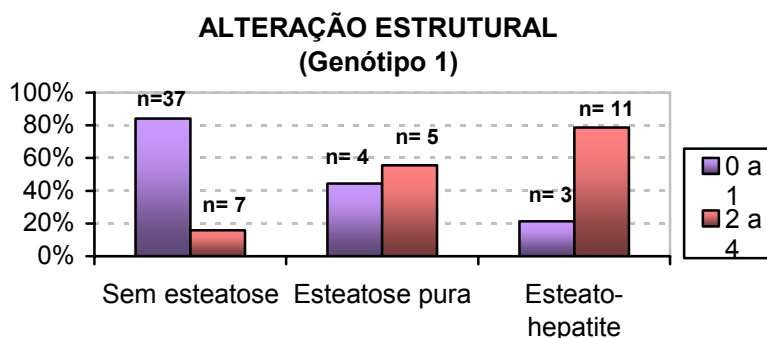
HDL-colesterol ( $43,28 \pm 13,91$  versus  $53,11 \pm 14,7$ ;  $p= 0,034$ ) foram observados no grupo HCVC + EHNA em relação ao grupo sem esteatose, enquanto não houve significância estatística quando avaliados os níveis de triglicéride ( $98,38 \pm 44,45$  versus  $96,04 \pm 41,24$ ;  $p= 0,794$ ).

### **5.9 Estudo comparativo dos 79 pacientes com genótipos 1 e 3 entre os grupos hepatite crônica pelo vírus C (HCVC), hepatite crônica pelo vírus C associada à esteatose (HCVC com esteatose) e hepatite crônica pelo vírus C associada com esteato-hepatite não alcoólica (HCVC com EHNA), considerando o grau de fibrose à biópsia inicial**

Nos 79 pacientes, divididos entre os três grupos, não foi demonstrada associação com a presença do perfil lipídico ( $p= NS$ ).

Houve relação significativa entre alteração estrutural de grau  $\geq 2$  e hepatite crônica associada à esteato-hepatite em pacientes com genótipo 1. Como demonstrado no gráfico 6, dos catorze pacientes com HCVC genótipo 1 associado à EHNA, onze (78,6%) apresentavam estágio de fibrose grau  $\geq 2$ , enquanto somente três (21,4%) tinham fibrose de grau 0 a 1. Nos sete pacientes com HCVC genótipo 3 associado à EHNA, três pacientes (42,9%) tinham estágio de fibrose com graduação  $\geq 2$ . Na ausência de esteatose, fibrose de graduação 0 a 1 foi o achado em 37 dos 44 pacientes com genótipo 1 (84,1%) e fibrose maior ou igual a 2 em apenas 7/44 (15,9%).

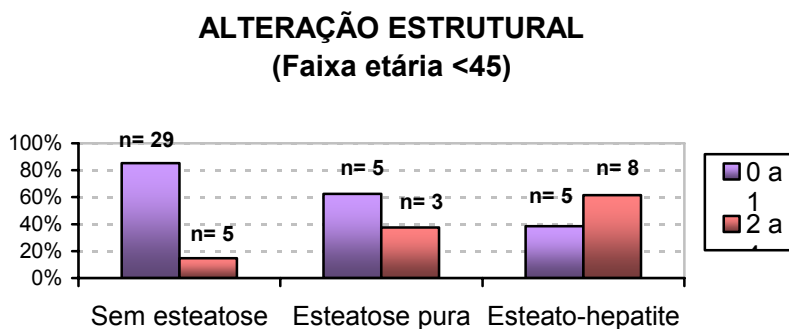
**Gráfico 6 - Distribuição de fibrose grau 0-1 e grau 2-4 nos 67 pacientes com genótipo 1, de acordo com os grupos sem esteatose, com esteatose pura e com esteato-hepatite associada**



Teste  $\chi^2$ : p-valor < 0,001  
n= número de casos

Nos pacientes com idade inferior a 45 anos, menor estadiamento de fibrose foi observado nos pacientes sem esteatose (85,3%). A prevalência de estágios de fibrose maior ou igual a 2 foi progressivamente crescente no grupo de pacientes com HCVC associada à esteatose (37,5%), alcançando significância estatística no grupo HCVC + EHNA (61,5%;  $p= 0,006$ ). Em pacientes com idade igual ou superior a 45 anos, percentual crescente na prevalência de fibrose  $\geq 2$  também foi observado, sendo 25% no grupo sem esteatose, 50% no grupo com esteatose e 75% no grupo com esteato-hepatite associada, porém com tendência à significância apenas no último grupo ( $p= 0,088$ ) (gráfico 7).

**Gráfico 7 - Distribuição de fibrose grau 0-1 e grau 2-4 nos 55 pacientes com faixa etária menor que 45 anos, de acordo com os grupos sem esteatose, com esteatose pura e com esteato-hepatite associada**

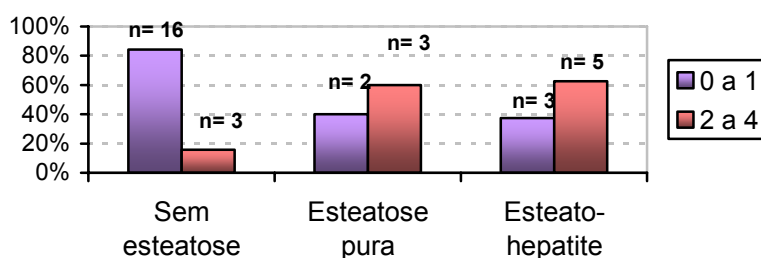


Teste  $\chi^2$ : p-valor: 0,006  
n= número de casos

Estágio de fibrose  $\geq 2$  foi mais prevalente no grupo HCVC + EHNA, independentemente do sexo. Em pacientes do sexo feminino, observou-se prevalência de 15,8% de fibrose grau 2 a 4 no grupo sem esteatose, atingindo 62,5% no grupo associado com esteato-hepatite. Analisando o sexo masculino, houve prevalência de 18,5% no grupo sem esteatose, 28,6% no grupo HCVC + esteatose e 69,2% no grupo HCVC + EHNA. Os dados estão sumarizados nos gráficos 8 e 9.

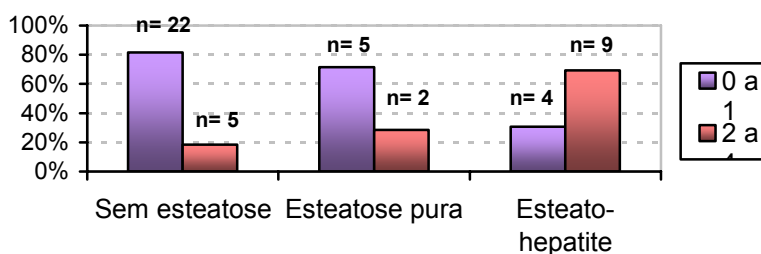
**Gráficos 8 e 9 - Distribuição de fibrose grau 0-1 e grau 2-4 nos 32 pacientes do sexo feminino (F) e 47 pacientes do sexo masculino (M), de acordo com os grupos sem esteatose, com esteatose pura e com esteato-hepatite associada**

**ALTERAÇÃO ESTRUTURAL  
(Sexo = F)**



Teste  $\chi^2$ : p-valor: 0,028  
n= número de casos

**ALTERAÇÃO ESTRUTURAL  
(Sexo = M)**

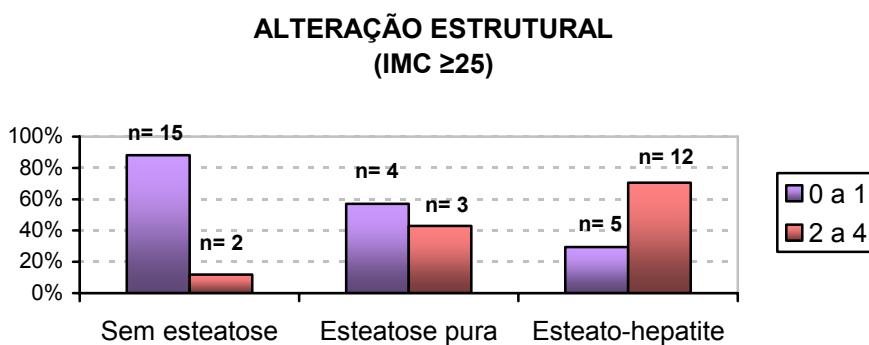


Teste  $\chi^2$ : p-valor: 0,006  
n= número de casos

Sobrepeso ou obesidade estiveram associados a estágios de fibrose maior ou igual a 2 nos pacientes com hepatite crônica pelo vírus C associado à esteato-hepatite (p= 0,002). Nos pacientes com IMC < 25, a prevalência de fibrose  $\geq 2$  foi de 20,7% no grupo sem esteatose, de 40% no

grupo com esteatose pura e de 50% no grupo com esteato-hepatite. Nos pacientes com IMC  $\geq 25$ , a prevalência de fibrose  $\geq 2$  foi de 11,8% no grupo sem esteatose, de 42,9% no grupo com esteatose pura, alcançando 70,6% no grupo com esteato-hepatite (gráfico 10).

**Gráfico 10 - Distribuição de fibrose grau 0-1 e grau 2-4 nos 79 pacientes com IMC  $\geq 25$ , de acordo com os grupos sem esteatose, com esteatose pura e com esteato-hepatite associada**



Teste  $\chi^2$ : p-valor: 0,002  
n= número de casos

## **6 DISCUSSÃO**



A hepatite crônica pelo vírus C e a doença hepática gordurosa não alcoólica são as principais causas de doença hepática crônica na atualidade, com importante repercussão no custo social, tendo em vista os recursos destinados ao atendimento da saúde pública. Tal fato justifica a escolha da casuística deste estudo, com crescente demanda no Brasil, e a necessidade de aperfeiçoamento para atingir as metas do Sistema Único de Saúde.

Entre os critérios de inclusão utilizamos, além da confirmação de infecção crônica pelo VHC, os níveis elevados de alanina aminotransferase. Na história natural da infecção crônica pelo VHC, 2/3 dos pacientes apresentam alterações flutuantes de ALT (Chindamo *et al.*, 2009). Na avaliação histológica de pacientes com ALT normal, predominam alterações histológicas mínimas ou leves, sem excluir, no entanto, achado de hepatite crônica com atividade histológica moderada e cirrose (De Santana *et al.*, 2005; Okanoue *et al.*, 2005; Sanai *et al.*, 2008). Diferenças relacionadas à definição de ALT considerada como valor normal e o período de seguimento necessário para caracterizar esses pacientes justificam a divergência dos estudos. Controvérsias também existem quando analisada a presença de esteatose em pacientes com HCVC e ALT normal, mas há consenso quanto ao predomínio de esteatose de grau leve (Pereira *et al.*, 2005; Persico *et al.*, 2006). A inclusão neste estudo de pacientes com níveis elevados de ALT justifica-se porque a metodologia empregada impunha a biópsia inicial como indispensável para a sua execução. Obedeceu-se à orientação do consenso

nacional sobre hepatites virais da SBH, com unanimidade na realização da biópsia hepática em pacientes com ALT alterada (SBH, 2005).

Um viés frequentemente observado em estudos histológicos decorre de amostra não representativa do material (Bedossa *et al.* 2003). Menores graus de atividade inflamatória e fibrose são detectados em fragmentos com menos de 1,0cm ou menos de dez espaços-porta (90% dos casos), ocasionando erro diagnóstico (Colloredo *et al.*, 2003). Tornou-se então obrigatória a inclusão de fragmentos de biópsias com presença de dez ou mais espaços-porta.

De acordo com o consenso da SBH (2005), foram rebiopsiados pacientes sem indicação de tratamento no período de três a cinco anos, para avaliar a necessidade do uso do antiviral. Por outro lado, a inclusão de pacientes não respondedores ao tratamento prévio permitiu proceder a rebiópsias em período até sete anos. Vários estudos têm demonstrado que a progressão da fibrose não é linear, sofrendo influência de cofatores que contribuem para a fibrose avançada e/ou sua evolução; por outro lado, o tratamento antiviral pode interferir negativamente nessa progressão (Deuffic-Burban *et al.*, 2002; McCaughan e George, 2004). Dessa forma, a análise de biópsias seriadas em períodos superiores a cinco anos não deve ser considerada viés possível de seleção.

A impossibilidade de diferenciação histológica entre a doença hepática gordurosa alcoólica e a não alcoólica resulta na dificuldade de estabelecer um consenso na literatura sobre a quantificação de álcool indicativa de esteatose hepática. Estudos estimam que doses  $\geq$

20g/etanol/dia podem provocar esteatose hepática, enquanto lesões hepatotóxicas mais graves podem ocorrer em doses superiores a 40g/dia para o sexo masculino e 20-30g/dia no sexo feminino (Angulo *et al.*, 1999; Brunt *et al.*, 1999; Falck-Ytter *et al.*, 2001; Freitas, 2005). Por outro lado, a esteatose pode regredir após duas a seis semanas de abstinência (Strauss, 2001; Freitas, 2005). Estudo recente em grandes obesos demonstra que o consumo leve ou moderado de etanol não tem impacto na graduação e atividade histológica da DHGNA (Cotrim *et al.*, 2009). Portanto, foram excluídos os pacientes com consumo de etanol  $\geq 20$  e 40g/dia para o sexo feminino e masculino, respectivamente, e considerados abstêmios os indivíduos sem abuso de etanol há mais de dois meses. A possibilidade de subquantificação do consumo de etanol pelo próprio paciente e erro de amostragem foi minimizada pela entrevista com familiares.

A não indicação de rebiópsia em pacientes com cirrose hepática descompensada, além de risco inerente de complicações relacionadas a esse procedimento, foram os fatores que levaram à exclusão desses pacientes no protocolo de estudo (Kleiner, 2005; SBH, 2005). Dados da literatura demonstram que graus moderados a graves de esteatose são observados com menor frequência em biópsias com presença de cirrose (Rubbia-Brandt *et al.*, 2001; Rubbia-Brandt *et al.*, 2004). A hipertensão portal e/ou a redução da ingestão calórica são aventadas como fatores a investigar (Poonawala *et al.*, 2000). Em nosso estudo, foram excluídos os pacientes com cirrose hepática descompensada, mas não aqueles com cirrose

hepática compensada cujas biópsias iniciais demonstravam diagnóstico histológico de cirrose (n= 1).

A fim de examinar a associação com a EHNA, considerou-se na avaliação clínica a presença de componentes essenciais da síndrome metabólica. A prevalência de *diabetes mellitus* ou intolerância à glicose na DHGNA é de 30 a 50% (AGA, 2002). Estudos avaliando a prevalência dessas condições clínicas na esteato-hepatite não alcoólica relatam prevalência de 28 a 55% de *diabetes mellitus*, de 20 a 92% para a presença de hipertrigliceridemia e obesidade em 60 a 95% dos pacientes (Falck-Ytter *et al.*, 2001).

A presença de sobrepeso e/ou obesidade tem sido considerada preditora de fibrose e menor resposta ao tratamento antiviral (Bressler *et al.*, 2003; Younossi *et al.*, 2004). A obesidade central tem importante papel no desenvolvimento da resistência insulínica, ícone principal na fisiopatologia da síndrome metabólica. Na atualidade, a resistência insulínica mediada por fatores do hospedeiro ou do próprio vírus da hepatite C tem sido aventada como fator associado à progressão da fibrose (Hui *et al.*, 2003; Romero-Gomez *et al.*, 2005).

Na avaliação clínica, por não dispor do exame de HOMA-IR para avaliar a presença de resistência insulínica, utilizamos o critério de definição do ATP III para conceituar a síndrome metabólica (Eckel, 2005). A mensuração da circunferência abdominal foi substituída pelo cálculo do IMC, sendo considerada fator de inclusão no diagnóstico de síndrome metabólica

a presença de obesidade, definida como IMC maior ou igual a 30 (Charlton *et al.*, 2006).

Na avaliação bioquímica, foram incluídas as dosagens das aminotransferases. Na infecção crônica pelo VHC, as aminotransferases estão aumentadas de duas a quatro vezes o valor normal, geralmente com predomínio da ALT sobre a AST, exceto na evolução para cirrose (Chindamo *et al.*, 2009). A dosagem de ALT tem aplicabilidade na prática clínica como marcador de lesão inflamatória hepática, mas de pouca utilidade como marcador de fibrose. Há controvérsia na literatura sobre a importância da ALT como marcador de atividade inflamatória, conforme demonstra o estudo de Sanai *et al.* (2008), no qual, analisado o subgrupo de pacientes com determinação seriada e ALT elevada, a graduação da atividade inflamatória não diferiu do subgrupo com ALT normal.

A alteração das aminotransferases é um achado frequentemente associado à DHGNA, seja no seguimento laboratorial desses pacientes, seja resultante da investigação diagnóstica da elevação laboratorial (Hultcrantz *et al.*, 1986; Teli *et al.*, 1995; Falck-Ytter *et al.*, 2001).

A relação AST/ALT (AAR) maior ou igual a 1 tem sido utilizada como um marcador não invasivo de fibrose, porém de pouca precisão para fibrose significativa ou cirrose (Wai *et al.*, 2003; Lackner *et al.*, 2005).

Na avaliação laboratorial, utilizou-se o teste de APRI por constituir um método não invasivo, de alto valor preditivo positivo para a identificação de fibrose significativa e alto valor preditivo negativo na exclusão de cirrose (Wai *et al.*, 2003). Sendo o teste de APRI de fácil realização, sua inclusão

em nosso estudo foi considerada para a análise comparativa com variáveis histopatológicas da doença hepática crônica pelo vírus C e da EHNA, principalmente relacionadas ao estadiamento dessas doenças.

Para a análise de progressão da fibrose, utilizou-se o estadiamento arquitetural na rebiópsia dos pacientes, parâmetro histológico de equivalência com outras classificações das hepatites crônicas (Gayotto *et al.*, 2000; Mello e Alves, 2007). Definimos *progressão da fibrose* o aumento de um ponto no escore de graduação (Cástera *et al.*, 2003; Perumalswami *et al.*, 2006). Como estabelecemos por critério de rebiópsia a inclusão de pacientes não respondedores ao tratamento, na análise de progressão dividimos os pacientes de acordo com a indicação ou não de tratamento prévio a fim de minimizar esse dado como viés da pesquisa (Deuffic-Burban *et al.*, 2002). Existe controvérsia na literatura sobre a influência da terapêutica antiviral na esteatose hepática. Alguns estudos demonstram redução ou desaparecimento da esteatose após o tratamento em pacientes com resposta virológica sustentada, principalmente na HCVC associada ao genótipo 3 (Poynard *et al.*, 2003; Cástera *et al.*, 2004). Por outro lado, o uso de interferon pode influir no metabolismo lipídico mediante a inibição da transcrição do DNA mitocondrial em RNA mensageiro (Poynard *et al.*, 2003; Feld e Hoofnagle, 2005). Dessa forma, não avaliamos na rebiópsia a graduação da esteatose.

A adoção de dois níveis de graduação de cada variável histopatológica da HCVC e da EHNA para análise comparativa de dados clínicos e laboratoriais difere de outros estudos. Vários autores têm estudado

principalmente fatores associados à fibrose e à esteatose e/ou esteato-hepatite associada, sem individualizar dos parâmetros histológicos (Hui *et al.*, 2002; Monto *et al.*, 2002; Younossi *et al.*, 2004).

Existe grande controvérsia na literatura com relação aos achados histológicos utilizados na definição da esteato-hepatite não alcoólica, com o emprego de diferentes classificações baseadas no estadiamento e graduação ou sistema de escore histológico (Brunt *et al.*, 1999; Neuschwander-Tetri e Caldwell, 2003; Freitas, 2005; Kleiner *et al.*, 2005). Como critério mínimo necessário, define-se a presença de esteatose macrovacuolar, com variações nos estudos de 5 até 33% dos hepatócitos acometidos. A associação com outros componentes histológicos, como o infiltrado inflamatório lobular e balonização hepatocelular já caracterizam a EHNA (Brunt, 2001; Brunt, 2004). A presença de fibrose perissinusoidal e/ou perivenular e hialinos de Mallory-Denk, componentes em geral presentes, mas não obrigatoriamente necessários para o diagnóstico, podem estar associados a graus moderados a graves de EHNA (Matteoni *et al.*, 1999; Hübscher, 2004).

Outro aspecto a considerar é a concordância de achados histológicos de esteato-hepatite com a hepatite crônica pelo vírus C. A esteatose e a balonização hepatocelular são achados histopatológicos também presentes na HCVC (Bedossa *et al.*, 1994).

Assim sendo, nos grupos histopatológicos de nosso estudo, consideramos como definição de HCVC com esteatose a presença de esteatose macrovacuolar grau  $\geq 1$  e, como HCVC com esteato-hepatite,

esteatose macrovacuolar  $\geq 1$  associada à presença de fibrose perissinusoidal com ou sem hialino de Mallory-Denk. A utilização do parâmetro histológico de fibrose perissinusoidal levou a adotar um critério mais restrito para o diagnóstico da associação com EHNA (Brunt *et al.*, 2003; Kleiner *et al.*, 2005; Bedossa *et al.*, 2007; Oliveira *et al.*, 2007).

### **6.1 Análise das características clínico-laboratoriais dos pacientes em estudo**

Dados epidemiológicos de infecção pelo VHC demonstram, em concordância com nossos achados, o predomínio do sexo masculino e da faixa etária de 30 a 49 anos (Alter *et al.*, 1999). Faixa etária semelhante é descrita nos EUA e na Austrália, sugerindo transmissão no adulto jovem (Alter, 2007). A distribuição dos genótipos foi semelhante à prevalência descrita no Brasil, com predomínio do genótipo 1, seguido dos genótipos 3 e 2 (Cavalheiro *et al.*, 2002). A prevalência da síndrome metabólica, segundo definição do ATP III, foi bem menor em comparação com dados da literatura (Eckel *et al.*, 2005). O predomínio do sexo masculino e a média do IMC dos nossos pacientes podem justificar a diferença encontrada. A prevalência de *diabetes mellitus* foi inferior ao demonstrado em trabalhos anteriores, relacionadas, sobretudo, à gravidade da doença hepática crônica (Serfaty e Capeau, 2009).



## 6.2 Fatores associados aos achados histopatológicos

A análise de variáveis clínicas e laboratoriais associadas à gravidade dos parâmetros histopatológicos foi o objetivo inicial deste estudo.

Idade mais elevada esteve associada com fibrose avançada nas biópsias pareadas. A idade avançada esteve independentemente associada a fibrose em diversos estudos (Poynard *et al.*, 1997; Ong *et al.*, 2001; Rubbia-Brandt *et al.*, 2004; Massard *et al.*, 2006). No modelo de Markov, que reproduz o papel dos cofatores na progressão da fibrose, a idade avançada e a duração da infecção têm influência negativa no impacto do tratamento (Deuffic-Burban *et al.*, 2002). Nas biópsias pareadas, maiores valores de AST e do escore de APRI também estiveram associados com a fibrose avançada. Componentes do índice de APRI, valores menores de plaquetas associaram-se à fibrose avançada nos estudos de Hui *et al.* (2003) e Bugianesi *et al.* (2006). Houve concordância de 92% no grupo experimental e de 88,5% no grupo de validação na comparação entre o escore de APRI  $\geq 1,05$  e estágios de fibrose 3 a 4 (Viana *et al.*, 2009).

Em nossa casuística, discordando de outros autores (Friedenberg *et al.*, 2003; Rubbia-Brandt *et al.*, 2004), o IMC não esteve associado à fibrose avançada (Friedenberg *et al.*, 2003; Rubbia-Brandt *et al.*, 2004). Em contrapartida, parâmetros clínicos da síndrome metabólica como a glicemia e triglicérides associaram-se à fibrose avançada na biópsia inicial. Estudos prévios demonstram que a resistência insulínica induzida pelo vírus ou por fatores metabólicos contribui para atividade inflamatória e fibrogênese hepática (Hui *et al.*, 2003; Zerky *et al.*, 2005).

A idade avançada esteve relacionada à atividade necroinflamatória grave periportal e portal em concordância com a literatura (Poynard *et al.*, 1997; Ribeiro *et al.*, 2005; Pereira *et al.*, 2006). O índice de APRI, importante marcador para o diagnóstico de fibrose, foi preditor de atividade necroinflamatória moderada a grave de localização portal, periportal e lobular em nosso estudo. No estudo de Ribeiro *et al.* (2005), níveis mais elevados de AST e menores valores de plaquetas estiveram associados a atividade periportal moderada a grave. Importante marcador de atividade, graus maiores de hepatite de interface são indicadores de progressão da fibrose (Bedossa *et al.*, 1994; Kleiner, 2005).

O infiltrado inflamatório lobular é um achado frequente no diagnóstico da EHNA. A presença de infiltrado inflamatório portal nesses pacientes pode representar inflamação concomitante com a hepatite crônica viral (Brunt, 2004). Atividade lobular grave foi infrequente na nossa amostra, porém fatores metabólicos do hospedeiro, como IMC mais elevado, estiveram relacionados a maiores graus de atividade periportal e portal, além da associação dos níveis de glicemia com atividade periportal acentuada. No estudo de Adinolfi *et al.* (2001), graus mais elevados do *Histology Activity Index* (HAI) estiveram associados a graus 3 e 4 de esteatose, com predomínio na atividade inflamatória periportal.

Assim como a DHGNA está associada com características clínicas da síndrome metabólica, nos pacientes com HCVC a esteatose macrovacuolar moderada a grave esteve relacionada a maiores valores do IMC (Hourigan *et al.*, 1999; Ong *et al.*, 2001; Monto *et al.*, 2002). A resistência insulínica é um

achado frequente nos pacientes com sobrepeso e/ou obesidade, promovendo esteatose hepática e subsequente susceptibilidade à injúria secundária mediada pelo aumento do estresse oxidativo e peroxidação lipídica, contribuindo para o dano celular, ativação de células estreladas e síntese de colágeno (Angulo *et al.*, 1999; Feldstein *et al.*, 2003).

O achado de níveis menores de colesterol e HDL-colesterol associado à esteatose microvacuolar e macrovacuolar é compatível com outros estudos. A hipobetalipoproteinemia adquirida é uma condição descrita na infecção crônica pelo vírus C, principalmente pelo genótipo 3, caracterizada pela diminuição da atividade hepática da *microsomal trygliceride transfer protein* (MTP) levando à deficiência dos níveis intra-hepáticos da apolipoproteína B, esteatose hepática e consequente diminuição da síntese hepática de lipoproteínas. No genótipo 1, pode ocorrer menor regulação do gene MTP induzido pela hiperinsulinemia (Mirandola *et al.*, 2006).

A fibrose perissinusoidal representa a ativação de células estreladas, sendo um marcador histológico importante na progressão da esteato-hepatite para a cirrose hepática (Brunt *et al.*, 1999; Matteoni *et al.*, 1999). A fibrose perissinusoidal e a fibrose perivenular estiveram associadas a valores mais elevados de glicemia de jejum na presença de esteatose em graduações de 1 a 3. A resistência insulínica promovendo o acúmulo de lipídios com subsequente resposta inflamatória e estresse oxidativo contribui para a fibrose perissinusoidal e perivenular observada nesses pacientes (Feldstein, 2007).

A presença de fibrose nos sinusóides hepáticos pode desenvolver-se em pacientes com *diabetes mellitus* de longa evolução. A hepatoesclerose diabética foi descrita por Harrison *et al.* (2006) como complicação hepática da microangiopatia diabética. Caracteriza-se histologicamente pela presença de fibrose perissinusoidal densa, com capilarização dos sinusoides e presença de componentes da membrana basal. Outro achado histológico frequente é o espessamento hialino de pequenos ramos da artéria hepática no trato portal. Diferencia-se da doença hepática gordurosa não alcoólica pela não associação com sobrepeso e/ou obesidade e ausência de padrões histológicos de esteato-hepatite. No presente estudo, somente dois pacientes tinham diagnóstico inicial de *diabetes mellitus* tipo 2, sem presença de complicações microangiopáticas, sendo a esteatose determinante no desenvolvimento de fibrose perissinusoidal e perivenular.

Os corpúsculos hialinos de Mallory-Denk são inclusões citoplasmáticas constituídas por queratinas, chaperonas, proteínas envolvidas na degradação proteica e outras proteínas, que levam a alterações citoesqueléticas dos hepatócitos. Estão associados a processos crônicos com estresse oxidativo, porém ainda não é possível afirmar se representam um epifenômeno de injúria celular, um mecanismo de proteção celular ou uma resposta celular que contribui para a progressão do dano hepático. Sua presença como marcador histológico da EHNA depende do escore histológico utilizado (Zatloukal *et al.*, 2007). A presença de corpúsculos hialinos de Mallory-Denk na HCVC não costuma ser frequente,

tendo sido associada à cirrose (Pereira *et al.*, 2006), enquanto que em nossa casuística foi relacionada a menores valores de plaquetas.

A balonização hepatocelular é um achado histológico presente em ambas as doenças, porém mais frequente na EHNA (Ramesh e Sanyal, 2004). Esse fato pode justificar a associação em nosso estudo de balonização moderada com maiores valores de IMC. Duas teorias são propostas para sua formação na DHGNA: a inclusão de finos vacúolos de gordura (esteatose microvacuolar) nos hepatócitos ou a perda/diminuição do microfilamento intermediário de citoqueratina 8 (Brunt, 2007). Sua presença em intensidades moderadas e graves caracteriza respectivamente EHNA graus 2 e 3, com potencial progressão para cirrose (Matteoni *et al.*, 1999). Em concordância com nosso estudo, publicação recente com a avaliação histológica de esteato-hepatite associada ao VHC correlacionou a balonização de intensidade moderada a níveis mais elevados de aminotransferases (Pereira *et al.*, 2006). Nesse mesmo estudo, houve associação com cirrose, enquanto observamos valores mais elevados de APRI.

Pseudoinclusão nuclear de glicogênio é frequentemente associada à presença de *diabetes mellitus* (Gayotto, 2001b; Brunt, 2004). No nosso estudo, apesar da baixa prevalência de *diabetes mellitus*, houve concordância com a literatura.

A sobrecarga de ferro pode ser um achado frequente na hepatite crônica pelo vírus da hepatite C, decorrente ou não da mutação do gene

*HFE*, porém com prevalências divergentes na literatura (Kleiner, 2005; Pereira *et al.*, 2006).

A elevada variabilidade interobservadores reflete diferentes prevalências no diagnóstico histológico de reação ductular na hepatite crônica pelo VHC (Bedossa *et al.*, 1994). Apesar de menor prevalência que em nosso estudo, porém com observações semelhantes às nossas, Giannini *et al.* (1999) demonstraram que a reação ductular esteve associada a maiores escores de estadiamento e graduação em pacientes com HCVC.

### **6.3 Variáveis clínico-laboratoriais associadas aos parâmetros histopatológicos**

Devido sua natureza invasiva a biópsia hepática tem indicação específica, sendo realizada uma única vez ou em intervalos prolongados. Por outro lado, os parâmetros clínico-laboratoriais de fácil acesso em diferentes fases da evolução da doença poderiam fornecer dados importantes de relação com as variáveis histopatológicas. Além disso, em pacientes com indicação de tratamento antiviral, a falha na resposta virológica sustentada ocorre em cerca de 50% dos casos. Portanto, a identificação de fatores clínicos ou laboratoriais modificáveis ou não, que podem influenciar na RVS é de contínuo interesse científico para a aplicação de estratégias adjuvantes de tratamento (Massard *et al.* 2006).

Por meio da análise múltipla foi possível caracterizar os fatores independentemente associados a uma chance maior de gravidade da

atividade necroinflamatória e estadiamento da fibrose, além dos parâmetros histológicos da esteato-hepatite não alcoólica. O achado de associação de atividade periportal moderada a grave e fibrose avançada com indicação de tratamento antiviral como fatores independentes nesta análise eram obviamente esperados, tendo sido igualmente relatados por vários autores (Rubbia-Brandt *et al.*, 2004; Perumalswami *et al.*, 2006). Também o genótipo viral 3 esteve independentemente associado a atividade periportal moderada a grave. Alguns estudos comparativos entre os genótipos 1 e 3 têm demonstrado maiores níveis de ALT isolada ou das aminotransferases relacionados ao genótipo 3 (Saracco *et al.*, 2000; Vigani *et al.*, 2008), embora outros autores não confirmem essa associação (Codes *et al.*, 2003; Silva *et al.*, 2005). Nesses estudos, nenhum genótipo esteve significativamente associado à atividade histológica necroinflamatória. Em outro estudo, esteatose difusa, atividade lobular grave e atividade periportal moderada a severa estiveram associadas na análise simples ao genótipo viral 3 e não ao genótipo 1, porém, na análise múltipla, somente a esteatose permaneceu como variável independentemente associada a esse genótipo (Prachayakul *et al.*, 2005). A presença de esteatose difusa, mais frequente na infecção pelo genótipo 3 pode acelerar a lesão hepática e contribuir para maior estadiamento e graduação histológica.

A prevalência de sobrepeso e de obesidade na população do nosso estudo é representativa dos dados do último censo do IBGE (IBGE-POF 2000-2003). Confirmando a análise inicial e referências da literatura, o sobrepeso e/ou obesidade permaneceram independentemente associados à

esteatose macrovacuolar moderada a grave. Rubbia-Brandt *et al.* (2004), ao analisarem 755 pacientes com HCVC, evidenciaram que a presença de esteatose esteve associada na análise múltipla ao sobrepeso em genótipos não 3 e ao peso normal em genótipos 3. Em outra publicação, com análise de 494 pacientes, a esteatose esteve independentemente associada ao IMC, com prevalências crescentes do peso normal até a obesidade (Perumalswami *et al.*, 2006). A contribuição da obesidade como fator de risco para esteatose hepática na HCVC foi superior à do consumo alcoólico para alguns autores (Monto *et al.*, 2002).

Os corpúsculos hialinos de Mallory-Denk, considerados um achado histológico frequente na esteato-hepatite alcoólica (Gayotto, 2001 b; Freitas, 2005), não estiveram associados ao uso passado de álcool em nosso estudo. Por outro lado eles se associaram com alteração glicêmica e, confirmando a tendência à significância na análise inicial dos parâmetros clínico-laboratoriais, relacionaram-se a fibrose significativa pelo valor do escore de APRI. No estudo de Matteoni *et al.* (1999), a presença de EHNA tipo 4, definida pelo achado histológico de corpúsculos hialinos de Mallory-Denk e/ou fibrose juntamente com esteatose e balonização hepatocelular, esteve relacionada a maior mortalidade por cirrose hepática em comparação com os demais tipos. Em outro estudo (Sanyal *et al.*, 2003) a presença de esteatose, balonização, corpúsculos hialinos de Mallory-Denk e/ou fibrose pericelular em pacientes com HCVC esteve associada à fibrose avançada, sendo que fatores clínicos associados à síndrome metabólica, como a



obesidade e *diabetes mellitus*, foram preditores independentes da fibrose avançada.

No nosso estudo, a presença de perfil lipídico da síndrome metabólica esteve independentemente associada à fibrose perivenular. Como a fibrose perivenular e/ou perissinusoidal são características histológicas da DHGNA, tais achados na infecção crônica pela hepatite C estão obrigatoriamente relacionados à associação dessas duas doenças. Dados da literatura relacionam a presença de hipertrigliceridemia com a esteatose em pacientes crônicos infectados pelo genótipo 1 do VHC. Nesses pacientes, fatores metabólicos do hospedeiro contribuem tanto para a esteatose como para necroinflamação, apoptose hepatocelular e fibrogênese hepática (Poynard *et al.*, 2003; Sanyal *et al.*, 2003).

Foi possível, mediante a análise múltipla, reafirmar a associação de balonização hepatocelular grave com fibrose avançada. Sanyal *et al.* (2003), no estudo de 69 pacientes com HCVC e EHNA encontraram que a presença de balonização hepatocelular ou a presença de fibrose perissinusoidal com ou sem hialino de Mallory-Denk esteve associada à fibrose avançada. Em nosso estudo o sobrepeso ou a obesidade estiveram associados à balonização mais acentuada na análise simples, porém esse fator não esteve independentemente associado na análise múltipla. A menor prevalência de obesos em nosso estudo em comparação ao estudo anteriormente descrito poderia justificar a discrepância de nossos dados. A EHNA pode coexistir em pacientes com HCVC independentemente de

fatores metabólicos e associada ao genótipo 3, como descrito no estudo de Bedossa *et al.* (2007).

A participação da reação ductular na fibrogênese portal, confirmada nas doenças colestáticas crônicas, levou ao interesse no estudo do papel da reação ductular em outras doenças. Clouston *et al.* (2005), ao analisarem as variáveis histológicas de 115 pacientes com HCVC, puderam descrever a associação entre bloqueio da replicação de hepatócitos, proliferação de células progenitoras, reação ductular e fibrogênese portal. Apesar da significativa associação entre a menor replicação dos hepatócitos com a presença de esteatose em pacientes com genótipo viral 1 com IMC elevado, a proliferação de células progenitoras esteve associada unicamente a fatores virais, contribuindo para a fibrogênese portal. Portanto, a presença de reação ductular em pacientes com HCVC pode associar-se a fibrose mais avançada e indicação de tratamento antiviral. Em estudo recente, a presença de fibrose portal em crianças com EHNA ou nos estágios avançados da doença nos adultos esteve associada com o aumento do número de células progenitoras e reação ductular (Richardson, 2008). Por outro lado, Brunt *et al.* (2009) na análise de pacientes com EHNA e inflamação portal crônica, a presença de reação ductular não foi um achado frequente.

Em estudo comparativo entre pacientes com genótipos virais 1 e 3 do VHC, a lesão ductular foi achado prevalente em 74% dos casos e independente do genótipo viral (Codes *et al.*, 2003), diferentemente do que apontam os nossos achados.

#### **6.4 Prevalência de esteatose e esteato-hepatite na hepatite crônica pelo vírus C**

Vários estudos têm demonstrado atenção crescente à superposição de esteatose ou esteato-hepatite não alcoólica nas hepatopatias crônicas e ao risco de progressão da doença hepática. Como a esteatose na hepatite crônica pelo vírus C pode ser mediada pelo vírus, é maior a frequência dessa associação que com outras doenças hepáticas. Por outro lado, como a esteato-hepatite não alcoólica pode estar relacionada a fatores virais ou metabólicos, observa-se prevalência similar da associação com outras doenças hepáticas crônicas quando predominam fatores metabólicos (Brunt *et al.*, 2003; Sanyal *et al.*, 2003).

A esteatose macrovacuolar foi um parâmetro histopatológico frequentemente observado na nossa população de estudo, com prevalência em 43,2% dos pacientes, em concordância com a literatura, que registra prevalências entre 34,8 a 81,2%. A variabilidade da prevalência de esteatose associada deriva da ampla diversidade do critério histológico utilizado na definição de esteatose, além de variações fenotípicas da população em estudo.

Na nossa amostra, utilizamos como critério histológico para a esteatose o acometimento igual ou maior que 5% dos hepatócitos. As variáveis clínico-laboratoriais associadas à esteatose foram o genótipo viral 3, o sobrepeso e a obesidade, o perfil lipídico da síndrome metabólica e a indicação de tratamento antiviral. Perumalswami *et al.* (2006), utilizando critério histológico similar para a definição de esteatose, porém critérios

menos restritos na inclusão de pacientes em uso de álcool, observou prevalência de 40% em sua amostra, associada independentemente à idade avançada, ao sobrepeso e obesidade e níveis mais elevados de ALT. Nas metodologias que tiveram por critério histológico de esteatose acometimento superior a 1% dos hepatócitos, a prevalência variou entre 42 a 73% (Hwang *et al.*, 2001; Hui *et al.*, 2002; Westin *et al.*, 2002; Castéra *et al.*, 2003; Poynard *et al.*, 2003; Rubbia-Brandt *et al.*, 2004; Patton *et al.*, 2004). Em dois estudos utilizando como critério histológico de esteatose o comprometimento superior a 10% dos hepatócitos, observaram-se prevalências de 35,5 e 45% (Castéra *et al.*, 2004; Fartoux *et al.* 2005).

Observa-se prevalência do genótipo viral 3 na maioria dos estudos de hepatite crônica pelo vírus C associado com esteatose (Hui *et al.*, 2002; Westin *et al.*, 2002; Poynard *et al.*, 2003; Castéra *et al.*, 2004; Patton *et al.*, 2004; Rubbia-Brandt *et al.*, 2004; Fartoux *et al.*, 2005). Distribuição epidemiológica diferente dos genótipos do vírus da hepatite C no Oriente pode justificar a falta de associação do genótipo 3 em pacientes com HCVC e esteatose (Hwang *et al.*, 2001). A esteatose induzida pelo vírus, achado comum em pacientes infectados com o genótipo 3 do VHC, pode ser resultante da reduzida expressão hepática de MTP (*microsomal triglyceride transfer protein*), levando à diminuição da formação de lipoproteínas, prejuízo na secreção e crescente acúmulo intra-hepático de triglicéride (Serfaty *et al.*, 2001).

Fatores metabólicos do hospedeiro, como sobrepeso e obesidade, frequentemente estão associados na HCVC com esteatose (Hwang *et al.*,

2001; Hui *et al.*, 2002; Castéra *et al.*, 2003; Poynard *et al.*, 2003; Patton *et al.*, 2004; Rubbia-Brandt *et al.*, 2004; Perumalswami *et al.*, 2006). Em concordância com outros autores, devido ao pequeno número de pacientes com alteração glicêmica ou *diabetes* em nossa amostra, não foi possível verificar o impacto dessa comorbidade na hepatite crônica pelo VHC com esteatose (Patton *et al.*, 2004; Perumalswami *et al.*, 2006). Por outro lado, no estudo de Bugianesi *et al.*(2006), a esteatose esteve associada a hiperglicemia em pacientes com genótipo 1. A associação entre HCVC e esteatose com a presença de hipertrigliceridemia é descrita na literatura especialmente em relação a fatores do hospedeiro e em pacientes infectados pelo genótipo 1 (Hwang *et al.*, 2001; Hui *et al.*, 2002; Poynard *et al.*, 2003).

Vários autores têm descrito a associação entre esteatose e maiores escores de fibrose (Giannini *et al.*, 1999; Hwang *et al.*, 2001; Poynard *et al.*, 2003; Rubbia-Brandt *et al.*, 2004).

Diferentemente do nosso resultado, alguns estudos com HCVC e esteatose constataram que os pacientes apresentavam idade mais elevada em relação ao grupo sem esteatose (Poynard *et al.*, 2003; Patton *et al.*, 2004; Rubbia-Brandt *et al.*, 2004; Perumalswami *et al.*, 2006). Como a faixa etária da população com HCVC não apresenta ampla variabilidade, podemos considerar que a significância somente se manifesta em estudos com grande número de pacientes na população da amostra.

A prevalência de esteato-hepatite na nossa amostra populacional foi de 25,9%, superior a vários estudos que serão detalhados posteriormente. A

variabilidade da prevalência de EHNA deriva da divergência no critério utilizado para seu diagnóstico histopatológico (Oliveira *et al.*, 2007).

Em concordância com a esteatose, as variáveis clínico-laboratoriais associadas à esteato-hepatite foram o genótipo viral 3, o sobrepeso e obesidade, o perfil lipídico da síndrome metabólica e a indicação de tratamento antiviral.

Sanyal *et al.* (2003), utilizando como critérios de esteato-hepatite a presença de esteatose macrovacuolar isolada acima de 50% ou esteatose macrovacuolar associada a balonização e/ou corpos hialinos de Mallory-Denk e/ou fibrose pericelular, observaram prevalência de 4,5% em sua amostra. A obesidade e o *diabetes mellitus*, além da fibrose avançada, associaram-se à presença de esteato-hepatite. No estudo de Younossi *et al.* (2004), a prevalência foi de 18,3%, tendo servido de critério de definição a presença de esteatose macrovacuolar e balonização hepatocelular com ou sem fibrose perissinusoidal ou corpúsculos hialinos de Mallory-Denk. Associaram-se à EHNA, o genótipo 3 do VHC, a obesidade e a fibrose avançada.

Com base na classificação de Younossi *et al.* (1999) e definindo como EHNA os tipos 3 ou 4, esteatose macrovacuolar e balonização hepatocelular com ou sem fibrose perissinusoidal ou corpúsculos hialinos de Mallory-Denk, Ong *et al.* (2001) descreveram prevalência de 10% nos pacientes com HCVC. Os fatores independentemente associados foram o sexo masculino, obesidade e *diabetes mellitus* tipo 2. A fibrose avançada também associou-se à presença de EHNA.

Utilizando o critério de Kleiner *et al.* (2005) na definição de EHNA, prevalência de 9% foi observada no estudo de Bedossa *et al.* (2007). Na análise múltipla, a hipertrigliceridemia, valores séricos mais elevados de AST e associação negativa com colesterol sérico foram preditores de HCVC associada à EHNA. O genótipo 3 foi prevalente no grupo HCVC + EHNA em relação aos grupos de HCVC com ou sem esteatose.

Em estudo realizado no Brasil, definindo como EHNA a presença de esteatose macro e/ou microvacuolar, inflamação lobular e portal, balonização e fibrose perissinusoidal, a EHNA foi observada em 16,6% dos pacientes, sendo mais frequente no genótipo 1 do VHC (Pereira *et al.*, 2006). Nestes pacientes a presença de EHNA associou-se com fatores metabólicos do hospedeiro.

Na análise clínica e histológica de EHNA em coexistência com outras doenças hepáticas crônicas em estudo de Brunt *et al.* (2003), a prevalência de EHNA associada a hepatite crônica pelo VHC não foi estatisticamente diferente. Da mesma forma, a obesidade, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia e a hipertensão arterial sistêmica não diferiram no grupo EHNA + HCVC em relação às outras doenças hepáticas crônicas, apenas com tendência ao *diabetes mellitus*.

Mesmo sendo a DHGNA uma doença de crescente relevância mundial e, portanto, cada vez mais associada a outras doenças hepáticas crônicas, na infecção pelo VHC, fatores virais podem promover o acúmulo anormal de gordura no fígado, estando a esteatose presente em cerca de 50% dos pacientes (Ramesh e Sanyal, 2004). Portanto, a tríade de hepatite

pelo vírus C, DHGNA e anormalidades metabólicas que constituem a síndrome metabólica, assim como o estudo independente desses fatores na gênese da esteatose e esteato-hepatite, vêm ganhando cada vez mais atenção da literatura.

No estudo de Fartoux *et al.* (2005) a esteatose foi classificada em dois tipos, de acordo com o genótipo viral da hepatite C: em pacientes com genótipo 1 relacionada à resistência insulínica, *esteatose metabólica*, e, nos pacientes com genótipo 3 relacionada a carga viral, *esteatose viral*. Hui *et al.* (2003), ao analisarem fatores clínicos e laboratoriais em 258 pacientes com diferentes estágios de fibrose, constataram que o HOMA-IR foi preditor independente de fibrose avançada. Posteriormente, no estudo de Bugianesi *et al.* (2006), a resistência insulínica avaliada pelo cálculo do HOMA-IR foi considerada preditora de fibrose avançada na HCVC.

Como exemplificado por esses estudos, não só a esteatose, mas também a resistência insulínica desempenha importante papel na evolução da fibrose durante a infecção crônica pelo VHC. Como os mecanismos de patogênese de resistência insulínica são decorrentes de fatores metabólicos do hospedeiro e de fatores virais, justifica-se o estudo comparativo de pacientes com genótipos 1 e 3 do VHC.

## **6.5 Análise comparativa entre os grupos histopatológicos**

Analisando comparativamente os diferentes grupos histopatológicos, comprovamos que a infecção pelo genótipo 3 do VHC foi mais prevalente



nos pacientes com HCVC associada com esteato-hepatite não alcoólica. Entretanto, na biópsia inicial, os pacientes com genótipo 1 pertencentes ao grupo HCVC + EHNA exibiam graus maiores de fibrose que os dos demais grupos.

Apesar de estarem os mecanismos potenciais de progressão da fibrose, como a resistência insulínica associada a fatores metabólicos, frequentemente relacionados ao genótipo viral 1, ainda existem controvérsias sobre o genótipo viral mais fibrogênico. Em estudo comparativo de 296 pacientes com HCVC divididos em três grupos – sem esteatose, com esteatose e com esteato-hepatite –, o estágio avançado de fibrose não esteve significativamente associado ao genótipo viral 1 ou 3 (Bedossa *et al.*, 2007). Na avaliação da progressão da doença e resposta ao tratamento antiviral em pacientes com genótipos 1 e 3, a esteatose esteve relacionada à fibrose avançada e às menores respostas virológicas precoce e sustentada em pacientes com genótipo viral 1 (Patton *et al.*, 2004). Analisando em pacientes com genótipos 3 e não 3 o papel da resistência insulínica e da esteatose hepática como preditores de fibrose avançada, Bugianesi *et al.* (2006) concluíram que a extensão da esteatose associa-se à fibrose avançada somente em pacientes não genótipo 3, enquanto a resistência insulínica associa-se à fibrose avançada independentemente do genótipo viral. Em outro estudo, analisando a interrelação entre esteatose, resistência insulínica e estresse oxidativo em pacientes com HCVC genótipo não 3, a resistência insulínica esteve associada às alterações de marcadores séricos de estresse oxidativo e a

maiores graus de fibrose, independentemente da esteatose (Oliveira, 2007). No estudo de Romero-Gómez *et al.* (2005), em pacientes com genótipo 1, o HOMA-IR esteve associado a esteatose e a fibrose avançada, sendo preditor de menor resposta virológica sustentada nesses pacientes.

Como a esteatose e a EHNA são mais frequentes no genótipo viral 3, é ele considerado mais fibrogênico por alguns autores. Assim, no estudo de Rubbia-Brandt *et al.* (2004) com 755 pacientes com HCVC, a presença de fibrose esteve associada a esteatose nos pacientes infectados pelo genótipo 3. Em outro estudo, a fibrose progressiva foi mais prevalente na presença de esteatose à biópsia inicial e observada principalmente nos pacientes com genótipo 3 do VHC (Westin *et al.*, 2002), enquanto que estudando HCVC associado a EHNA, outros autores também observaram fibrose mais avançada em pacientes com genótipo viral 3 (Younossi *et al.*, 2004). Considerando a ação citopática viral do genótipo 3 em promover esteatose, a progressão da esteatose em biópsias pareadas esteve associada à progressão da fibrose em estudo realizado por Cástera *et al.* (2003), constituindo importante fator a ponderar na indicação precoce de tratamento antiviral.

Em nosso estudo é razoável considerar que a superposição de fatores metabólicos do hospedeiro tenha influenciado a progressão para a fibrose em ambos os genótipos.

A variável clínica sobrepeso/obesidade foi significativamente mais prevalente no grupo de pacientes com HCVC + EHNA, como também confirmou a importância dessa variável na progressão da fibrose nesse

mesmo grupo. Esse dado clínico é em parte concordante com o de outros autores nos quais a obesidade esteve associada com a esteato-hepatite não alcoólica sobreposta a HCVC e subsequente fibrose avançada. No artigo de Younossi *et al.* (2004), a EHNA esteve associada a obesidade em pacientes com HCVC; estágios de fibrose  $\geq 2$  foram mais prevalentes no grupo HCVC + EHNA comparativamente aos grupos sem esteatose ou com esteatose. Em outro estudo, com 170 pacientes, a EHNA foi mais prevalente em indivíduos obesos (76,5%) e independentemente associados à fibrose avançada (Ong *et al.*, 2001). Por outro lado, a obesidade central e o índice de massa corpórea não diferiram estatisticamente em estudo, com 278 pacientes com HCVC, divididos nos grupos sem esteatose, com esteatose ou EHNA (Bedossa *et al.*, 2007).

A obesidade é considerada fator independentemente associado a fibrose avançada em pacientes com esteato-hepatite não alcoólica. O acúmulo de ácidos graxos e o estado de hiperinsulinemia aumentam a susceptibilidade de lesão hepática secundária ao aumento de citocinas pró-inflamatórias como o TNF- $\alpha$  e endotoxinas. O aumento de ERO e a subsequente peroxidação lipídica aumentam a ativação de células estreladas e fibrogênese hepática (Angulo *et al.*, 1999; Ramesh e Sanyal, 2004).

Existem evidências crescentes de que fatores de risco como a obesidade podem contribuir para a fibrose na HCVC. O estabelecimento de um programa para reduzir o peso associou-se à melhora dos parâmetros bioquímicos, redução da esteatose e melhora da fibrose em biópsias

analisadas de três a seis meses após a intervenção, com diminuição da ativação de células estreladas (Hickman *et al.*, 2002).

Além do impacto da obesidade no estadiamento da fibrose na HCVC, sua presença influi na resposta ao tratamento dos pacientes. Num estudo com 174 pacientes submetidos ao tratamento antiviral, a obesidade foi preditor negativo independente de resposta virológica sustentada (Bressler *et al.*, 2003). A esteatose em pacientes com HCVC genótipo não 3 e com sobrepeso ou obesidade esteve associada à menor resposta virológica sustentada em outro estudo (Poynard *et al.*, 2003).

Fatores metabólicos e virais são propostos para justificar a menor resposta virológica sustentada. A fibrose avançada, sabidamente um fator preditivo negativo para a RVS, pode decorrer da superposição de EHNA nesses pacientes (Deuffic-Burban *et al.*, 2002). Há dois fatores que atuam diretamente na ação do interferon – a quantidade de tecido adiposo e a obesidade visceral, com consequente liberação de adipocitocinas pró-inflamatórias e estresse oxidativo – e podem interferir em sua biodisponibilidade (Younossi e McCullough, 2009). No mecanismo viral, o aumento da proteína SOC3 atua na resistência insulínica e regula negativamente a ação do *signal transducer & activator of transcription 1* (STAT-1), com redução da sinalização de interferon e menor RVS (Charlton *et al.*, 2006; Younossi e McCullough, 2009).

Na presente análise, verificou-se a que a presença do perfil lipídico da síndrome metabólica esteve associada ao grupo HCVC + EHNA, porém não associado à graduação da fibrose. No estudo de Bedossa *et al.* (2007), os

níveis séricos de colesterol total, HDL-colesterol e triglicérides foram estatisticamente significativos no grupo HCVC + EHNA em relação aos demais grupos. Considerando o genótipo viral, a hipertrigliceridemia foi mais prevalente em pacientes genótipo 1 com HCVC + EHNA, enquanto níveis menores de colesterol sérico foram prevalentes no genótipo 3 com HCVC + EHNA.

No estudo de pacientes com EHNA sem infecção crônica pelo vírus da hepatite C, a hipertrigliceridemia não foi um fator independentemente associado à fibrose avançada (Angulo *et al.*, 1999). No estudo de Oliveira *et al.* (2006), a hipertrigliceridemia esteve independentemente associada à EHNA 1, definida histologicamente pela esteatose e presença de dois parâmetros – o infiltrado inflamatório e/ou balonização e/ou fibrose perissinusoidal/perivenular /septal – como também associada à EHNA 2, com exigência de balonização moderada a acentuada. No entanto, quando considerada a EHNA 3, sendo obrigatória a presença de fibrose perissinusoidal, perivenular ou septal, não houve associação com a hipertrigliceridemia.

Devemos considerar nessa análise dois aspectos importantes e distintos. Primeiro, a avaliação da hipertrigliceridemia e do HDL-colesterol sérico diminuído como condições que são componentes da síndrome metabólica. Segundo, na infecção pelo VHC, fatores virais podem interferir no metabolismo dos lipídios e modificar seus níveis plasmáticos.

Na síndrome metabólica, em condições de resistência insulínica, o aumento do fluxo de AGL ao fígado faz crescer a produção hepática de

triglicérides e de VLDL. A resistência insulínica reduz a concentração da lipase lipoproteica nos tecidos periféricos, contribuindo para a hipertrigliceridemia. Na presença de hipertrigliceridemia, a diminuição do conteúdo éster de colesterol no *core* da lipoproteína, alterando sua composição, com conseqüente aumento do *clearance* de HDL da circulação (Eckel *et al.*, 2005). Em pacientes com infecção pelo genótipo 1 do VHC, fatores de risco para a síndrome metabólica estão associados à presença de esteatose e esteato-hepatite (Pereira *et al.*, 2006; Bedossa *et al.*, 2007).

Na presença de fatores virais, a hipobetalipoproteinemia é um mecanismo plausível pelo qual a infecção pelo VHC e principalmente o genótipo 3 podem induzir esteatose na ausência de fatores metabólicos (Mirandola *et al.*, 2006). A proteína do *core* do VHC diminui a atividade da MTP, interferindo na formação e secreção hepática de apolipoproteína-B e redução da secreção hepática de lipoproteínas. A resposta ao tratamento antiviral e à erradicação do VHC é acompanhada de normalização dos níveis dos lipídios plasmáticos (Serfaty *et al.*, 2001). A endocitose do VHC pode ser mediada por receptores de lipoproteínas de baixa densidade, alterando a síntese e o metabolismo das lipoproteínas (Agnello *et al.*, 1999).

Níveis menores de colesterol sérico estiveram associados à presença de esteatose em pacientes com HCVC genótipo 3 (Sharma *et al.*, 2004), enquanto, no estudo de Bugianesi *et al.* (2006), os parâmetros determinantes de esteatose em pacientes com HCVC genótipo 3 foram a alta carga viral e a diminuição do colesterol sérico. Siagris *et al.* (2006), avaliando o perfil lipídico de 155 pacientes com HCVC, identificaram

menores níveis de colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol em relação ao grupo-controle, com significância maior no genótipo 3.

Na doença hepática gordurosa não alcoólica, a resistência insulínica e a esteatose, em associação à hipertensão arterial sistêmica e dislipidemia, têm sido consideradas fatores de agravamento do risco cardiovascular (Lonardo *et al.*, 2004). No estudo de Matteoni *et al.* (1999), o seguimento a longo prazo de pacientes com DHGNA demonstrou que a sobrevida foi menor nos pacientes com EHNA tipos 3 e 4, com mortalidade relacionada principalmente à cirrose e doenças cardiovasculares. Por outro lado, a diminuição dos níveis séricos de colesterol total e LDL-colesterol na HCVC pode reduzir o risco cardiovascular (Siagris *et al.*, 2006).

A idade avançada e o sexo masculino são preditores independentes de progressão da fibrose na HCVC (McCaughan e George, 2004; Massard *et al.*, 2006). Na avaliação de 755 pacientes com HCVC, a idade avançada esteve associada com a presença de fibrose (Rubbia-Brandt *et al.*, 2004). Utilizando o escore de Scheuer, graus maiores de fibrose correlacionaram-se com médias de idade progressivamente crescentes no estudo de Hui *et al.* (2002). Em outro estudo, com a rebiópsia de 136 pacientes realizada com média de intervalo de 3,6 anos, a progressão da fibrose esteve independentemente associada à idade avançada (Perumalswami *et al.*, 2006).

No estudo realizado por Poynard *et al.* (1997), a idade à infecção, o sexo masculino e o consumo de etanol acima de 50g/dia foram considerados fatores de risco associados à progressão da fibrose. O estrógeno pode ser

considerado um fator de proteção contra a fibrogênese em mulheres com HCVC (Massard *et al.*, 2006).

Estudos prévios clínico-histológicos de EHNA descrevem a idade avançada, o sexo feminino e IMC elevado como fatores preditivos de fibrose (Angulo *et al.*, 1999; Brunt *et al.*, 2009).

Diferentemente desses autores, encontramos em nosso estudo estágios maiores de fibrose no grupo HCVC associado à esteato-hepatite não alcoólica em pacientes abaixo de 45 anos.

Considerando o parâmetro idade, não é grande em nossa amostra a variação etária, o que pode justificar a não associação com essa variável clínica. A aplicação do método estatístico da curva ROC para detecção do melhor ponto de corte na faixa etária tem sido muito utilizado, porém optamos por um dos pontos fixos mais utilizados na literatura, qual seja maior ou menor que 45 anos.

Em nosso estudo, maiores estágios de fibrose no grupo HCVC + EHNA foram observados independentemente do sexo do paciente, contrariando a predominância de fibrose relacionada ao sexo masculino em pacientes com HCVC. Consideramos que a presença de esteato-hepatite não alcoólica pode ser um fator de agravamento da fibrose nos pacientes do sexo feminino com HCVC.



## 6.6 Análise da progressão da fibrose em biópsias pareadas

O estudo de biópsias pareadas permitiu avaliar a progressão da fibrose, tanto no grupo de pacientes sem indicação de tratamento como nos pacientes não respondedores.

Westin *et al.* (2002), no estudo de 98 pacientes não tratados submetidos a rebiópsia, observaram que a progressão da fibrose esteve relacionada à presença de esteatose à primeira biópsia, principalmente nos pacientes com genótipo viral 3. Nesses pacientes, houve significativa prevalência de esteatose com comprometimento acima de 30% dos hepatócitos. Análise semelhante realizada por Castéra *et al.* (2003) em 98 pacientes apontou que a piora da esteatose, principalmente no genótipo viral 3, aumentou em 4,7 vezes a chance de progressão da fibrose. No estudo de Deuffic-Burban *et al.* (2002), o tratamento prévio pode modificar a progressão da fibrose, com maior impacto nos pacientes mais jovens, com menor tempo de infecção e menores estágios de fibrose. Em nosso estudo, a presença de esteatose e/ou de esteato-hepatite não alcoólica à primeira biópsia esteve associada com a indicação de tratamento antiviral. A inclusão de biópsias pareadas desses pacientes com tratamento prévio não pode justificar a ausência de associação de esteato-hepatite com a progressão da fibrose.

Posteriormente, Perumalswami *et al.* (2006), ao analisarem rebiópsias de 136 pacientes no período médio de 3,6 anos, evidenciaram agravamento da fibrose em 40% dos pacientes, agravamento correlacionado com a idade do paciente, atividade inflamatória periportal, níveis de alanina

aminotransferase e escore inicial da fibrose à primeira biópsia e não relacionadas com esteatose.

Fatores relacionados à síndrome metabólica como obesidade e resistência insulínica já foram anteriormente associados à progressão da fibrose na HCVC (Hui *et al.*, 2003; Younossi *et al.*, 2004). No presente estudo, não conseguimos demonstrar a associação desses parâmetros na progressão da fibrose, porém dois aspectos merecem destaque. O primeiro é a baixa prevalência de *diabetes mellitus* e de obesidade em nossa população e o segundo, a presença de estágios maiores de fibrose na primeira biópsia relacionados ao sobrepeso ou obesidade e a posterior tratamento desses pacientes.

Nos 81 pacientes, o único parâmetro associado com a piora da fibrose foi a presença do perfil lipídico da síndrome metabólica. Como o perfil lipídico da síndrome metabólica define-se pela hipertrigliceridemia e/ou menores níveis séricos de HDL-colesterol, é possível conjecturar que incluímos nesse grupo pacientes com fatores metabólicos e virais. Portanto, em resposta ao observado em nosso estudo, não é possível inferir que o fator metabólico tenha sido determinante na progressão da fibrose, uma vez que o vírus da hepatite C pode modificar a síntese de HDL-colesterol.

## **6.7 Considerações finais**

No seguimento clínico de pacientes com hepatite crônica pelo vírus C, a avaliação cuidadosa da presença da síndrome metabólica, definida pelo

ATP III ou por outros critérios, é de fundamental importância para caracterizar pacientes com risco maior de progressão da fibrose. Em especial o sobrepeso ou obesidade assume papel relevante dada sua elevada prevalência em nossos dias.

Como a esteatose e/ou a esteato-hepatite não alcoólica podem ser decorrentes de fatores virais e/ou do hospedeiro, a realização da biópsia hepática é de fundamental importância na identificação dessas associações em pacientes com hepatite crônica pelo vírus C.

Diante disso, estratégias especiais de abordagem desses pacientes, a fim de alcançar a resposta virológica sustentada, têm sido descritas constantemente na literatura. A correção dos fatores de risco – a exemplo da terapêutica nutricional e exercícios físicos para o controle do sobrepeso e obesidade no seguimento clínico dos pacientes com HCVC – atua na sensibilização da insulina, além de maior biodisponibilidade de ação do interferon. O uso de medicações sensibilizadoras de insulina como as biguanidas e tiazolidinedionas, pode contribuir para o sucesso da resposta terapêutica antiviral.

Na presença de esteatose moderada ou grave, ou mesmo na EHNA induzida pelo vírus, instituir terapêutica precoce pode evitar a piora histológica desses pacientes, diminuindo o risco de complicações da fibrose avançada.

Por outro lado, como a proteína do core do VHC é capaz de induzir diretamente a resistência insulínica, a resposta virológica sustentada pode

evitar o aparecimento de *diabetes mellitus* tipo 2, diminuindo o risco de complicações cardiovasculares.

Os resultados da presente pesquisa permitem inferir que, mesmo aplicando um critério ultrarrestrito para o diagnóstico da esteato-hepatite não alcoólica, sua associação em pacientes com hepatite crônica pelo vírus C foi elevada. A presença de esteato-hepatite não alcoólica modifica a evolução da doença, com evidências histológicas de maiores estágios de fibrose e, conseqüentemente, indicação de tratamento antiviral. A avaliação cuidadosa de parâmetros clínico-laboratoriais é fundamental para predizer quais pacientes poderão ter um curso mais agressivo da doença. Concluindo, esforços para identificação e controle dos fatores de risco associados à esteato-hepatite bem como a definição de estratégias de tratamento precoces ou adjuvantes podem modificar a evolução clínica desses pacientes com infecção crônica pelo vírus da hepatite C.

## **7 CONCLUSÕES**

Na presente amostra, pode-se concluir que

a) A prevalência da esteatose hepática, definida pelo acúmulo de gordura em mais de 5% dos hepatócitos, mostrou-se elevada em pacientes com hepatite crônica pelo vírus C, condizente com dados da literatura;

b) Diferindo de outros autores, a prevalência de esteato-hepatite não alcoólica associada à HCVC, mesmo definida por critérios histológicos mais restritos, atingiu 25,9% dos pacientes;

c) No estudo comparativo entre pacientes com HCVC divididos em três grupos – sem esteatose, com esteatose e com esteato-hepatite não alcoólica –, as variáveis genótipo viral 3, IMC maior ou igual a 25 e o perfil lipídico da síndrome metabólica foram significativamente mais prevalentes no grupo HCVC + EHNA;

d) Quando analisado o estágio da fibrose à biópsia inicial em relação aos três grupos, graduações de fibrose de 2 a 4 estiveram significativamente associadas ao grupo HCVC + EHNA na presença das seguintes variáveis, estudadas isoladamente: genótipo viral 1 do VHC, idade inferior a 45 anos, sobrepeso/ obesidade, sexo masculino e sexo feminino;

e) A indicação de tratamento antiviral foi mais prevalente nos pacientes com HCVC associados com esteatose ou esteato-hepatite não alcoólica.

## **8 ANEXOS**



## Anexo A – Protocolo de pesquisa

PROTOCOLO DE PESQUISA DE ASSOCIAÇÃO DE HEPATITE PELO VÍRUS C COM DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA					
1. IDENTIFICAÇÃO					
Nome: _____					
DN: _____ Idade: _____ Sexo: _____ Raça: _____					
2. Diagnóstico VHC: _____ Genótipo: _____					
1. Peso: _____ Altura (cm): _____ IMC: _____					
2. Doenças associadas: <input type="checkbox"/> _____					
<input type="checkbox"/> diabetes <input type="checkbox"/> HAS <input type="checkbox"/> obesidade <input type="checkbox"/> dislipidemia					
5. Medicações em uso: _____					
6. Passado de alcoolismo: _____					
7. Exames laboratoriais:					
EXAMES		REF		REF	
Hb					
Hto					
Leucócitos					
Neut./linf.					
Plaquetas					
TAP (INR)					
ALT					
AST					
Gama GT					
FA					
PTF					
BbT					
APRI					
Glicemia					
Colesterol					
HDL					
Triglicérides					

## Anexo B – Termo de consentimento informado

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

#### I - Dados de identificação do sujeito da pesquisa ou responsável legal

1. NOME DO PACIENTE.....  
 DOCUMENTO DE IDENTIDADE N<sup>o</sup>..... SEXO: M( ) F( )  
 DATA DE NASCIMENTO:...../...../.....  
 ENDEREÇO:.....N<sup>o</sup>.....APTO.....  
 BAIRRO:.....CIDADE:.....  
 CEP:.....TELEFONE: DDD( ).....

2. RESPONSÁVEL LEGAL.....  
 NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador,etc.).....  
 DOCUMENTO DE IDENTIDADE N<sup>o</sup>.....  
 DATA DE NASCIMENTO:...../...../.....  
 ENDEREÇO:.....N<sup>o</sup>.....APTO.....  
 BAIRRO:.....CIDADE:.....  
 CEP:.....TELEFONE:DDD(.....).....

#### II - Dados sobre a pesquisa científica

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: EVOLUÇÃO CLÍNICA E HISTOPATOLÓGICA DE PACIENTES COM INFECÇÃO CRÔNICA PELO VÍRUS C ASSOCIADOS À ESTEATOSE HEPÁTICA E ESTEATO-HEPATITE

PESQUISADOR: MARCIA FERREIRA DA COSTA  
 CARGO/FUNÇÃO: MÉDICA  
 INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL: N<sup>o</sup> 64537

#### 2. AVALIAÇÃO DO RISCO DE PESQUISA:

SEM RISCO ( )                      RISCO MÍNIMO ( X )                      RISCO MÉDIO ( )  
 RISCO BAIXO ( )                      RISCO MAIOR ( )  
 (probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

#### III - Registro das explicações do pesquisador ao paciente ou seu representante legal sobre a pesquisa, consignando:

##### 1. Justificativa e objetivos da pesquisa:

O objetivo da pesquisa é avaliar se a presença de esteatose hepática, fígado gorduroso, ou esteato-hepatite, fígado com depósito de gordura e inflamado, modifica a evolução clínica, laboratorial e agrava a biópsia hepática de pacientes com hepatite crônica C

## 2. Procedimentos que serão utilizados e propósitos:

Inicialmente, será realizada uma consulta ambulatorial para avaliar os sintomas do paciente, pesquisa sobre antecedentes de doenças, fatores de risco para infecção pelo vírus C e exame clínico minucioso.

Posteriormente, serão realizados: a) Exame de sangue para confirmação da infecção pelo vírus C, exames laboratoriais de rotina para investigação da doença hepática (atividade e função), além de avaliação hematológica e bioquímica para verificar a presença de outras alterações, como anemia, diabetes ou intolerância a diabetes, dislipidemia; b) Ultrassonografia abdominal, para avaliação principalmente do acometimento do fígado; c) Biópsia hepática, para estadiamento da hepatite crônica pelo vírus C e exclusão ou detecção de outras doenças associadas.

## 3. Desconfortos e riscos esperados:

O exame de biópsia hepática poderá causar dor e sonolência, devido à sedação que é aplicada para que o paciente não sinta dor ou desconforto. A biópsia realizada poderá raramente causar um pequeno sangramento. O paciente terá de permanecer em jejum até a realização do exame e permanecer em observação clínica no ambiente hospitalar por um período de 6 horas. Recomenda-se que o paciente não realize esforços físicos por um período de 3 dias.

O exame de sangue poderá causar a dor de uma picada de agulha no momento da coleta.

O exame de ultrassonografia poderá causar um pouco de cólica, pois há a necessidade de preparo prévio para limpeza do intestino com o uso de laxativos. Também o paciente permanecerá em jejum até a realização do exame.

## 4. Benefícios que poderão ser obtidos:

Com nossa pesquisa, poderemos identificar a indicação imediata ou tardia de tratamento da hepatite crônica pelo vírus C, como também detectar doenças associadas (esteatose e esteato-hepatite) e orientar a melhor forma de tratamento e acompanhamento da doença. Caso o paciente apresente indicação de tratamento imediato, este será disponibilizado após preenchimento de formulário próprio, exigido pela Secretaria de Saúde, e o mesmo será acompanhado no ambulatório.

## 5. Procedimentos alternativos que possam ser vantajosos:

Não existem métodos alternativos que superem a biópsia hepática, sendo de grande valor no paciente com hepatite C, permitindo a confirmação diagnóstica da doença, avaliando a necessidade de tratamento imediato ou posterior e detectando a presença de outras doenças.

## IV - Esclarecimentos dados pelo pesquisador sobre garantias do sujeito da pesquisa:

1. Acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas. **SIM**
2. Liberdade de retirar seu consentimento, sem risco de dano ou penalização, a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isso traga prejuízo à continuidade da assistência. **SIM**
3. Salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade. **SIM**
4. Disponibilidade de assistência na FMUSP, por eventuais danos à saúde decorrentes da pesquisa. **SIM**
5. Participação gratuita durante toda a pesquisa. **SIM**
6. Viabilidade de indenização por eventuais danos à saúde decorrentes da pesquisa. **SIM**

**V - Informações de nomes, endereços e telefones dos responsáveis pelo acompanhamento da pesquisa, para contato em caso de intercorrências clínicas e reações adversas:**

**Nome:** Marcia Ferreira da Costa

**Endereço:** Ambulatório do Hospital de Clínicas da Universidade de São Paulo

**Telefones:**

**VI - Observações complementares:**

**Sem informações complementares.**

**VII - Consentimento pós-esclarecido:**

**Declaro que, depois de convenientemente esclarecido pelo pesquisador e de ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.**

**São Paulo, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200 \_\_\_\_\_**

\_\_\_\_\_  
**Assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal**

\_\_\_\_\_  
**Assinatura do pesquisador (carimbo ou nome legível)**

## Anexo C – Aprovação do projeto pela CAPPesq

**HC** HOSPITAL DAS CLÍNICAS  
DA FACULDADE DE MEDICINA  
DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO


### APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 18.04.07, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **0045/07**, intitulado: **"ASSOCIAÇÃO DE HEPATITE PELO VIRUS C COM DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA: AVALIAÇÃO DA EVOLUÇÃO CLÍNICA E HISTOPATOLÓGICA"**, apresentado pelo **DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10.10.1996, inciso IX, 2, letra "c")

Pesquisador(a) Responsável: **Profª. Drª. Edna Strauss**  
Pesquisador (a) Executante: **Márcia Ferreira da Costa**

CAPPesq, 18 de abril de 2007.



**PROF. DR. EDUARDO MASSAD**  
Presidente da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP e da FMUSP  
Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo  
Rua Ovidio Freire de Campos, 223, 9º andar - CEP 05403-010 - São Paulo - SP  
Fone: 011 - 30694442 - Fax: 011 - 30694492 - e-mail: cappesq@hcfm.usp.br / asscometico@ccetio@hcfm.usp.br

## **Anexo D – Protocolo histopatológico da hepatite crônica pelo vírus C e a associação com a doença hepática gordurosa não alcoólica**

### **AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DA HEPATITE CRÔNICA PELO VÍRUS C ASSOCIADA À DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA**

#### **1) ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS**

0 []    1+ []    2+ []    3+ []    4+ []

0. arquitetura lobular normal;
1. expansão fibrosa de espaços-porta;
2. expansão fibrosa portal com septos porta-porta;
3. preservação apenas parcial da arquitetura lobular, com septos porta-porta e porta-centro, podendo ser vistos esboços de nódulos;
4. cirrose, plenamente identificada à biópsia, ou predomínio de áreas nodulares em relação a lóbulos remanescentes.

#### **2) INFILTRADO INFLAMATÓRIO PORTAL/SEPTAL: semiquantificação**

0 []    1+ []    2+ []    3+ []    4+ []

0. raros linfócitos portais;
1. aumento discreto do número de linfócitos portais;
2. aumento moderado do número de linfócitos portais;
3. aumento acentuado do número de linfócitos portais;
4. aumento muito acentuado do número de linfócitos portais.

#### **3) ATIVIDADE PERIportal/ SEPTAL**

0 []    1+ []    2+ []    3+ []    4+ []

0. ausência de lesões da interface espaço-porta/ parênquima;
1. extravasamento de linfócitos para a interface (*spill over*), não caracterizando a presença de necrose em saca-bocados;
2. necrose em saca-bocados discreta (pequenas áreas em poucos espaços-porta);
3. necrose em saca-bocados moderada (extensas áreas em poucos espaços-porta ou pequenos focos em muitos espaços-porta);
4. necrose em saca-bocados em extensas áreas de muitos espaços-porta.

**4) ATIVIDADE PARENQUIMATOSA**0  1+  2+  3+  4+ 

0. hepatócitos normais, isomorfos;

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

2. necrose focal de hepatócitos circundados por agregados linfo-histiocitários em numerosos sítios;

3. necrose focal de hepatócitos circundados por agregados linfo-histiocitários em muitos sítios, associada a áreas limitadas de necrose confluyente;

4. necrose focal de hepatócitos circundados por agregados linfo-histiocitários em numerosos sítios, associada a necrose confluyente extensa/ múltipla.

**5) ESTEATOSE MACROVACUOLAR (manter Kleiner et al, 2005)**Intensidade: 0 (<5%)  1+ (5-33%)  2+ (33-66%)  3+ (>66%) 

(se for agregar para estatística : 0 + 1 vs 2 + 3)

**6) ESTEATOSE MICROVACUOLAR**Ausência 0  Escassa 1  Presença 2 

(se for agregar para estatística : 0 + 1 vs 2)

**7) BALONIZAÇÃO HEPATOCELULAR (manter Kleiner et al, 2005)**Intensidade: 0  1+  2+ 

(se for agregar para estatística : 0 + 1 vs 2)

**8) FIBROSE PERIVENULAR E PERISSINUSOIDAL**Perivenular: Intensidade: 0  1+  2+  3+  4+ Perissinusoidal: Intensidade: 0  1+  2+  3+  4+ **9) HIALINOS DE MALLORY**Ausentes: 0  Escassos: 1+  Abundantes :2+ **10) PSEUDOINCLUSÃO NUCLEAR DE GLICOGÊNIO (ok)**Ausentes: 0  Escassos: 1+  Abundantes :2+ **11) SOBRECARGA DE FERRO**Intensidade: 0  1+  2+  3+  4+ hepatócitos  céls. Kupffer  ductos **12) REAÇÃO DUCTULAR**Intensidade: 0  1+  2+  3+  4+

### Anexo E- Variáveis clínicas e laboratoriais da casuística relacionadas à primeira biópsia

Nº	SEXO	ÁLCOOL	MESES ALC.	GENOT	GRUPO	ID 1	IMC 1	HAS 1	ALTGLI	DLP 1	PLAQ 1	TAP 1	ALT 1	AST 1	APRI 1	GLIC 1	COL 1	HDL 1	TG 1
1	M	1	72	1	0	38	27.4	0	0	0	251	91	2.00	1.14	0.46	88	173	68	49
2	M	1	7	1	1	49	23	0	0	0	386	77	1.11	1.00	0.24	95	143	43	69
3	M	0		1	1	20	19.9	0	0	1	206	81.3	2.20	1.43	0.69	78	117	40	103
4	F	0		1	0	53	32.8	0	0	0	174	99	1.44	1.06	0.78	73	199	68	65
5	M	0		3	0	25	21	0	0	1	235	90.3	1.47	1.05	0.45	85	112	35	56
6	M	0		1	0	44	26.4	0	0	1	263	74	1.14	1.00	0.26	92	202	59	98
7	F	0		1	0	44	24	1	1	1	175	85	2.27	2.00	1.14	107	186	36	152
8	M	0		1	0	33	22.4	0	0	1	184	79	1.00	1.00	0.41	99	196	35	69
9	F	0		1	0	20	20	0	0	0	189	64.4	1.00	1.03	0.54	77	200	59	79
10	M	1	6	1	0	47	24.2	1	0	1	202	90.4	1.70	1.14	0.57	83	186	40	104
11	M	1	7	3	0	43	26.6	0	0	0	216	94	2.45	2.23	1.03	93	198	62	93
12	M	0		1	1	37	22.5	0	0	1	173	87	1.60	1.20	0.70	84	113	37	128
13	M	0		1	0	24	25.9	0	0	1	346	106	2.20	1.29	0.37	88	192	44	190
14	M	1	60	3	0	29	26.1	0	0	1	171	100	1.93	1.67	0.98	87	118	41	56
15	M	1	4	1	0	50	29.1	0	0	1	239	83.1	1.00	1.00	0.41	94	157	37	84
16	M	1	10	3	0	28	34.5	0	0	1	164	96.5	1.09	1.00	0.59	99	146	32	88
17	M	1	4	1	0	34	24.9	0	0	1	208	114	1.2	1.00	0.45	86	176	31	153
18	M	1	2	1	0	18	22.8	0	0	1	164	81	3.43	2.17	1.33	85	126	39	116
19	F	0		1	1	48	26	0	1	1	246	91.1	1.70	1.44	0.58	108	156	64	126
20	M	0		3	0	41	28.3	0	0	1	161	90	3.93	3.05	1.90	91	53	16	86
21	M	0		3	1	33	24.8	0	1	1	207	85	2.61	2.00	0.97	90	134	43	123
22	F	0		3	0	55	29	0	0	0	269	93	1.50	1.10	0.41	83	188	69	78
23	F	0		1	0	21	20.6	0	0	0	256	92	2.72	1.12	0.44	79	171	60	76
24	M	0		1	0	39	26.3	0	0	1	249	103	1.90	1.26	0.51	86	134	42	58
25	F	1	48	1	1	60	20.9	0	0	0	137	72.8	1.02	1.43	1.05	82	144	60	112
26	F	0		1	0	46	29.3	0	0	0	270	100	4.70	4.16	1.54	85	158	64	106
27	F	0		1	0	39	28.1	0	0	0	178	82	2.16	1.26	0.71	89	171	48	59
28	M	1	96	1	1	43	22	0	0	1	182	90.2	1.47	1.91	1.05	89	143	45	72



N°	SEXO	ALCOOL	MESES ALC.	GENOT	GRUPO	ID 1	IMC 1	HAS 1	ALTGLI	DLP 1	PLAQ 1	TAP 1	ALT 1	AST 1	APRI 1	GLIC 1	COL 1	HDL 1	TG 1
29	M	1	6	3	0	42	31.2	0	0	1	248	93	2.13	1.17	0.47	87	167	40	231
30	F	0		1	1	37	27.1	1	1	1	312	115	1.61	1.00	0.25	234	174	33	95
31	F	0		1	0	21	24.4	0	0	0	225	87.2	1.47	1.33	0.59	83	141	54	69
32	M	1	48	1	0	23	24.3	0	0	1	265	81.8	1.70	1.14	0.43	84	166	33	62
33	F	0		1	0	29	24.3	0	0	0	233	88.5	1.97	2.36	1.01	86	134	47	107
34	M	1	48	1	1	34	30	0	0	1	287	100	5.68	3.41	1.19	74	157	47	93
35	F	1	96	1	0	48	27.7	0	0	0	258	101	1.33	1.16	0.45	92	191	86	136
36	F	0		1	0	39	37.1	1	0	0	178	107	9.36	4.36	2.45	95	219	52	167
37	F	0		1	1	61	29.3	1	0	0	267	87	2.05	2.83	1.06	97	188	74	115
38	F	0		1	0	55	24.5	1	0	0	250	83.7	1.00	1.06	0.43	51	238	78	104
39	M	1	4	3	1	47	36.3	1	0	0	137	92	3.45	3.67	2.68	92	205	43	128
40	M	1	3	1	0	22	24.4	0	0	0	267	86	2.29	2.17	0.81	76	117	58	63
41	M	1	60	1	0	39	20.6	1	0	1	166	90	1.11	1.00	0.53	81	179	44	137
42	M	1	120	1	1	42	30.1	0	0	1	153	83.6	4.15	2.80	1.83	99	148	49	130
43	M	0		1	0	30	24.3	0	0	0	179	92.3	1.00	1.00	0.46	88	204	64	64
44	M	1	10	1	1	35	25	0	0	1	179	90	2.68	1.76	0.98	91	193	33	64
45	M	1	12	1	0	34	23.8	0	0	1	199	83.7	2.86	2.14	1.08	95	112	61	80
46	M	0		1	0	24	28.7	0	0	0	165	77	2.56	1.58	0.96	84	202	71	114
47	F	0		1	0	22	21	0	0	0	285	93	1.44	1.00	0.33	92	191	69	58
48	M	0		1	0	26	25	0	0	1	193	94	1.90	1.30	0.67	109	106	28	132
49	M	1	3	1	1	22	33.6	0	0	0	237	98	1.34	1.00	0.36	88	181	53	100
50	M	0		1	0	29	24.5	0	0	0	151	100	1.79	1.23	0.82	74	151	27	235
51	F	0		1	0	45	21.9	0	0	0	316	91.2	1.00	1.00	0.28	83	182	65	60
52	F	0		1	0	39	27.3	0	0	0	258	84.4	1.00	1.00	0.30	70	160	64	45
53	F	0		1	0	30	19	0	0	0	214	87.2	1.00	1.00	0.44	78	158	56	64
54	M	0		1	0	25	20.8	0	0	0	196	82	1.44	1.05	0.54	55	134	62	50
55	M	0		1	0	37	32.5	0	0	0	243	100	2.09	1.35	0.56	74	145	37	150
56	M	1	52	1	0	46	24.2	0	0	0	190	95	1.61	1.00	0.50	85	170	52	95
57	F	0		1	0	32	22.6	0	0	0	254	95	1.08	1.10	0.43	89	190	42	151
58	F	0		3	1	52	29.4	0	0	0	273	101	2.16	2.23	0.82	94	225	45	69

Nº	SEXO	ALCOOL	MESES ALC.	GENOT	GRUPO	ID 1	IMC 1	HAS 1	ALTGLI	DLP 1	PLAQ 1	TAP 1	ALT 1	AST 1	APRI 1	GLIC 1	COL 1	HDL 1	TG 1
59	F	0		1	1	48	22.9	1	0	0	189	97	1.00	1.00	0.32	93	68	57	77
60	M	1	12	1	1	41	28.7	0	0	1	239	100	3.43	2.20	0.92	93	176	37	119
61	M	1	10	1	1	43	25.8	0	0	1	170	119	1.13	1.38	0.81	97	161	41	107
62	M	1	2	3	1	49	32.3	0	0	0	198	100	1.52	1.44	0.73	97	184	53	105
63	F	0		1	0	60	26.5	0	0	0	242	81.2	2.40	2.16	0.89	91	158	46	94
64	M	0		1	1	46	28.7	0	0	1	221	90.3	1.00	1.00	0.36	72	162	48	52
65	F	0		1	1	39	25	1	0	1	135	102.7	6.00	6.10	4.52	76	177	30	88
66	F	0		1	1	56	27	0	0	0	160	100	1.00	1.00	0.53	98	230	63	136
67	M	0		1	1	43	24.3	1	0	0	205	88	1.60	1.87	0.91	74	259	70	102
68	F	0		1	0	43	20.1	0	0	0	340	100	4.87	1.00	0.15	79	167	42	153
69	F	0		1	0	53	25.7	0	0	0	207	100	2.28	1.51	0.73	81	112	40	37
70	F	0		1	0	57	20	0	0	0	186	105	1.03	1.15	0.62	86	161	71	84
71	M	1	6	2	0	41	27.9	1	0	1	231	96	2.08	1.00	0.40	87	198	53	89
72	M	1	14	1	0	32	27.8	0	0	1	250	100	1.00	1.00	0.29	71	158	32	130
73	M	0		1	0	42	22.4	0	0	0	224	97	1.25	1.00	0.43	82	211	82	38
74	M	0		2	0	51	35.8	1	1	1	217	100	1.43	1.00	0.32	113	235	58	88
75	M	0		1	1	47	23.7	0	0	0	170	78	2.41	1.57	0.93	92	169	51	89
76	M	1	15	1	1	20	42.8	1	0	1	330	81	8.53	4.47	1.35	77	148	40	97
77	M	0		1	0	31	25.8	0	0	0	185	89.5	3.05	2.34	1.27	100	179	41	126
78	F	0		1	0	30	21.7	0	0	0	273		2.58	1.28	0.47	78	162	77	40
79	F	0		3	0	14	21	0	0	0	175	65	1.70	1.00	0.40	81	56	20	34
80	F	0		1	1	51	29.1	0	0	0	256	100	1.00	1.00	0.32	100	167	54	148
81	M	0		1	1	39	20.4	0	0	1	225	76.9	6.10	4.00	1.78	78	137	36	73

Meses Alc – Tempo de abstenção do álcool; Genot – Genótipo viral; ID 1 – Idade 1ª biópsia; IMC – Índice de massa corpórea 1ª biópsia; HAS 1 – Hipertensão arterial sistêmica 1ª biópsia; Alt Gli – Alteração glicêmica; DLP 1 – Dislipidemia 1ª biópsia; Plaq 1 – número de plaquetas  $\times 10^3/\text{mm}^3$ ; TAP 1 – Tempo de atividade da protrombina 1ª biópsia; ALT 1 – Alanina aminotransferase/Limite superior normal 1ª biópsia; AST 1 – Aspartato aminotransferase/ Limite superior normal 1ª biópsia; APRI 1 – Índice da relação AST/ Plaquetas; Glicemia de jejum 1ª biópsia (mg/dl); Col 1 – Colesterol total jejum 1ª biópsia (mg/dl); HDL – HDL-colesterol 1ª biópsia (mg/dl); TG 1 – Triglicéride jejum 1ª biópsia (mg/dl).

Sexo: F= feminino; M = masculino  
 Grupo: 0= não tratamento; 1 = tratamento  
 Demais variáveis: 0= ausente; 1= presente

### Anexo F- Variáveis clínicas e laboratoriais da casuística relacionadas à rebiópsia

Nº	SEXO	GENOT	GRUPO	ID 2	IMC 2	HAS 2	ALTGLI	DLP 2	PLAQ 2	TAP 2	ALT 2	AST 2	APRI 2	GLIC 2	COL 2	HDL 2	TG 2
1	M	1	0	42	28.08	0	0	0	242	91.9	1.36	1.29	0.53	95	167	82	31
2	M	1	1	52	23	0	0	0	366	80	1.82	1.05	0.29	91	137	27	131
3	M	1	1	24	20.95	0	0	1	219	82	1.75	1.08	0.50	80	101	43	43
4	F	1	0	56	31.9	0	0	0	157	106	1.25	1.48	0.94	80	190	62	45
5	M	3	0	29	22.8	0	0	1	223	61	2.78	1.60	0.72	86	130	35	105
6	M	1	0	47	25.7	0	0	1	261	95	1.29	1.00	0.30	93	180	49	77
7	F	1	0	48	24.4	1	1	1	125	86	5.16	5.50	4.35	117	178	44	145
8	M	1	0	36	21.8	0	0	1	203	88	1.00	1.00	0.26	94	187	49	93
9	F	1	0	25	25	0	0	0	260	69	1.00	1.00	0.59	84	176	59	55
10	M	1	0	53	25.1	1	0	1	173	98	2.24	1.27	0.73	97	156	38	113
11	M	3	0	46	27.3	0	0	1	240	110	2.41	1.59	0.66	91	231	64	82
12	M	1	1	41	22.8	0	0	1	155	93.9	1.00	1.00	0.28	98	138	47	88
13	M	1	0	28	28	0	0	1	318	100	1.00	1.32	0.41	83	189	46	194
14	M	3	0	33	25.9	0	0	1	155	89.4	1.06	1.00	0.51	83	103	32	70
15	M	1	0	54	30.4	0	0	1	216	107	1.09	1.00	0.37	96	135	30	93
16	M	3	0	31	29.4	0	0	1	195	105	1.31	1.08	0.55	90	164	38	120
17	M	1	0	38	25.5	0	0	1	248	100	1.68	1.00	0.37	94	182	37	107
18	M	1	0	22	25	0	0	1	196	95	1.22	1.00	0.45	85	133	39	101
19	F	1	1	51	28.4	0	1	1	241	88	1.90	1.54	0.64	126	142	64	103
20	M	3	0	45	29.5	0	0	1	153	86	1.06	1.44	0.94	93	85	24	152
21	M	3	1	37	26.3	0	1	1	194	88	1.43	1.00	0.50	98	122	40	154
22	F	3	0	58	29.3	0	0	0	287	98	1.93	1.41	0.49	91	144	55	67
23	F	1	0	25	20.8	0	0	0	239	80	2.61	1.56	0.65	75	163	86	43
24	M	1	0	43	26.9	0	0	1	212	106	2.26	1.27	0.60	99	137	52	91
25	F	1	1	65	22.8	0	0	0	132	84	1.74	1.87	1.42	95	163	69	119
26	F	1	0	52	29.4	0	0	0	209	86.4	2.27	2.26	1.08	87	162	72	94
27	F	1	0	43	28.6	0	0	0	196	82	2.00	1.30	0.66	82	166	49	54
28	M	1	1	47	28.7	0	0	1	160	93	2.31	2.35	1.47	88	185	45	118

N°	SEXO	GENOT	GRUPO	ID 2	IMC 2	HAS 2	ALTGLI	DLP 2	PLAQ 2	TAP 2	ALT 2	AST 2	APRI 2	GLIC 2	COL 2	HDL 2	TG 2
29	M	3	0	46	31.2	0	0	1	220	80	4.51	2.59	1.18	77	184	48	98
30	F	1	1	41	26.3	1	1	1	316	85	1.00	1.00	0.21	90	153	31	85
31	F	1	0	26	22.5	0	0	0	223	94	2.06	1.58	0.71	86	171	67	72
32	M	1	0	26	26.6	0	0	1	248	94	2.14	1.13	0.46	94	147	40	75
33	F	1	0	33	24.3	0	0	0	198	101	1.35	1.58	0.80	91	149	41	169
34	M	1	1	40	27.1	0	0	1	229	92	5.90	2.97	1.30	85	198	48	96
35	F	1	0	51	27.3	0	0	0	255	110	2.06	1.25	0.49	91	177	83	109
36	F	1	0	42	34.5	1	0	0	210	100	3.41	1.60	0.76	91	233	67	76
37	F	1	1	66	29.9	1	0	0	291	91	1.69	2.26	0.78	107	197	79	104
38	F	1	0	58	26.4	1	0	0	249	89	1.00	1.00	0.39	89	207	71	89
39	M	3	1	52	34.7	1	0	0	188	98	1.00	1.02	0.55	97	145	39	150
40	M	1	0	25	29.1	0	0	0	205	72.1	3.75	3.13	1.53	87	119	64	105
41	M	1	0	45	21	1	0	1	150	89	1.34	1.16	0.78	79	205	76	76
42	M	1	1	46	29	0	0	1	156	88	4.00	1.94	1.25	96	136	47	81
43	M	1	0	34	24.6	0	0	0	172	93	5.21	2.56	1.49	83	200	57	81
44	M	1	1	40	26.5	0	0	1	129	86	2.34	1.75	1.36	96	191	42	110
45	M	1	0	37	25.3	0	1	1	192	98	2.63	1.51	0.79	153	109	55	122
46	M	1	0	27	27.1	0	0	0	177	100	1.80	1.13	0.64	93	174	55	102
47	F	1	0	26	22.5	0	0	0	304	97.9	3.77	2.13	0.70	86	160	54	74
48	M	1	0	28	26.5	0	0	1	191	90	2.58	1.67	0.88	105	112	22	148
49	M	1	1	28	33	0	0	0	219	103	2.43	1.54	0.70	94	141	50	92
50	M	1	0	32	22.9	0	0	0	189	90	1.78	1.27	0.67	86	150	32	90
51	F	1	0	49	21.3	0	0	0	185	96	2.06	1.35	0.73	87	196	68	85
52	F	1	0	42	26.6	0	0	0	234	84	1.74	1.48	0.63	94	153	70	45
53	F	1	0	34	20.4	0	0	0	146	82	1.00	1.06	0.73	83	135	67	96
54	M	1	0	30	21.2	0	0	0	225	79.5	1.00	1.00	0.38	88	142	45	60
55	M	1	0	41	33.2	0	0	0	249	106	1.20	1.11	0.45	95	166	44	125
56	M	1	0	52	23.5	0	0	0	184	94	1.38	1.16	0.63	86	139	65	60
57	F	1	0	36	22.6	0	0	0	218	100	2.09	1.64	0.75	90	175	43	78
58	F	3	1	56	30.5	0	0	0	221	100	8.78	7.43	3.36	95	182	44	91

Nº	SEXO	GENOT	GRUPO	ID 2	IMC 2	HAS 2	ALTGLI	DLP 2	PLAQ 2	TAP 2	ALT 2	AST 2	APRI 2	GLIC 2	COL 2	HDL 2	TG 2
59	F	1	1	53	23.3	1	0	0	151	102	2.41	1.66	1.10	88	151	55	107
60	M	1	1	46	29.4	0	0	1	269	107	2.26	1.29	0.48	112	209	35	229
61	M	1	1	48	26.4	0	0	1	188	95.4	1.68	1.59	0.85	93	153	40	127
62	M	3	1	53	31.2	0	0	0	229	105	1.00	1.00	0.42	93	179	52	90
63	F	1	0	64	27.6	0	0	0	179	85	2.64	1.87	1.04	83	134	57	77
64	M	1	1	49	28.3	0	0	1	211	81.7	1.00	1.00	0.46	88	156	53	72
65	F	1	1	42	25.2	1	0	1	203	106	1.90	1.77	0.87	89	181	31	92
66	F	1	1	60	27.7	0	0	0	280	97	1.00	1.00	0.31	87	183	59	155
67	M	1	1	45	24.7	1	0	0	156	100	1.04	1.08	0.70	89	268	65	150
68	F	1	0	46	19.5	0	0	0	210	100	4.61	5.37	2.56	81	181	50	54
69	F	1	0	57	25.9	0	0	0	216	106	1.97	1.28	0.60	90	150	36	50
70	F	1	0	62	20	0	0	0	168	118	1.54	1.83	1.09	90	168	61	136
71	M	2	0	44	30.1	1	0	1	235	100	1.60	1.00	0.36	96	185	40	87
72	M	1	0	37	31	0	0	1	239	100	1.34	1.00	0.28	96	178	45	125
73	M	1	0	45	23.6	0	0	0	232	96	6.21	3.43	1.48	88	171	68	45
74	M	2	0	55	38.1	1	1	1	257	97	1.46	1.00	0.26	100	240	65	97
75	M	1	1	54	22.8	0	0	0	203	93.3	1.85	1.55	0.76	84	151	52	45
76	M	1	1	24	35.4	1	0	1	300	93.2	1.31	1.00	0.25	96	187	65	152
77	M	1	0	36	25.4	0	0	0	197	85	1.36	1.54	0.78	98	172	39	91
78	F	1	0	34	20.5	0	0	0	249	91	2.22	1.29	0.52	84	169	74	64
79	F	3	0	18	21.9	0	0	0	212	80	2.22	1.25	0.59	85	40	4	53
80	F	1	1	58	27.8	0	0	0	221	84.6	1.28	1.00	0.23	92	176	66	93
81	M	1	1	41	19.8	0	0	1	193	82	2.60	2.24	1.16	80	175	30	305

Genot – Genótipo viral; ID 2 – Idade 2ª biópsia; IMC 2 – Índice de massa corpórea 2ª biópsia; HAS 2 – Hipertensão arterial sistêmica 2ª biópsia; Alt Gli – Alteração glicêmica; DLP 2 – Dislipidemia 2ª biópsia; Plaq 2 – número de plaquetas  $\times 10^3/\text{mm}^3$ ; TAP 2 – Tempo de atividade da protrombina 2ª biópsia; ALT 2 – Alanina aminotransferase/Limite superior normal 2ª biópsia; AST 2 – Aspartato aminotransferase/ Limite superior normal 2ª biópsia; APRI 2 – Índice da relação AST/ Plaquetas; Glicemia de jejum 2ª biópsia (mg/dl); Col 2 – Colesterol total jejum 2ª biópsia (mg/dl); HDL 2 – HDL-colesterol 2ª biópsia (mg/dl); TG 2 – Triglicéride jejum 2ª biópsia (mg/dl).

Sexo: F= feminino; M = masculino  
 Grupo: 0= não tratamento; 1 = tratamento  
 Demais variáveis: 0= ausente; 1= presente

### Anexo G - Variáveis histológicas da casuística

Nº CASO	ALTEST 1	IIPSTP	ATPERPT	ATPAR	FIBPVEN	FIBPSIN	READUCT	ESTEATOM	ESTMICR	BALON	MALLORY	PSINGLIC	FERHPT	FERKUPF	ALTEST 2
1	0	2	2	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
2	2	2	3	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2
3	1	2	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
4	1	2	2	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1
5	1	2	2	1	1	0	2	1	2	2	0	0	0	0	2
6	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
7	3	2	2	2	2	2	2	3	2	2	2	0	0	0	4
8	1	2	2	1	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1
9	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1
10	1	3	2	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2
11	1	1	2	2	2	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
12	2	2	2	2	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
13	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
14	1	2	2	2	2	2	1	2	2	2	0	0	1	1	2
15	1	2	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
16	1	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
17	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	2
18	0	1	0	2	2	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1
19	2	2	2	1	1	1	0	1	1	2	1	2	0	0	3
20	1	2	2	2	2	2	1	2	1	2	1	0	0	0	3
21	2	4	3	3	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	1
22	1	2	2	2	1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	2
23	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	1	2	2	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1
25	2	2	3	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2
26	1	2	2	1	0	0	1	1	0	2	0	0	0	0	1
27	1	2	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
28	3	3	3	3	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	4

Nº CASO	ALTEST 1	IIPSTP	ATPERPT	ATPAR	FIBPVEN	FIBPSIN	READUCT	ESTEATOM	ESTMICR	BALON	MALLORY	PSINGLIC	FERHPT	FERKUPF	ALTEST 2
29	2	2	2	2	1	1	2	2	1	1	0	0	0	0	2
30	2	2	2	1	2	2	1	1	0	1	0	1	0	0	1
31	1	2	2	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
32	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1
33	2	2	2	2	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	2
34	2	2	2	2	3	3	1	2	2	2	2	1	0	0	3
35	2	3	2	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1
36	1	2	2	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
37	2	4	3	2	2	1	2	2	0	2	0	1	0	0	2
38	1	3	2	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
39	4	3	3	3	1	1	3	1	1	2	1	0	0	1	4
40	1	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	2
41	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1
42	3	3	3	2	2	2	1	2	1	2	1	0	0	2	3
43	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2
44	3	2	3	2	2	1	1	2	1	2	0	1	0	0	4
45	1	2	2	1	1	1	1	2	1	2	0	0	0	0	2
46	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
47	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
48	2	2	2	1	1	1	0	2	2	1	1	1	1	0	1
49	1	2	2	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1
50	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
51	0	2	1	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
52	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
53	1	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
54	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
55	1	2	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
56	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
57	1	4	2	2	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1
58	1	2	3	1	1	1	0	1	0	2	0	0	0	1	2

Nº CASO	ALTEST 1	IIPTSP	ATPERPT	ATPAR	FIBPVEN	FIBPSIN	READUCT	ESTEATOM	ESTMICR	BALON	MALLORY	PSINGLIC	FERHPT	FERKUPF	ALTEST 2
59	2	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	2
60	2	3	3	2	1	0	2	2	1	1	0	0	0	0	3
61	2	3	3	2	1	1	3	1	0	1	0	1	0	0	3
62	3	3	3	3	1	1	2	3	1	1	0	1	0	0	2
63	1	3	3	2	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	2
64	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	1	1	0	2	2
65	3	3	3	3	1	1	2	0	0	2	0	0	0	0	2
66	2	2	2	1	1	0	1	2	1	2	1	0	0	0	1
67	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
68	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
69	1	1	1	1	1	1	1	2	1	2	0	1	0	0	1
70	1	2	2	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	3
71	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
72	0	1	0	2	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1
73	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
74	1	3	2	1	1	0	1	1	1	1	0	0	2	1	1
75	1	2	2	2	0	0	1	0	0	0	0	0	2	2	2
76	1	3	2	2	1	1	0	2	1	2	0	0	1	1	2
77	1	2	2	2	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1
78	1	2	2	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
79	1	1	0	0	1	1	0	3	2	2	1	0	0	0	1
80	2	2	2	2	1	0	1	2	1	1	0	2	0	0	2
81	2	2	2	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2	3

ALT EST 1 – alteração estrutural 1ª biópsia; IIPTSP – infiltrado inflamatório portal; ATPERPT – atividade periportal; ATPAR – atividade parenquimatosa; FIBPVEN – fibrose perivenular; FIBPSIN – fibrose perissinusoidal; READUCT – reação ductular; ESTEATOM – esteatose macrovacuolar; ESTMICR – esteatose microvacuolar; BALON – balonização hepatocelular; MALLORY – corpúsculos hialinos de Mallory- Denk; PSINGLIC – pseudoinclusão nuclear de glicogênio; FERHPT – sobrecarga de ferro no hepatócito; FERKUPF – sobrecarga de ferro nas células de Kupffer; ALTEST 2 – alteração estrutural 2ª biópsia.



## **9 REFERÊNCIAS**

Abid K, Paziienza V, Gottardi A, Rubbia-Brandt L, Conne B, Pugnale P, Rossi C, Mangia A, Negro F. An in vitro model of hepatitis C virus genotype 3a-associated triglycerides accumulation. *J Hepatol.* 2005; 42:744-51.

ADA. The expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care.* 2002; 25(1):S5-S20.

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

AGA technical review on nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology.* 2002; 123:1705-25.

Agnello V, Ábel G, Elfahal M, Knight GB, Zhang Q. Hepatitis C virus and other Flaviviridae viruses enter cells via low density lipoprotein receptor. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999; 96:12766-71.

Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 1999; 30:1356-62.

Bacon BR, Farahvash MJ, Janney CG, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic steatohepatitis: an expanded clinical entity. *Gastroenterology*. 1994; 107:1103-9.

Bedossa P *et al*. 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.

Bedossa P, Dargere D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003; 38:1449-57.

Bedossa P, Moucari R, Chelbi E, Asselah T, Paradis V, Vidaud M, Cazals-Hatem D, Boyer N, Valla D, Marcellin P. Evidence for a role of nonalcoholic steatohepatitis in hepatitis C: a prospective study. *Hepatology*. 2007; 46:380-7.

Bellentani S, Bedogni G, Miglioli L, Tiribelli C. The epidemiology of fatty liver. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2004; 16:1087-93.

Bellentani S, Tiribelli C. The spectrum of liver disease in the general population: lesson from the Dionysos study. *J Hepatol.* 2001; 35:531-7.

Bellentani S, Tiribelli C, Saccoccio G, Sodde M, Fratti N, De Martin C, *et al.* Prevalence of chronic liver disease in the general population of northern Italy: the Dionysos study. *Hepatology.* 1994; 20:1442-9.

Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Hepatites virais: o Brasil está atento. 3a ed. *Brasília. Ministério da Saúde.* 2008; 60p.

Bressler BL, Guindi M, Tomlinson G, Heathcote J. High body mass is an independent risk factor for nonresponse to antiviral treatment in chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2003; 38:639-44.

Brunt EM. Histopathology of nonalcoholic (metabolic) fatty liver disease. *Postgraduated course AASLD.* 2007; 46-54.

Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis. *Semin Liver Dis.* 2004; 24(1):3-17.

Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol.* 1999; 94:2467-74.

Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, Unalp A, Behling CE, Lavine JE, Neuschwander-Tetri BA and the NASH Clinical Research Network. Portal chronic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): A histologic marker of advanced NAFLD – clinicopathologic correlations from the Nonalcoholic Clinical Research Network. *Hepatology*. 2009; 49:809-20.

Brunt EM, Ramrakhiani S, Cordes BG, Neuschwander-Tetri BA, Janney CG, Bacon BR, *et al*. Concurrence of histological features of steatohepatitis with other forms of chronic liver disease. *Mod Pathol*. 2003; 16(1):49-56.

Bugianesi E, Marchesini G, Gentilcore E, Cua IHY, Vanni E, Rizzetto M, George J. Fibrosis in genotype 3 chronic hepatitis C and nonalcoholic fatty liver disease: role of insulin resistance and hepatic steatosis. *Hepatology*. 2006; 44:1648-55.

Castéra L, Hézode C, Roudot-Thoraval F, Bastie A, Zafrani ES, Pawlotsky JM, Dhumeaux D. Worsening of steatosis is an independent factor of fibrosis progression in untreated patients with chronic hepatitis C and paired liver biopsies. *Gut*. 2003; 52(2):288-92.

Castéra L, Hézode C, Roudot-Thoraval F, Lonjon I, Zafrani ES, Pawlotsky JM, Dhumeaux D. Effect of antiviral treatment on evolution of liver steatosis in patients with chronic hepatitis C: indirect evidence of a role of hepatitis C virus genotype 3 in steatosis. *Gut*. 2004; 53:420-24.

Cavalheiro NP, Barone AA, Tengan FM. HCV serotypes in Brazilian patients. *Int J Infect Dis.* 2002; 6:228-32.

C. Everett Koop Institute Dartmouth Medical Center. Hepatitis C: An epidemic for anyone, 2008.

[http://www.epidemic.org/thefacts/theEpidemic/worldPrevalence/.](http://www.epidemic.org/thefacts/theEpidemic/worldPrevalence/), acessado em 07/10/2009.

Charlton MR, Kasparova P, Weston S, Lindor K, Maor-Kendler Y, Wiesner RH, Roser CB, Batts KP. Frequency of nonalcoholic steatohepatitis as a cause of advanced liver disease. *Liver Transpl.* 2001; 7:608-14.

Charlton MR, Pockros PJ, Harrison SA. Impact of obesity on treatment of chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2006; 43:1177-86.

Chindamo MC, Soares JAS, Coelho HSM. Hepatite crônica pelo vírus C. In: Mattos AA, Dantas-Corrêa EB. *Tratado de hepatologia.* Rio de Janeiro: Ed. Rubio; 2010. p.211-27.

Chitturi S, Abeygunasekera S, Farrell GC, Holmes-Walker J, Hui JM, Fung C, Karim R, Lin R, Samarasinghe D, Liddle C, Weltman M, George J. NASH and insulin resistance: Insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance syndrome. *Hepatology.* 2002; 35:373-9.

Clouston AD, Jonsson JR, Purdie DM, Macdonald GA, Pandeya N, Shorthouse C, Powell EE. Steatosis and chronic hepatitis C; analysis of fibrosis and stellate cell activation. *J Hepatol*. 2001; 34:314-20.

Clouston AD, Powell EE, Walsh MJ, Richardson MM, Jake Demetris D, Jonsson JR. Fibrosis correlates with a ductular reaction in hepatitis C: Roles of impaired replication, progenitor cells and steatosis. *Hepatology*. 2005; 41:809-18.

Codes L, de Freitas LAR, Santos-Jesus R, Vitvitski L, Silva LK, Trepo C, Reis MG, Paraná R. Comparative study of hepatitis C virus genotype 1 and 3 in Salvador, Bahia. *Braz J Infect Dis*. 2003; 7(6):409-17.

Colloredo G, Guido M, Sonzogni A, Leandro G. Impact of liver biopsy size on histological evaluation of chronic viral hepatitis: the smaller the sample, the milder the disease. *J Hepatol*. 2003; 39:239-44.

Cotrim HP, Freitas LA, Alves E, Almeida A, May DS, Caldwell S. Effects of light-to-moderate alcohol consumption on steatosis and steatohepatitis in severely obese patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2009 Sep; 21(9):969-72.

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

Day CP, James OFW. Steatohepatitis: A tale of two 'hits'? *Gastroenterology.* 1998; 114:842-5.

De Santana NP, de Freitas LA, Lyra AC, Paraná R, Santana G, Trepo C, Lyra LG. Liver histological alterations in patients with chronic hepatitis C and normal ALT levels in the city of Salvador, Northeast-Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2005; 9(2):134-41.

Deuffic-Burban S, Poynard T, Valleron AJ. Quantification of fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C using a Markov model. *J Viral Hepat.* 2002; 9:114-22.

Dustin LB, Rice CM. Flying under the radar: the immunobiology of hepatitis C. *Annu Rev Immunol.* 2007; 25:71-99.

EASL International consensus conference on hepatitis C: Paris 26-28, February 1999. Consensus statement. *J Hepatol.* 1999; 30:956-61.

Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet.* 2005; 365:1415-28.



Falck-Ytter Y, Younossi ZM, Marchesini G, McCullough AJ. Clinical features and natural history of nonalcoholic steatosis syndromes. *Semin Liver Dis.* 2001; 21(1):17-26.

Fartoux L, Poujol-Robert A, Guéchet J, Wendum D, Poupon R, Serfaty L. Insulin resistance is a cause of steatosis and fibrosis progression in chronic hepatitis C. *Gut.* 2005; 54:1003-8.

Feldstein AE. Pathophysiology of fatty liver: Implications for treatment. *Postgraduated course AASLD.* 2007; 55-60.

Feldstein AE, Canbay A, Angulo P, Tanai M, Burgart LJ, Lindor KD, Gores GJ. Hepatocyte apoptosis and Fas expression are proeminent features of human nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology.* 2003; 125:437-43.

Freitas LAR. CC-2 Curso curto em patologia hepática. Cirrose hepática: vias etiopatogênicas e seus marcadores histológicos. Esteato-hepatites alcoólica e não alcoólica. *Congresso Brasileiro de Patologia, Natal, 2005.*

Friedenberg F, Pungpapong S, Zaeri N, Braitman LE. The impact of diabetes and obesity on liver histology in patients with hepatitis C. *Diabetes Obes Metab.* 2003; 5:150-5.

Fujie H, Yotsuyangi H, Morija K, Shintani Y, Tsutsumi T, Takayoma T, Makuuchi M, Matsuura Y, Miyamura T, Kimura S, Koike K. Steatosis and intrahepatic hepatitis C virus in chronic hepatitis. *J Med Virol*. 1999; 59:141-5.

Gayotto LCC. Biópsia hepática. In: Gayotto LCC, Alves AAF. *Doenças do fígado e vias biliares*. São Paulo: Atheneu; 2001a. Vol (1):151-64.

Gayotto LCC. Esteato-hepatite não-alcoólica. In: Gayotto LCC, Alves AAF. *Doenças do fígado e vias biliares*. São Paulo: Atheneu; 2001b. Vol (1):413-20.

Gayotto LCC, Alves VA, Cerski CT, Freitas LA e cols. Visão histórica e consenso nacional sobre a classificação das hepatites crônicas – projeto do Clube de Patologia Hepática da Sociedade Brasileira de Patologia aprovado pela Sociedade Brasileira de Hepatologia. *GED*. 2000; 19(3):137-40.

Gane E. The natural history and outcome of liver transplantation in hepatitis C virus-infected recipients. *Liver Transpl*. 2003; 9:S28-S34.

Giannini E, Ceppa P, Botta F, Fasoli A, Romagnoli P, Cresta E, Venturino V, Risso D, Celle G, Testa R. Steatosis and bile duct damage in chronic hepatitis C: distribution and relationships in a group of northern Italian patients. *Liver*. 1999; 19:432-7.

Goodman ZD. Fibrosis in chronic hepatitis C – Assessment by liver biopsy. *Postgraduated course AASLD*. 2007; 86-90.

Ground KE. Liver pathology in aircrew. *Aviat Space Environ Med*. 1982; 53:14-8.

Harrison SA, Brunt EM, Goodman ZD, Di Bisceglie AM. Diabetic hepatosclerosis. Diabetic microangiopathy of the liver. *Arch Pathol Lab Med*. 2006; 130:27-32.

Hickman IJ, Clouston AD, Macdonald GA, Purdie DM, Prins JB, Ash S, Jonsson JR, Powell EE. Effect of weight reduction on liver histology and biochemistry in patients with chronic hepatitis C. *Gut*. 2002; 51:89-94.

Hilden M, Christoffersen P, Juhl E, Dalgaard JB. Liver histology in a 'normal' population – examinations of 503 consecutive fatal traffic casualties. *Scand J Gastroenterol*. 1977; 12:593-7.

Hoofnagle JH. Course and outcome of hepatitis C. *Hepatology*. 2002; 36:Suppl 1:S21-S29.

Hoofnagle JH, Seeff LB. Peginterferon and ribavirin for chronic hepatitis C. *N Engl J Med*. 2006; 355:2444-51.

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

Hübscher SG. Role of liver biopsy in the assessment of non-alcoholic fatty liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2004; 16:1107-15.

Hui JM, Kench J, Farrell GC, Lin R, Samarasinghe D, Liddle C, Byth K, George J. Genotype-specific mechanism for hepatic steatosis in chronic hepatitis C infection. *J Gastroenterol Hepatol*. 2002; 17:873-81.

Hui JM, Sud A, Farrell GC, Bandara P, Byth K, Kench JG, McCaughan GW, George J. Insulin resistance is associated with chronic hepatitis C and virus infection fibrosis progression. *Gastroenterology*. 2003; 125:1695-704.

Hultcrantz R, Glaumann H, Lindberg G, Nilsson LH. Liver investigation in 149 asymptomatic patients with moderately elevated activities of serum aminotransferases. *Scand J Gastroenterol*. 1986; 21:109-13.

Hwang SJ, Luo JC, Chu CW, Lai CR, Lu CL, Tsay SH, Wu JC, Chang FY, Lee SD. Hepatic steatosis in chronic hepatitis C virus infection: prevalence and clinical correlation. *J Gastroenterol Hepatol*. 2001; 16:190-5.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Prevalência de déficit de peso, excesso de peso e obesidade na população com 20 ou mais anos de idade, por situação de domicílio, segundo sexo, cor ou raça. Brasil – Período 2002-2003.

[http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pdf/2002a\\_nalise/tab0607e.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pdf/2002a_nalise/tab0607e.pdf).

Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, Denk H, Desmet V, Korb G, MacSween RNM, James Phillips M, Portmann BG, Poulsen H, Scheuer PJ, Schmid M, Thaler H. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol*. 1995; 22:696-99.

Kleiner DE. The liver biopsy in chronic hepatitis C: a view from the other side of the microscope. *Semin Liver Dis*. 2005; 25(1):52-64.

Kleiner DE, Brunt EM, Natta MV, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, Ferrell LD, Liu YC, Torbenson MS, Unalp-Arida A, Yeh M, McCullough AJ, Sanyal AJ. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2005b; 41:1313-21.

Lackner C, Sruber G, Liegl B, Leibl S, Ofner P, Bankuti C, Bauer B, Stauber RE. Comparison and validation of simple noninvasive tests for prediction of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2005; 41:1376-82.

Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. *N Eng J Med.* 2001; 345:41-52.

Lonardo A, Adinolfi LE, Loria P, Carulli N, Ruggiero G, Day CP. Steatosis and hepatic virus C: Mechanisms and significance for hepatic and extrahepatic disease. *Gastroenterology.* 2004; 126:586-97.

Lonardo A, Loria P, Adinolfi LE, Carulli N, Ruggiero G. Hepatitis C and steatosis: a reappraisal. *J Viral Hepatitis.* 2006; 13:73-80.

López-Bermejo A, Botas P, Funalashi T, Delgado E, Kihara S, Ricart W, Fernández-Real JM. Adiponectin, hepatocellular dysfunction and insulin sensitivity. *Clin Endocrinol.* 2004; 60:256-63.

Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis. Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc.* 1980; 55:434-8.

Massard J, Ratziu V, Thabut D, Moussalli J, Lebray P, Benhamou Y, Poynard T. Natural history and predictors of disease severity in chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2006; 44:S19-S24.

Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology*. 1999; 116:1413-9.

McCaughan GW, George J. Fibrosis progression in chronic hepatitis C virus infection. *Gut*. 2004; 53:318-21.

Mehta SH, Brancati FL, Strathdee SA, Pankow JS, Netski D, Coresh J, Szklo M, Thomas DL. Hepatitis C virus infection and incident type 2 diabetes. *Hepatology* 2003; 38:50-56.

Mehta SH, Brancati FL, Sulkowski MS, Strathdee SA, Szklo M, Thomas DL. Prevalence of type 2 diabetes mellitus among persons with hepatitis C virus infection in the United States. *Ann Intern Med*. 2000; 133:592-9.

Mello ES, Alves VAF. Chronic Hepatitis C: Pathological Anatomy. *Braz J Infect Dis*. 2007; 11(5)Suppl.1:28-32.

Mincis M. Doença hepática alcoólica. In: Federação Brasileira de Gastroenterologia. A Gastroenterologia no Brasil. Rio de Janeiro: Revinter; 2001. p.77-92.

Ministério da Saúde. Casos confirmados de hepatite C. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1996-2006. Atualização até 30/10/2007.

[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/casos.hepatite\\_C.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/casos.hepatite_C.pdf). Acessado em 07/10/2009.

Mirandola S, Realdon S, Iqbal J, Gerotto M, Dal Pero F, Bortoletto G, Marcolongo M, Vario A, Datz C, Mahmood Hussain M, Alberti A. Liver microsomal triglyceride transfer protein is involved in hepatitis C steatosis. *Gastroenterology*. 2006; 130:1661-9.

Monto A, Alonzo J, Watson JJ, Grunfeld C, Wright TL. Steatosis in chronic hepatitis C: relative contributions of obesity, diabetes mellitus and alcohol. *Hepatology*. 2002; 36:729-36.

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

Mulhall BP, Ong JP, Younossi ZM. Non-alcoholic fatty liver disease: An overview. *J Gastroenterol Hepatol*. 2002; 17:1136-43.

National High Blood Pressure Education Program (NHBPEP) Coordinating Committee. The seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. The JNC 7 Report. *JAMA*. 2003; 289:2560-72.



National Institutes of Health Consensus Development Conference (NIHCDC) Statement: management of hepatitis C: 2002- June 10-12,2002. *Hepatology*. 2002; 36:Suppl 1:S3-S20.

Negro F, Sanyal AJ. Hepatitis C virus, steatosis and lipid abnormalities: clinical and pathogenic data. *Liver Int*. 2009; 29(s2):26-37.

Neumann AU, Lam NP, Dahari H *et al.*. Hepatitis C viral dynamics in vivo and the viral efficacy of interferon-alpha therapy. *Science*. 1998; 282:103-7.

Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD single topic conference. *Hepatology*. 2003; 37:1202-19.

Nomura H, Kashiwagi S, Hayashi J, Kajiyama W, Tani S, Goto M. Prevalence of fatty liver in a general population of Okinawa, Japan. *Jpn J Med*. 1988; 27:142-9.

Okanoue T, Makiyama A, Nakayama M, Sumida Y, Mitsuyoshi H, Nakajima T, Yasui K, Minami M, Itoh Y. A follow-up study to determine the value of liver biopsy and need for antiviral therapy for hepatitis C virus carriers with persistently normal serum aminotransferase. *J Hepatol*. 2005; 43(4):599-605.

Okuda M, Li K, Beard MR, Showalter LA, Scholle F, Lemon SM, Weinman SA. Mitochondrial injury, oxidative stress, and antioxidant gene expression are induced by hepatitis C virus core protein. *Gastroenterology*. 2002; 122:366-75.

Oliveira AC. *Resistência insulínica na hepatite crônica pelo vírus C, genótipo não 3, está associada com marcadores séricos de estresse oxidativo, independente da presença de esteatose*. [tese]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina; 2007.

Oliveira CP, Mello ES, Alves VAF, Saviero SM, Strauss E. Changes in histological criteria lead to different prevalences of nonalcoholic steatohepatitis in severe obesity. *Ann Hepatol*. 2007; 6(4):255-61.

Ong JP, Younossi ZM, Speer C, Olano A, Gramlich T, Boparai N. Chronic hepatitis C and superimposed nonalcoholic fatty liver disease. *Liver*. 2001; 21:266-71.

Özyilkan E, Erbas T, Simsek H, Telatar F, Kayhan B, Telatar H. Increased prevalence of hepatitis C virus antibodies in patients with diabetes mellitus. *J Intern Med*. 1994; 235:283-4.

Parise ER, Salgado ALFA, Secaf R, Cerri L, Cerri G. Prevalência de esteatose hepática em ultrassonografia de abdome. *GED*. 2003; 22(6):235-7.

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

Pereira HMV, Cavalheiro NP, Tengan FM, Melo CE, Mello ES, Barone AA. Patients with chronic hepatitis C and normal transaminases. *Rev Inst Med Trop S Paulo.* 2005; 47(5):247-51.

Pereira JE, Cotrim HP, de Freitas LAR, Paraná R, Portugal M, Lyra LG. Esteato-hepatite relacionada ao vírus da hepatite C: perfil clínico-histológico. *J Bras Patol Med Lab.* 2006; 42(2):67-74.

Persico M, Perrotta S, Persico E, Terracciano L, Folgori A, Ruggeri L, Nicosia A, Vecchione R, Mura VL, Masarone M, Torella R. Hepatitis C virus carriers with persistently normal ALT levels: biological peculiarities and update of the natural history of liver disease at 10 years. *J Viral Hepat.* 2006 May; 13(5):290-6.

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

Petit JM, Bour JB, Galland-Jos C, Minello A, Verges B, Giuguet M, Brun JM, Hillon P. Risk factors for diabetes mellitus and early insulin resistance in chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2001; 35:279-83.

Poonawala A, Nair SP, Thuluvath PJ. Prevalence of obesity and diabetes in patients with cryptogenic cirrhosis: a case-control study. *Hepatology.* 2000; 32:689-92

Poustchi H, Negro F, Hui J, Cua IHY, Rubbia-Brandt L, Kench JG, George J. Insulin resistance and response to therapy in patients infected with chronic hepatitis C virus genotypes 2 and 3. *J Hepatol.* 2008; 48:28-34.

Poynard T, Bedossa P, Opolon P, for the OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR and DOSVIRC Groups. National history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet.* 1997; 349:825-32.

Poynard T, Ratziu V, McHutchison J, Manns M, Goodman Z, Zeuzem S, Younossi Z, Albrecht J. Effect of treatment with peginterferon or interferon alfa-2b and ribavirin on steatosis in patients infected with hepatitis C. *Hepatology.* 2003; 38:75-85.

Prachayakul V, Jarasjareunwittaya P, Pongprasopchai S, Leelakusolvong S, Manasatiti S, Kachinthon U, Boonyapisit S, Udompunthurak S, Athisuk K, Tanwandee T. Comparison of clinical, biochemical, virological and

histopathological characteristics between chronic hepatitis C infected patients with respect to genotype 1 and 3. *Thai J Gastroenterol.* 2005; 6(2):72-80.

Propst A, Propst T, Judmaier G, Vogel W. Prognosis in nonalcoholic steatohepatitis [Letter]. *Gastroenterology.* 1995; 108:1607.

Ramesh S, Sanyal AJ. Hepatitis C and nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis.* 2004; 24(4):399-413.

Ribeiro MFGS, Gayotto LCC, Chamone DAF, Strauss E. Alcoholic intake predisposes to more interface hepatitis in chronic hepatitis C. *Ann Hepatol.* 2005; 4(3):176-83.

Richardson M. *Investigation on the role of hepatic progenitor cells and the ductular reaction in chronic liver injury in adults, children and post-transplantation.* [PhD thesis]. Queensland: School of Medicine, The University of Queensland; 2008.

Romero-Gómez M, Vilorio MDM, Andrade RJ, Salmerón J, Diago M, Fernández-Rodríguez CM, Corpas R, Cruz M, Grande L, Vázquez L, Muñoz-de-Rueda P, López-Serrano P, Gila A, Gutiérrez ML, Pérez C, Ruiz-Extremera A, Suarez E, Castillo J. Insulin resistance impairs sustained response rate to peginterferon plus ribavirin in chronic hepatitis C patients. *Gastroenterology.* 2005; 128:636-41.

Rubbia-Brandt L, Fabris P, Paganin S, Leandro G, Male P-J, Giostra E, Carlotto A, Bozzola L, Smedile A, Negro F. Steatosis affects chronic hepatitis C progression in a genotype specific way. *Gut*. 2004; 53:406-12.

Rubbia-Brandt L, Leandro G, Spahr L, Giostra E, Quadri R, Malé PJ, Negro F. Liver steatosis in chronic hepatitis C: a morphological sign suggesting infection with HCV genotype 3. *Histopathology*. 2001; 39:119-24.

Sanai FM, Benmoussa A, Al-Hussaini H, Ashraf S, Alhafi O, Abdo AA, Alameri HF, Akbar HO, Bzeizi KI. Is serum alanine transaminase level a reliable marker of histological disease in chronic hepatitis C infection? *Liver Int*. 2008; 28(7):1011-8.

Sanyal AJ, Contos MJ, Sterling RK, Luketic VA, Shiffman ML, Stravitz T, Scott Mills A. Nonalcoholic fatty liver disease in patients with hepatitis C is associated with features of the metabolic syndrome. *Am J Gastroenterol*. 2003; 98:2064-71.

Saracco G, Sostegni R, Ghisetti V, Rocca G, Cariti G, Andreoni M, Tabone M, Roffi L, Calleri G, Ballaré M, Minoli G, Sartori M, Tappero GF, Traverso A, Poggio A, Orani A, Maggi G, Rizzetto M. Hepatitis C virus genotypes in a non-cirrhotic Italian population with chronic hepatitis C: correlation with clinical, virological and histological parameters: Results of a prospective multicentre study. *J Viral Hepat*. 2000; 7(2):124-9.

Serfaty L, Andreani T, Giral P, Carbonell N, Chazouillères O, Poupon R. Hepatitis C virus induced hypobetalipoproteinemia: a possible mechanism for steatosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2001; 34:428-34.

Serfaty L, Capeau J. Hepatitis C, insulin resistance and diabetes: clinical and pathogenic data. *Liver Int.* 2009; 29(s2):13-25.

Serfaty L, Poujol-Robert A, Carbonell N, Chazouillères O, Poupon RE, Poupon R. Effect of the interaction between steatosis and alcohol intake on liver fibrosis progression in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol.* 2002; 97:1807-12.

Sharma P, Balan V, Hernandez J, Rosati M, Williams J, Rodriguez-Luna H, Schwartz J, Harrison E, Anderson M, Byrne T, Vargas HE, Douglas DD, Rakela J. Hepatic steatosis in hepatitis C virus genotype 3 infection: does it correlate with body mass index, fibrosis, and HCV risk factors? *Dig Dis Sci.* 2004; 49(1):25-9.

Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, Tsutsumi T, Tsukamoto K, Kimura S, Moriya K, Koike K. Hepatitis C virus infection and diabetes: direct involvement of the virus in the development of insulin resistance. *Gastroenterology.* 2004; 126:840-8.

Siagris D, Christofidou M, Theocharis GJ, Pagoni N, Papadimitriou C, Lekkou A, Thomopoulos K, Starakis I, Tsamandas AC, Labropoulou-Karatra C. Serum lipids pattern in chronic hepatitis C: histological and virological correlations. *J Viral Hepat.* 2006; 13:56-61.

Silva GF, Nishimura NF, Coelho KIR, Soares EC. Grading and staging chronic hepatitis C and its relation to genotypes and epidemiological factors in Brazilian blood donors. *Braz J Infect Dis.* 2005; 9(2):409-17.

Simmonds P *et al.* Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology.* 2005; 42(4):963-73.

Sociedade Brasileira de Hepatologia. Consenso sobre condutas nas hepatites virais. Hepatite C. *GED.* 2005; 24 (sup1): S1-S16.

Strauss E. Doença hepática alcoólica – Diagnóstico e apresentação clínica. In Gayotto LCC, Alves AAF. *Doenças do fígado e vias biliares.* São Paulo: Atheneu; 2001. Vol(2):689-98.

Teli MR, James OFW, Burt AD, Bennett MK, Day CP. The natural history of nonalcoholic fatty liver: a follow-up study. *Hepatology.* 1995; 22:1714-9.



The World Health Organization (WHO). Media Centre Fact Sheets 164, revised October 2008. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>., acessado em 7/10/2009.

Thimme R *et al.* A target on the move: innate and adaptive immune escape strategies of hepatitis C virus. *Antiviral Res.* 2006; 69(3):129-41.

Tillmann HL, Manns MP, Lenhard Rudolph K. Merging models of hepatitis C virus pathogenesis. *Semin Liver Dis.* 2005; 25(1):84-92.

Vallet-Pichard A, Pol S. Natural history and predictors of severity of chronic hepatitis C virus (HCV) and human immunodeficiency virus (HIV) co-infection. *J Hepatol.* 2006; 44:S28-S34.

Vieira MSVB, Takei K, Yamaguti DCC, Guz B, Strauss E. Use of AST platelet ratio index (APRI Score) as an alternative to liver biopsy for treatment indication in chronic hepatitis C. *Ann Hepatol.* 2009; 8(1):26-31.

Vigano AG, Pavan MH, Tozzo R, Gonçalves ESL, Feltrin A, Fais VC, Lazarini MSK, Gonçalves NSL, Gonçalves Jr FL. Comparative study of patients with chronic hepatitis C virus infection due to genotypes 1 and 3 referred for treatment in southeast Brazil. *BMC Infect Dis.* 2008; 8:164-8.

Viso ATR. Pathogenesis of hepatitis C – HCV consensus 2007. *Braz J Infect Dis.* 2007; 11(5)Suppl.1:14-9.

Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, Lok ASF. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2003; 38:518-26.

Wang CS, Wang ST, Yao WJ, Chang TT, Chou P. Community based study of hepatitis C virus infection and type 2 diabetes: An association affected by age and hepatitis severity status. *Am J Epidemiol.* 2003; 158:1154-60.

Westin J, Nordlinder H, Lagging M, Norkrans G, Wejstal R. Steatosis accelerates fibrosis development over time in hepatitis C virus genotype 3 infected patients. *J Hepatol.* 2002; 37:837-42.

Willett WC, Dietz WH, Colditz GA. Guidelines of healthy weight. *N Eng J Med.* 1999; 341:427-34.

Younossi ZM. The effect of steatosis on other liver diseases. *Postgraduated course AASLD.* 2007; 61-7.

Younossi ZM, McCullough AJ. Metabolic syndrome, non-alcoholic fatty liver disease and hepatitis C virus: impact on disease progression and treatment response. *Liver Int.* 2009; 29(s2):3-12.

Younossi ZM, McCullough AJ, Ong JP, Barnes DS, Post A, Tariel A, Bringman D, Martin LM, Assmann J, Granlich T, Mullen KD, Oshea R, Carey WD, Fergunson R. Obesity and non-alcoholic fatty liver disease in chronic hepatitis C. *J Clin Gastroenterol.* 2004; 38:705-9.

Zatloukal K, French SW, Stumptner C, Strnad P, Harada M, Toivola DM, Cadrin M, Omar MB. From Mallory to Mallory-Denk bodies: What, how and why? *Exp Cell Res.* 2007; 313:2033-49.

Zerky A, McHutchison JG, Diehl AM. Insulin resistance and steatosis in hepatitis C virus infection. *Gut.* 2005; 54:903-6.

# 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](#)