

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Faculdade de Medicina

Renata Eliane de Ávila

**ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE
ÁCIDO HIALURÔNICO E COLÁGENO IV
E O GRAU DE FIBROSE HEPÁTICA
EM PORTADORES DO VÍRUS DA HEPATITE C
E DOENÇA RENAL CRÔNICA EM HEMODIÁLISE**

Belo Horizonte-Minas Gerais

Brasil

2007

Renata Eliane de Ávila

**ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE
ÁCIDO HIALURÔNICO E COLÁGENO IV
E O GRAU DE FIBROSE HEPÁTICA
EM PORTADORES DO VÍRUS DA HEPATITE C
E DOENÇA RENAL CRÔNICA EM HEMODIÁLISE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais para obtenção de título de Mestre em Medicina

Área de concentração: Ciências da Saúde, Infectologia e Medicina Tropical.

Orientador: Prof. José Roberto Lambertucci

Co-orientadores: Dr. Ricardo Andrade Carmo
Prof. Carlos Maurício Antunes

Belo Horizonte
Faculdade de Medicina - UFMG

2007

Ávila, Renata Eliane de.

A958a Associação entre os níveis plasmáticos de ácido hialurônico e colágeno IV e o grau de fibrose hepática em portadores do vírus da hepatite c e doença renal crônica em hemodiálise [manuscrito]. /

Renata Eliane de Ávila. - - Belo Horizonte:

89f.: il.

Orientador: José Roberto Lambertucci.

Área de concentração: Infectologia e Medicina Tropical.

Linha de pesquisa: Hepatites virais.

Dissertação (mestrado) : Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Hepatite C. 2. Ácido Hialurônico. 3. Colágeno. 4. Fibrose Hepática. 5. Doença renal crônica. 6. Hemodiálise. 7. Dissertações acadêmicas.

I. Lambertucci, José Roberto. II. Universidade Federal de Minas

AGRADECIMENTOS

Ao professor José Roberto Lambertucci, mestre, amigo e referencial, pelas lições de cada dia e apoio constante.

Ao Dr. Ricardo Andrade Carmo, pela amizade e ensinamentos, fundamentais para a construção deste trabalho.

À professora Kátia de Paula Farah, pelo convite inicial e estímulo.

Ao professor Carlos Maurício Antunes, pela presença e intervenções oportunas.

Ao professor Antônio Lúcio Teixeira, pela contribuição na realização das dosagens dos marcadores estudados.

Ao acadêmico Lucas Viana Coimbra, pelo apoio na coleta de dados e ajuda na realização do trabalho.

À professora Arminda Lúcia Siqueira, Jacqueline Tibúrcio e Mery Abreu, pelo auxílio na análise estatística.

Ao colega Wilson Campos, pela colaboração na realização das biópsias hepáticas.

Ao Núcleo de Pesquisa e Apoio Diagnóstico NUPAD-UFMG, pelo apoio à pesquisa.

À Silvana Romano, pelo carisma e ajuda nas atividades diárias no laboratório.

Aos funcionários do CTR-Orestes Diniz e do Centro de Diálise do Hospital das Clínicas, pela ajuda na coleta de amostras de sangue.

À amiga Carolina Marinho Coimbra, pela disponibilidade e auxílio na realização das dosagens dos marcadores estudados.

Às amigas Izabela Voieta e Luciana Cristina dos Santos Silva, pelo companheirismo e cumplicidade que tornam mais alegre a nossa caminhada diária.

À minha irmã Fernanda Ávila, pela grande amizade e apoio.

Aos meus pais, que souberam entender os momentos de ausência e a quem sou grata pela educação que me trouxe até aqui.

“A vida pode ser comparada a um bordado que no início vemos pelo lado direito e, no final, pelo avesso. O avesso não é tão bonito, mas é esclarecedor, pois deixa ver como são dados os pontos.”

Schopenhauer

RESUMO

Não há estudos controlados que avaliem a associação dos níveis de ácido hialurônico (AH) e do colágeno IV (C-IV) com o grau de fibrose hepática em hemodialisados com hepatite C crônica. Buscou-se, neste estudo, avaliar o uso dessas substâncias como marcadores não-invasivos de fibrose hepática nesses pacientes. Estudaram-se, no período de maio de 2000 a setembro de 2007, 76 pacientes acompanhados no Centro de Treinamento e Referência em Doenças Infecciosas e Parasitárias/Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte/Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e no Centro de Diálise do Hospital das Clínicas da UFMG, distribuídos em três grupos: grupo 1: portadores de doença renal crônica (DRC) em hemodiálise e com hepatite C crônica (DRC/hepatite C, n=23); grupo 2: portadores de hepatite C crônica sem DRC (hepatite C, n=29); grupo 3: portadores de DRC em hemodiálise, sem hepatite C (DRC, n=24). Dados sociodemográficos, clínicos e laboratoriais de todos os pacientes foram coletados. Nos três grupos realizou-se a dosagem plasmática de AH e C-IV, pela técnica de ensaio-imunoenzimático (ELISA). Nos grupos 1 e 2, os pacientes haviam sido submetidos à biópsia hepática e essas dosagens foram relacionadas ao grau de fibrose hepática na histologia. O estudo anatomopatológico foi feito no Serviço de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da UFMG. Utilizou-se a classificação histológica METAVIR. Estratificaram-se os graus de fibrose em dois grupos distintos: METAVIR < F2 (ausente ou leve) e \geq F2 (significativa). Os grupos foram semelhantes em relação a: sexo, cor, escolaridade, história prévia de hemotransfusão e uso de drogas ilícitas; com diferença apenas em relação à idade, que foi menor no grupo 3 (DRC). O AH foi bom marcador de fibrose hepática nos grupos 1 (DRC/hepatite C) e 2 (hepatite C). Os mais altos níveis de AH se associaram à fibrose hepática METAVIR \geq F2 em ambos os grupos. No grupo 1, o ponto de corte do AH para detectar fibrose METAVIR \geq F2 foi de 984,8 ng/mL, com sensibilidade e especificidade de 83 e 70%, respectivamente. Para o grupo 2, o AH acima de 222,3 ng/mL identificou fibrose METAVIR \geq F2 com sensibilidade e especificidade de 70 e 94%, respectivamente. Os níveis de C-IV não se associaram à fibrose hepática. A idade, o sexo e o tempo de hemodiálise se associaram significativamente aos níveis de AH nos portadores de DRC. Concluiu-se que o ácido hialurônico foi bom marcador de fibrose hepática nos pacientes com DRC e hepatite C crônica. Ele detectou fibrose significativa (METAVIR \geq F2) e, portanto, pode ser útil como método não-invasivo na indicação do tratamento desses pacientes.

Palavras-chave: Ácido hialurônico. Colágeno IV. Fibrose hepática. Doença renal crônica. Hepatite C.

ABSTRACT

The importance of hyaluronic acid (HA) and collagen IV (C-IV) in the evaluation of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C on haemodialysis has yet to be defined. Herein we describe a study devised to fill out this gap. Seventy six subjects attending the Centro de Treinamento e Referência em Doenças Infecciosas e Parasitárias/Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte/ Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) and the Centro de Diálise do Hospital das Clínicas da UFMG, Brazil, from May 2000 to September 2007 have been selected for this study. Patients were categorized into three groups: Group 1: patients with hepatitis C and chronic renal disease (CRD) undergoing haemodialysis (CRD/ hepatitis C, n = 23); Group 2: patients with hepatitis C, without CRD (hepatitis C, n = 29); Group 3: patients with chronic renal disease (CRD) undergoing haemodialysis without hepatitis C (CRD, n = 24). A protocol with socio-demographic, clinical and laboratory data was completed by the subjects enrolled in this study. Plasma levels of HA and C-IV were measured by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using a commercial kit. In Groups 1 (CRD/ hepatitis C) and 2 (hepatitis C) the HA and C-IV levels were correlated with the histological data of the fragments obtained by liver biopsy. Histological analyses were performed by the Serviço de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da UFMG. METAVIR group scoring system was used for the classification of the histological findings. Fibrosis was categorized into two stages: METAVIR < F2 (absent or mild) and METAVIR ≥ F2 (significant). The three groups were similar regarding gender, race, schooling, blood transfusion history and the use of illicit drugs. In Group 3, the mean age was lower when compared to other groups. HA plasma level was a good marker of liver fibrosis in Groups 1 and 2. Higher plasma levels were significantly correlated to liver fibrosis METAVIR ≥ F2. In group 1, the HA cutoff to discriminate significant fibrosis was 984, 8 ng/mL, with sensitivity and specificity of 83% and 70%, respectively. In Group 2, the HA cutoff was 222, 3 ng/mL, with sensitivity and specificity of 70% and 94%, respectively. No correlation was observed in C-IV plasma level and the degree of liver fibrosis. Age, gender and duration of haemodialysis were significantly correlated to HA serum levels in patients with CRD. Summing up, HA was a good marker of liver fibrosis in patients with hepatitis C on haemodialysis and, thence, may help the physician to decide the best moment to treat hepatitis C in patients with chronic renal disease.

Keys Words: Hyaluronic acid. Collagen IV. Liver fibrosis. Chronic renal disease. Hepatitis C.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	Ácido acetilsalicílico
AH	Ácido hialurônico
AINES	Antiinflamatórios não-esteróides
ALT	Alamina-aminotransferase
ANOVA	Análise de variância
AntiLKM	Anticorpo contra músculo, fígado e rim
AntiVHC	Anticorpos contra o vírus da hepatite C
AST	Aspartato-aminotransferase
CDC	<i>Centers for Diseases Control and Prevention</i>
CEH	Células estreladas hepáticas
C-I	Colágeno do tipo I
C-IV	Colágeno IV
CTR/DIP	Centro de Treinamento e Referência em Doenças Infecciosas Parasitárias
DP	Desvio-padrão
DRC	Doença renal crônica
EGF	Fator de crescimento epidérmico
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
EPF	Exame parasitológico de fezes
EPO	Eritropoetina
FAN	Fator antinuclear
GGT	Gama-glutamil-transpeptidase
HBsAg	Antígeno de superfície do vírus da hepatite B
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
IL	Interleucina
INF	Interferon
Log	Logaritmo
MEC	Matriz extracelular
MMP	Metaloproteinase
MS	Ministério da Saúde

NUPAD	Núcleo de Pesquisa em Apoio Diagnóstico
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
PIIIP	Pró-colágeno tipo III
PTH	Paratormônio
RNA	Ácido ribonucléico
ROC	<i>Receiver operating characteristic</i>
ROS	Espécies reativas de oxigênio
RVS	Resposta virológica sustentada
SAME	Serviço de Arquivo Médico e Estatística
SPSS	<i>Statistical Package for Social Sciences</i>
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TGF- β	Fator transformador do crescimento β
Th1	Linfócitos T auxiliares tipo 1
TIMP	Inibidor tecidual da metaloproteinase
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VHB	Vírus da hepatite B
VHC	Vírus da hepatite C
VIH	Vírus da imunodeficiência humana
VPN	Valor preditivo negativo
VPP	Valor preditivo positivo
WHO	<i>World Health Organization</i>
YKL-40	Glicoproteína presente na cartilagem humana

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figuras

Figura 1 - Seleção dos pacientes dos grupos 1 e 2.....	40
Figura 2 - Seleção dos pacientes do grupo 3.....	41
Figura 3 - Lâmina de biópsia hepática ilustrando a siderose hepatocitária e Kupfferiana.....	88
Figura 4 - Lâmina de biópsia hepática, ilustrando fibrose em espaço periportal e siderose.....	88

Gráficos

Gráfico 1-Classificação METAVIR da fibrose hepática nos grupos 1 (DRC/hepatite C) e 2 (hepatite C).....	52
Gráfico 2 - Classificação METAVIR da atividade inflamatória nos grupos 1 (DRC/hepatite C) e 2 (hepatite C).....	53
Gráfico 3 - Curva ROC para ácido hialurônico como preditor da ocorrência de fibrose, entre pacientes do grupo 1 (DRC/hepatite C).....	58
Gráfico 4 - Curva ROC para ácido hialurônico como preditor da presença de fibrose, entre os pacientes do grupo 2 (hepatite C sem DRC).....	59
Gráfico 5 - Dispersão entre o log do ácido hialurônico e o paratormônio (PTH U/ml) nos pacientes do grupo 1 (DRC/hepatite C) com METAVIR F2.....	62

Quadros

Quadro 1 - Classificação histológica de fibrose hepática: modelo de Ishak.....	26
Quadro 2 - Classificação histológica da fibrose hepática: modelo METAVIR.....	26
Quadro 3 - Classificação histopatológica da infecção pelo VHC segundo os critérios estabelecidos pelo METAVIR.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição e frequência das características sociodemográficas e epidemiológicas dos grupos 1 (DRC/hepatite C), 2 (hepatite C) e 3 (DRC).....	48
Tabela 2 - Características clínico-laboratoriais dos pacientes com DRC dos grupos 1 e (DRC/hepatite C) e 3 (DRC).....	49
Tabela 3 - Características laboratoriais dos grupos 1 (DRC/hepatite C), 2 (hepatite C) e 3 (DRC).....	58
Tabela 4 - Comparação entre os grupos 1 (DRC/hepatite C), 2 (hepatite C) e 3 (DRC), quanto aos níveis de ácido hialurônico e colágeno IV.....	54
Tabela 5 - Resultados da ANOVA para comparação entre os grupos DRC/hepatite C, hepatite C e DRC, quanto aos níveis de ácido hialurônico e colágeno IV, após transformação logarítmica.....	54
Tabela 6 - Resultados do teste de comparações múltiplas (Tukey) entre os três grupos, para os níveis de ácido hialurônico.....	55
Tabela 7 - Análise da associação das variáveis epidemiológicas e laboratoriais e a presença de fibrose para grupo 1 (DRC/hepatite C).....	56
Tabela 8 - Análise da associação das variáveis epidemiológicas e laboratoriais e a presença de fibrose no grupo 2 (hepatite C).....	57
Tabela 9 - Correlação entre log ácido hialurônico, idade, tempo de hemodiálise, paratormônio (PTH) e classificação histológica METAVIR no grupo 1 (DRC/hepatite C).....	60
Tabela 10 - Modelos de regressão linear, para avaliar fatores associados ao log ácido hialurônico, utilizando como co-variáveis os níveis de METAVIR no grupo 1 (DRC/hepatite C).....	61
Tabela 11 - Modelos de regressão linear ajustados, para avaliar fatores associados aos níveis de ácido hialurônico utilizando como co-variável METAVIR categorizado (\geq F2) no grupo 1 (DRC/hepatite C).....	61
Tabela 12 - Correlação entre log ácido hialurônico e idade, tempo de hemodiálise e o paratormônio (PTH), no grupo 3 (DRC).....	63
Tabela 13 - Modelos de regressão linear ajustados para log AH, grupo 3 (DRC).....	63
Tabela 14 - Correlação entre tempo de hemodiálise e o paratormônio (PTH) nos	

grupos 1 (DRC/hepatite C) e 2 (DRC).....	64
Tabela 15 - Parâmetro para determinar o melhor ponto de corte do AH, de acordo com a maior sensibilidade e especificidade, no grupo 1 (DRC/hepatite C).....	89
Tabela 16 - Parâmetro para determinar o melhor ponto de corte do AH, de acordo com a maior sensibilidade e especificidade, no grupo 2 (hepatite C).....	90

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1 Aspectos gerais da hepatite C.....	18
2.2 Hepatite C em portadores de doença renal crônica em hemodiálise.....	21
2.3 Fibrogênese na hepatite C crônica.....	25
2.4 Biópsia hepática na avaliação da fibrose na hepatite C.....	25
2.5 Marcadores não-invasivos de fibrose hepática na hepatite C.....	29
2.5.1 Marcadores complexos ou diretos.....	30
2.5.1.1 Ácido hialurônico.....	30
2.5.1.2 Colágeno IV.....	33
3 OBJETIVOS.....	36
3.1 Objetivo geral.....	36
3.2 Objetivos específicos.....	36
4 PACIENTES E MÉTODOS.....	37
4.1 Desenho do estudo.....	37
4.2 Pacientes.....	37
4.2.1 Critérios de inclusão para os grupos 1 e 2.....	38
4.2.2 Critério de exclusão para os grupos 1 e 2.....	38
4.2.3 Critérios de inclusão para o grupo 3.....	38
4.3 Métodos.....	41
4.3.1 Biópsia hepática.....	41
4.3.2 Avaliação histológica.....	42
4.3.3 Coleta das amostras de sangue.....	43
4.3.4 Dosagem de ácido hialurônico e colágeno IV.....	43
4.3.4.1 Acido hialurônico.....	43
4.3.4.2 Colágeno IV.....	43
4.4 Variáveis estudadas.....	44
4.5 Análise estatística.....	45

4.5.1	Análise dos níveis de ácido hialurônico associados à fibrose.....	46
4.5.1.1	Análise dos fatores associados aos níveis do ácido hialurônico.....	47
4.6	Considerações éticas.....	47
5	RESULTADOS.....	48
5.1	Características sociodemográficas e epidemiológicas dos grupos 1, 2 e 3.....	48
5.2	Características relacionadas à doença renal crônica, nos grupos 1 e 3.....	49
5.3	Características clínicas dos grupos 1 (DRC/hepatite C) e 2 (DRC).....	50
5.4	Características laboratoriais dos grupos 1 (DRC/hepatite C), 2 (hepatite C) e 3 (DRC).....	50
5.5	Características ultra-sonográficas dos grupos 1 (DRC/hepatite C) e 2 (hepatiteC).	51
5.6	Complicações da biópsia hepática nos grupos 1 (DRC/hepatite C) e 2 (hepatite C)	51
5.7	Características histológicas dos grupos (DRC/hepatite C) e 2 (hepatite).....	51
5.8	Análise dos níveis plasmáticos de ácido hialurônico e colágeno IV.....	53
5.9	Análise das variáveis associadas à presença de fibrose nos grupos 1 (DRC/hepatite C) e 2 (hepatite C).....	55
5.9.1	Análise do grupo 1 (DRC/hepatite C).....	55
5.9.2	Análise do grupo 2.....	56
5.9.3	Análise dos níveis de ácido hialurônico associados à fibrose (Curva ROC).....	57
5.9.3.1	Análise do grupo 1.....	57
5.9.3.2	Análise do grupo 2.....	59
5.9.4	Análise dos fatores associados aos níveis do ácido hialurônico.....	60
5.9.4.1	Análise do grupo 1 (DRC/hepatite C).....	60
5.9.4.2	Análise do grupo 3 (DRC).....	62
6	DISCUSSÃO.....	65
7	CONCLUSÕES.....	69
8	PROPOSIÇÕES.....	70
	REFERÊNCIAS.....	71
	ANEXO E APÊNDICES.....	80

1 INTRODUÇÃO

A hepatite C apresenta alta prevalência entre os portadores de doença renal crônica (DRC) em hemodiálise, sendo a principal causa de doença hepática nesses pacientes (FABRIZI; MARTIN; BRUNNAPRADIST, 2004; MEMON; MEMON, 2002). A transmissão nosocomial e o maior número de hemotransfusões são os fatores que elevam o risco da infecção nessa população (POL *et al.*, 2002).

A história natural, o diagnóstico e o tratamento da hepatite C nos pacientes hemodialisados apresentam aspectos peculiares que os diferenciam da população geral com hepatite C. A menor sobrevida, devido às complicações próprias da DRC, dificulta a avaliação da história natural da hepatite C nesses pacientes.

A avaliação do comprometimento hepático nesses indivíduos é prejudicada por uma série de fatores, entre eles os níveis mais baixos das transaminases, que comprometem a suspeição da atividade inflamatória hepática, e a dificuldade de realização de biópsia hepática, pelo risco mais alto de complicações hemorrágicas. Estudo recente realizado por De Paula Farah (2004) mostrou alto índice de complicações (13,2%) da biópsia hepática nos portadores de hepatite C com DRC.

Os pacientes com hepatite C submetidos ao transplante renal apresentam risco mais alto de progressão da doença hepática, devido à terapia imunossupressora, e mais chance de perda do enxerto. Portanto, eles devem ser tratados, idealmente, antes do transplante (ROSTAING *et al.*, 1996; ROTH *et al.*, 2002). O estadiamento do grau de fibrose hepática é o principal critério para a indicação do tratamento da hepatite C e baseia-se nos achados da biópsia hepática. Entretanto, com as limitações e complicações deste método, sobretudo nos portadores de DRC, tornam-se necessárias técnicas não-invasivas para a avaliação do dano hepático e indicação do tratamento nesses pacientes.

O aumento progressivo no conhecimento da fisiopatologia da formação da fibrose hepática propiciou a identificação de numerosas substâncias encontradas na deposição, remodelação e degradação da matriz extracelular (MEC), o que tem aumentado o interesse na busca de marcadores diretos e não-invasivos de fibrose hepática. Diversos marcadores estão

envolvidos no metabolismo da MEC e seus níveis séricos podem refletir o grau de fibrose hepática (KELLER; AFDHAL, 2005). Na hepatite C em pacientes sem DRC, vários desses marcadores já foram avaliados e, entre eles, a dosagem elevada de ácido hialurônico (AH) e o colágeno IV (C-IV) mostraram boa relação com fibrose hepática histologicamente identificada (ENGSTRÖM-LAURENT; LOOF, 1985; GUÉCHOT *et al.*, 1995; HALFON *et al.*, 2005; IUSHCHUK *et al.*, 2005; McHUTCHISON *et al.*, 2000; MURAWAKI *et al.*, 2001; NINOMIYA *et al.*, 1998; OLIVEIRA *et al.*, 2001; PLEVRIS; HAYDON; SIMPSON, 2000; QIU *et al.*, 2004; UENO *et al.*, 1992; WONG; HUGHES; TRULL, 1998).

Nos pacientes com hepatite C em hemodiálise faltam estudos para a validação desses marcadores, sobretudo por meio de comparação histológica. O objetivo deste estudo, portanto, é avaliar se nessa população os níveis destes dois marcadores, AH e C-IV, se relacionam com os achados de fibrose na biópsia hepática. A correlação significativa entre seus níveis e a histologia hepática poderá contribuir para o estadiamento não-invasivo da hepatite C, com benefícios futuros para os portadores de DRC e demais grupos em que a biópsia hepática apresenta riscos mais altos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Aspectos gerais da hepatite C

A hepatite C crônica constitui a principal causa atual de morbimortalidade relacionada à doença hepática no mundo. As altas porcentagens de cronicidade da doença, seu potencial evolutivo para cirrose e hepatocarcinoma, assim como o fato de ser a mais freqüente etiologia diagnosticada em casos de transplante hepático fazem com que constitua grave problema de saúde pública (STRAUSS, 2001).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima a infecção em cerca de 180 milhões de pessoas, aproximadamente 3% da população mundial, sendo 130 milhões portadores crônicos. No Brasil, é preconizada pela OMS a prevalência média de 1,5%. Calcula-se ainda que 3 a 4 milhões de pessoas são infectadas no mundo a cada ano. A hepatite C é responsável por 50 a 76% dos casos de câncer hepático e por dois terços dos transplantes hepáticos nos países desenvolvidos (*World Health Organization-WHO*, 2000).

O vírus da hepatite C (VHC), identificado em 1989 (CHOO *et al.*, 1989), é envelopado, com genoma constituído por fita simples de ácido ribonucléico (RNA), pertencente à família *Flaviviridae*, gênero *Hepacivírus*. Foram identificados seis genótipos diferentes, com implicações clínicas e terapêuticas, sendo o genótipo 1 o mais freqüente. No Brasil, estudo que avaliou 1.688 amostras mostrou a predominância do genótipo 1 (64,9%), seguido do genótipo 3 (30,2%) e 2 (4,6%) - (CAMPIOTTO *et al.*, 2005). O genótipo 4 tem sido raramente descrito no país (BASSIT *et al.*, 1999, CARMO *et al.*, 2002).

A transmissão viral ocorre principalmente através da via sangüínea. Após a identificação do vírus, verificou-se que ele era responsável por cerca de 90% das hepatites pós-transfusionais não-A-não-B (TREMOLADA *et al.*, 2002). A partir de 1993, quando a sorologia para o VHC passou a ser realizada nos hemocentros, houve declínio progressivo da transmissão transfusional. Ainda assim, verifica-se elevada prevalência da infecção em grupos específicos de pacientes politransfundidos, como portadores de hemofilia e insuficiência renal crônica (MAUSER-BUNSCHOTEN; BRESTERS; VAN DRIMMELEN, 1995;

MEYERS *et al.*, 2003). Os usuários de drogas ilícitas, sobretudo injetáveis, têm risco aumentado de infecção pelo compartilhamento de seringas. Estima-se prevalência de 75% após seis meses do início do uso de drogas injetáveis (YEN; KEEFFE; AHMED, 2003).

A transmissão também pode ocorrer por meio do uso de instrumentos contaminados na realização de procedimentos médico-odontológicos, tatuagens e *piercings*. A exposição ocupacional é outra forma menos freqüente de contaminação. O risco estimado após exposições percutâneas é de 1,8 a 3% (THOMAS, 1996; TUMMINELLI, 1995).

A transmissão vertical é pouco freqüente, variando de 0 a 20% (GIBB; GOODALL; DUNN, 2000) nas diferentes populações e pode se elevar em mães com alta carga viral ou co-infetadas pelo vírus da imunodeficiência humana (VIH), com risco de transmissão até quatro vezes maior (OKAMOTO; NAGATA; MURAKAMI, 2000).

A via sexual é controversa, pela ausência ou presença de baixo inóculo viral no esperma e, possivelmente, necessita de fatores adjuvantes para facilitar a transmissão, tais como a co-infecção pelo VIH, vírus da hepatite B (VHB) e outras doenças sexualmente transmissíveis (LERUEZ-VILLE; KUNSTMANN; ALMEIDA, 2000; YEN; KEEFFE; AHMED, 2003). Em até 10% dos casos de hepatite C não se consegue identificar fatores de risco da infecção (*Centers for Disease Control and Prevention - CDC*, 1998).

A história natural da hepatite C não está totalmente esclarecida devido à dificuldade de se estabelecer o momento em que ocorre a infecção aguda na grande maioria dos casos. O período de incubação é de aproximadamente sete semanas, mas pode variar de duas a 26 semanas. A maioria dos casos de hepatite C aguda é assintomática. Apenas 25% dos pacientes apresentam sinais clínicos aparentes (MARCELLIN, 1999; MERICAN *et al.*, 1993).

Cerca de 80% dos pacientes que adquirem o vírus C evoluem para a hepatite C crônica, que se caracteriza pela presença do vírus, detectado pelo VHC-RNA durante pelo menos seis meses (MEYERS *et al.*, 2003); a subseqüente perda espontânea do vírus é incomum.

Os mecanismos associados à cronicidade se relacionam tanto ao vírus quanto ao hospedeiro. Entre os fatores relacionados ao vírus, incluem-se o maior inóculo viral e a maior capacidade

mutagênica do vírus nas primeiras quatro semanas de infecção (FARCI *et al.*, 2000; GONZALEZ-PERALTA *et al.*, 1996). Em relação ao hospedeiro, características como a raça negra, a idade acima de 40 anos e o etilismo são associados à maior cronicidade (POYNARD; BEDOSSA, 1997). Outros fatores como o abuso de drogas ilícitas e hepatotóxicas, esteatose hepática, co-infecção com VIH e VHB também são diretamente ligados à progressão mais rápida da fibrose hepática.

A progressão da doença hepática geralmente é lenta e assintomática durante anos ou décadas. As manifestações clínicas surgem quando a progressão da fibrose leva à cirrose e à sua descompensação, com insuficiência hepática ou hepatocarcinoma (ALTER; SEEF, 2000). Diversas pesquisas foram realizadas com o intuito de avaliar o tempo e os fatores responsáveis pela progressão mais rápida da doença. Estudos prospectivos mostraram progressão para cronicidade de 1 a 20% em diferentes períodos de seguimento, com mortalidade relacionada à doença hepática com variação de 0 a 3,7% (GOODMAN; ISHAK, 1991; KORETZ; ABBEY; CLOEMAN, 1993; MATTSON; SONNERBOG; WEILAND, 1993).

O tratamento específico da hepatite C encontra-se indicado para pacientes com risco de progressão para cirrose. O estadiamento do grau de fibrose hepática é o principal critério para a indicação do tratamento e baseia-se nos achados da biópsia hepática. No Brasil, utiliza-se mais freqüentemente a classificação METAVIR. Os pacientes que apresentam atividade necro-inflamatória de moderada a intensa (maior ou igual a A2 pela classificação METAVIR e fibrose hepática maior ou igual a F2 (METAVIR), cujo risco de progressão para cirrose é elevado, são candidados ao tratamento da hepatite C - Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS)/ Ministério da Saúde (MS) - (BRASIL, 2007). Os pacientes não devem apresentar condições que contra-indiquem o tratamento, tais como co-morbidades descompensadas (insuficiência cardíaca congestiva, diabetes *mellitus*, cirrose descompensada, doença reumatológica, distúrbio tireoidiano, doença psiquiátrica e gravidez).

Os esquemas atuais disponíveis para o tratamento incluem interferon-alfa convencional em monoterapia, indicado apenas para pacientes com contra-indicação ao uso de interferon peguilado, como os portadores de DRC, nos quais o uso da ribavirina estaria ligado ao risco elevado de anemia hemolítica. O interferon peguilado associado à ribavirina, durante 48

semanas, é o tratamento de escolha para os portadores de genótipo 1 e 4. No Brasil, para os genótipos 2 e 3, o interferon convencional, associado à ribavirina, persiste como o tratamento de escolha (BRASIL, 2007; MANNING; McHUTCHISON; GORDON, 2001; ZEUZEM *et al.*, 2005).

2.2 Hepatite C em portadores de doença renal crônica em hemodiálise

A hepatite C crônica é a principal causa de doença hepática em portadores de DRC em hemodiálise. Esses pacientes constituem importante grupo de risco para a aquisição da hepatite C devido à alta frequência de hemotransfusões (principalmente antes do uso de eritropoetina humana recombinante para o tratamento da anemia) e à maior exposição à transmissão nosocomial (POL *et al.*, 2002). As altas taxas de incidência e prevalência da hepatite C nos pacientes hemodialisados podem ser atribuídas a diversos fatores, tais como: o maior número de transfusões, mais tempo em hemodiálise, a modalidade da diálise (é mais freqüente entre os hemodialisados e menos entre os submetidos à diálise peritoneal) e a história prévia de transplante renal. A esses são ainda acrescentados os demais fatores de risco da população geral, como o uso de drogas ilícitas, tatuagens, *piercing* e transmissão sexual.

Após o início da década de 1990, quando os hemocentros passaram a realizar a triagem sorológica para a hepatite C, a transmissão do vírus pela transfusão sanguínea tornou-se menos freqüente. Vários estudos verificaram que, mesmo entre os pacientes em programas dialíticos, sem história prévia de hemotransfusão, observava-se maior prevalência da hepatite C (JADOUL, 2000). Esse aspecto reforça o importante papel da ocorrência da transmissão nosocomial, que foi demonstrada com o uso de técnicas de biologia molecular por diversos pesquisadores (ALLANDER *et al.*, 1994; FABRIZI *et al.*, 2000; GRETHE *et al.*, 2000; SAMPIETRO *et al.*, 1995; STUYER *et al.*, 1996). Os principais fatores relacionados à transmissão nosocomial incluem a reutilização de dialisadores (menos provável nos dias atuais), a contaminação interna das máquinas de hemodiálise e a contaminação das mãos dos membros das equipes de saúde ou de objetos compartilhados pelos pacientes (JADOUL, 2000). Sampietro *et al.* (1996) mostraram que o vírus não ultrapassa a membrana dos dialisadores, pois seu tamanho é cerca de dez vezes maior do que o poro da membrana. Entretanto, sua passagem pode ocorrer caso aconteça ruptura acidental da membrana.

A prevalência da doença varia amplamente nas diferentes regiões geográficas e entre os vários centros hemodialíticos de uma mesma região. A maior prevalência da infecção em determinado centro aumenta o risco de soroconversão nesse mesmo centro, o que reforça a ocorrência de transmissão nosocomial. Yen, Keeffe e Ahmed (2003) estimaram o risco de infecção de 10% a cada ano em que o paciente é submetido à hemodiálise.

Em estudo prospectivo observacional e randomizado, Fissel *et al.* (2004) avaliaram 8.615 pacientes em hemodiálise, de diferentes centros dialíticos em sete países, e verificaram prevalência média da hepatite C de 13,5%. Registraram os seguintes fatores associados ao risco mais alto de soroconversão: mais tempo de hemodiálise, sexo masculino, raça negra, diabetes *mellitus*, infecção pelos VIH e VHB, etilismo e abuso de drogas ilícitas nos 12 meses prévios.

No Brasil, a prevalência da hepatite C em pacientes em hemodiálise varia amplamente entre as regiões, sendo descritas taxas de 11 a 82% (BUSEK *et al.*, 2002; CARNEIRO *et al.*, 2001; DOTTA *et al.*, 2003, SANTANA *et al.*, 2001). Em Belo Horizonte e região metropolitana, De Paula Farah (2004) descreveu prevalência média de sorologia positiva para hepatite C de 19,1% em seis centros de diálise avaliados.

Embora alguns autores como Pol *et al.* (1993) e Simon *et al.* (1994) tenham mostrado mais chance de evolução para cronicidade da hepatite C nos pacientes em hemodiálise, a infecção parece apresentar curso mais lento, sendo descritas taxas de progressão mais baixas para fibrose (RAMPINO *et al.*, 1999). A frequência de fibrose hepática em ponte (METAVIR estágio 3) ou cirrose (METAVIR estágio 4) varia de 5 a 32% em diversos estudos (CAMELO *et al.*, 1993; COTLER *et al.*, 2002; POL *et al.*, 1993). Yokosuka e Okuda (2004) acompanharam 25 pacientes em hemodiálise com hepatite C e 50 portadores desta doença sem DRC e descreveram que, no primeiro grupo, nenhum paciente evoluiu para cirrose, o que ocorreu em 25% dos elementos do segundo grupo.

Apesar da progressão mais lenta, a hepatite C apresenta importante impacto na morbimortalidade desses pacientes (FABRIZI; POORDAD; MARTIN, 2002). Alguns estudos demonstraram que eles têm menor sobrevida, quando comparados aos pacientes em hemodiálise sem hepatite C. Nakayama *et al.* (2000) encontraram taxa de mortalidade de 33% em portadores de DRC em hemodiálise e hepatite C crônica, comparada a 23% nos

pacientes renais crônicos sem a hepatite C. Em outro estudo, Espinosa, Rodriguez e Martín-Malo (2001) compararam a sobrevida de pacientes em hemodiálise com e sem hepatite C em 10 anos e constataram mortalidade de aproximadamente 54% no grupo com a infecção, comparada a 31% no grupo sem hepatite C. A cirrose ocorreu em 17,5% dos portadores de hepatite C crônica. Na população portadora de DRC, o diagnóstico da hepatite C pode ser dificultado pela alteração da resposta humoral, pela menor sensibilidade da alamina-aminotransferase (ALT) e aspartato-aminotransferase (AST) na detecção de lesão hepática e pela dificuldade de realização de biópsia hepática pelo risco mais alto de complicações.

Os testes sorológicos podem apresentar número mais elevado de resultados falso-negativos em decorrência da menor resposta humoral (CARAMELO *et al.*, 1996), o que tem sido minimizado com o uso do *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) de terceira geração (SALAMA *et al.*, 2000; SCHENEEBERGER *et al.*, 1998) e, mais recentemente, de quarta geração. Entretanto, Saab e Walng (2001) ainda relataram menor sensibilidade do ELISA de terceira geração nos pacientes com DRC (cerca de 93%), quando comparados aos sem DRC (97%). Carneiro *et al.* (2001) referenciaram que 10,3% de 428 pacientes avaliados que tiveram antiVHC não-reativo apresentaram reação em cadeia da polimerase (PCR) positiva para o VHC-RNA.

Devido à deficiência de piridoxina, co-fator na síntese de ALT, e a possível presença de inibidores das aminotransferases na uremia, esses pacientes podem ter níveis persistentemente normais ou diminuídos de ALT, mesmo com lesão hepática (CRAWFORD; REYNA; WINER, 1978; FURUSYO *et al.*, 2000; YUKI *et al.*, 2000). Alguns autores defendem a redução do ponto de corte do nível da ALT em pacientes em hemodiálise, o que poderia facilitar a detecção mais precoce da hepatite C (FURUSYO *et al.*, 2000; GUH *et al.*, 1995). Cerca de 50% deles apresentam níveis normais ou flutuantes de ALT e AST. Crescentes evidências sugerem que os pontos de corte de ALT e AST deveriam ser reduzidos para 16 e 18 UI/L, respectivamente, para aumentar a sensibilidade e a especificidade na detecção da atividade da hepatite C em pacientes em hemodiálise (YASUDA *et al.*, 1995).

Não há protocolo bem definido para o tratamento da hepatite C nos pacientes portadores de DRC em hemodiálise. Os estudos nessa população são heterogêneos quanto ao esquema e ao tempo de tratamento utilizados. Esses indivíduos se beneficiam do tratamento da infecção, sobretudo antes de serem submetidos a transplante renal. Índices mais baixos de sobrevida de

enxerto renal foram destacados ao se compararem pacientes transplantados com viremia positiva com os que negativaram o vírus C antes do transplante (GONZALES-RONCERO *et al.*, 2003). Os agentes imunossupressores utilizados após o transplante promovem elevação da carga viral do vírus da hepatite C e progressão rápida para fibrose hepática e cirrotização (ROTH *et al.*, 2002).

Fabrizi *et al.* (2003) analisaram, em estudo de metanálise, 14 ensaios terapêuticos, obtendo resposta virológica sustentada (RVS) média de 37%. Nesses pacientes, entretanto, houve mais tendência à ocorrência de efeitos adversos e abandono do tratamento (média de 26%). A ribavirina, em geral, é contra-indicada nesses casos devido à sua eliminação predominantemente renal, levando a risco mais alto de hemólise dose-dependente. Todavia, estudos recentes sugerem seu uso em doses menores, monitorizadas a partir do peso corporal, com potencialização do uso de eritropoetina recombinante humana para minimizar o risco de anemia (BRUCHFELD *et al.*, 2006; MOUSA *et al.*, 2004).

Trabalhos ainda com número limitado de pacientes têm avaliado o uso de interferon peguilado em doses menores nessa população. Kokoglu, Ucmak e Hosoglu (2006) trataram 25 pacientes em hemodiálise com hepatite C crônica com interferon peguilado alfa-2a e obtiveram 75% de RVS. O interferon peguilado alfa-2b foi avaliado em 16 pacientes, entretanto, devido à baixa tolerância ao tratamento, o estudo foi interrompido antes do período proposto (RUSSO *et al.*, 2006). Em ensaio recente com o uso de interferon peguilado alfa-2a, dose de 135 mcg por semana e ribavirina 200 mg por semana, verificou-se a excelente RVS de 97%. Os autores associaram a ótima resposta à diminuição da dose do interferon peguilado à monitorização rigorosa dos níveis séricos de ribavirina e ao fato de os pacientes serem jovens, sem cirrose e com ótimos parâmetros hematológicos basais (RENDINA *et al.*, 2007). Embora esses recentes estudos destaquem a possibilidade do uso do interferon peguilado nessa população, eles devem ser vistos com cautela, pois foi avaliado um pequeno número de pacientes em condições ideais, distantes da nossa realidade prática atual.

2.3 Fibrogênese na hepatite C crônica

A fibrose hepática pode resultar de causas infecciosas, como as hepatites virais e a esquistossomose mansônica, ou não infecciosas, como as hepatites alcoólica e auto-imune. Esse acúmulo de tecido conjuntivo determina alterações no funcionamento celular, pelo menor número de células funcionantes ou pela má nutrição das células remanescentes, com insuficiência do órgão e hipertensão portal secundária a alterações na microcirculação hepática (BISSEL, 1998).

A MEC é composta principalmente de colágenos do tipo I (C-I) e IV (C-IV), substâncias glicoconjugadas como os proteoglicanos, fibronectina, ácido hialurônico e laminina. As células estreladas hepáticas (CEH) constituem as principais formadoras da MEC e são ativadas por diversos estímulos inflamatórios (NEUBAUER; SAILE; RAMADORI, 2001; TSUKADA; PARSON; RIPPE, 2006). Diante da injúria hepática, gera-se um estímulo inflamatório com acúmulo de linfócitos, monócitos/macrófagos e células de Kupffer - que liberam citocinas atuantes na ativação das CEH. Durante o processo de ativação, elas sofrem alterações estruturais e funcionais que resultam na aquisição de um fenótipo proliferativo, contrátil, migratório e fibrogênico. O seu padrão de expressão genética se modifica com acentuado aumento na síntese de colágenos tipo I e IV. As células de Kupffer são as principais ativadoras das CEHs, a partir da liberação do fator transformador do crescimento β (TGF- β), metaloproteinase 9 (MMP-9), espécies reativas de oxigênio (ROS) e peróxidos lipídicos, todos estimuladores da síntese do colágeno. As plaquetas também participam do processo de ativação das CEHs por meio da produção de fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), TGF- β e o fator de crescimento epidérmico (EGF). Os linfócitos T auxiliares tipo 1 (Th1) produzem citocinas que promovem a imunidade mediada por células pela produção de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interferon gama (INF- γ) e interleucina-2 (IL-2). Os linfócitos auxiliares tipo 2 (Th2) produzem IL-4, IL-5, IL-6 e IL-3 e promovem a imunidade humoral (FRIEDMAN, 2004).

2.4 Biópsia hepática na avaliação da fibrose na hepatite C

A biópsia hepática fornece o diagnóstico histológico da hepatite C crônica e permite o estadiamento da lesão hepática, utilizado como parâmetro para a indicação do tratamento. O

procedimento serve ainda para excluir outras doenças hepáticas, tais como as hepatites alcoólica, medicamentosa e auto-imune, esteatose hepática, hepatites de outras etiologias e esquistossomose mansônica. Existem vários modelos de classificação histológica que graduam tanto a inflamação quanto a fibrose hepática, sendo os mais utilizados os de Knodell, modificado por Ishak *et al.* (1995), e METAVIR (POYNARD; BEDOSSA; OPOLON, 1997) - (QUADROS 1 e 2). No Brasil, a classificação mais utilizada é o METAVIR.

QUADRO 1

Classificação histológica de fibrose hepática: modelo de Ishak

Estádio	Descrição
F0	Ausência de fibrose
F1	Alargamento de alguns tratos portais por fibrose
F2	Alargamento da maioria dos tratos portais por fibrose
F3	Alargamento da maioria dos tratos portais e raras pontes fibrosas ligando tratos
F4	Alargamento da maioria dos tratos portais com pontes freqüentes ligando tratos portais e veias centro-lobulares
F5	Marcante fibrose em ponte e esboço de nódulos
F6	Cirrose

QUADRO 2

Classificação histológica da fibrose hepática: modelo METAVIR

Estádio	Descrição
F0	Ausência de fibrose
F1	Fibrose portal sem septos
F2	Poucos septos fibrosos
F3	Numerosos septos fibrosos
F4	Cirrose

A biópsia hepática pode ser feita por via percutânea, guiada ou não por ultra-som ou tomografia computadorizada, transjugular, laparoscópica e por laparotomia. A biópsia percutânea guiada por ultra-som é a mais utilizada em nosso meio. Nela, são utilizados, em geral, três tipos de agulhas: Tru-cut (a mais usada), Menghini Klatskin e Jamshidi (BRAVO; SHETH; CHOPRA, 2001).

Embora a biópsia seja o padrão-ouro para o diagnóstico da fibrose hepática na hepatite C, é importante considerar algumas limitações do método. Por ser exame invasivo, pode trazer riscos e desconforto aos pacientes. As complicações variam de acordo com a técnica utilizada, com a gravidade da doença subjacente, com a presença ou não de distúrbios de coagulação e com a experiência do profissional que realiza o procedimento. As complicações mais frequentes incluem dor abdominal, hipotensão por reflexo vaso-vagal, dor referida no ombro, hemorragia peritoneal, hemotórax, pneumotórax e hemobilia (caracterizada pela tríade: hemorragia digestiva, cólica biliar e icterícia). Outras complicações mais raras incluem ascite, pleurite e peritonite biliares, enfisema subcutâneo, abscesso subfrênico, pancreatite, anafilaxia e quebra de agulha da biópsia. O procedimento deve idealmente ser realizado em ambiente hospitalar e, após sua realização, o paciente deve permanecer em observação em período mínimo de seis horas. Após a alta, o paciente deve permanecer nas primeiras 24 horas em local de fácil acesso ao Hospital (BRAVO; SHETH; CHOPRA, 2001). Aproximadamente 6% das complicações ocorrem nas primeiras duas horas após a biópsia e 96% dentro de 24 horas (PICCINO *et al.*, 1986). A taxa de mortalidade é de aproximadamente 1/10.000 e 1/12.000 (McGILL *et al.*, 1990; VAN THIEL *et al.*, 1993).

Diversas investigações avaliaram a ocorrência de complicações na biópsia hepática. Bravo, Sheth e Chopra (2001) mostraram que 1 a 3% dos pacientes submetidos à biópsia hepática ambulatorial necessitaram de internação devido a complicações, sendo as mais frequentes hipotensão e dor. Em outro grande estudo prospectivo, Cadranet, Rufat e Degos (2000) avaliaram 2.087 pacientes submetidos à biópsia hepática e registraram complicações graves em 0,57% dos casos. Não houve registro de óbito. A dor foi a complicação mais frequente, sendo moderada em 20% dos casos e acentuada em 3%, nos quais foram necessárias analgesia potente e internação hospitalar. Piccino *et al.* (1986) analisaram, retrospectivamente, as complicações em 68.276 biópsias hepáticas realizadas em um período de 10 anos e observaram taxa de mortalidade de nove para cada 100.000 procedimentos. A

ocorrência de hemoperitônio em portadores de doenças malignas ou cirrose foi a principal causa de óbito.

McGill *et al.* (1990) descreveram a ocorrência e a gravidade de complicações hemorrágicas em 9.212 pacientes submetidos ao procedimento. Foram observados 10 casos hemorrágicos fatais (0,11%) e 22 de hemorragias não-fatais (0,24%). Os fatores de risco relacionados às complicações hemorrágicas foram a presença de cirrose ou carcinoma hepatocelular, idade avançada, sexo masculino e maior número de punções durante o procedimento.

Nos portadores de DRC, o risco de complicações hemorrágicas da biópsia é aumentado pela maior tendência a sangramentos. A hemostasia nesses pacientes é alterada pelo prolongamento do tempo de sangramento e anormalidades na agregação plaquetária. Embora existam poucos trabalhos com grande número de biópsias hepáticas nessa população, a maioria deles mostra mais tendência a complicações hemorrágicas. Em estudo recente (DE PAULA FARAH, 2004), pacientes em hemodiálise com hepatite C foram submetidos à biópsia hepática, com a ocorrência de complicações graves em 13,2% dos casos, como dor abdominal intensa, hemorragia peritoneal, hemobilia, hemotórax e um óbito. As complicações hemorrágicas ocorreram mesmo com todos os valores de plaquetas e tempo de protrombina acima dos valores recomendados sendo considerados seguros para a realização do procedimento. Os autores sugerem a avaliação de métodos não-invasivos para estadiar-se a fibrose hepática nesses casos.

Alguns pesquisadores defendem a utilização da biópsia transjugular em portadores de distúrbios de coagulação para reduzir o risco de complicações hemorrágicas (AHMAD *et al.*, 2004; DAWSON *et al.*, 2005). Neste método, realiza-se a biópsia por meio da cateterização da veia jugular. A retirada do fragmento é feita por dentro do vaso sanguíneo, o que faz com que não ocorra sangramento externo ao órgão. A técnica fornece um fragmento com mais de seis tratos portais em cerca de 90% dos casos (LEBREC *et al.*, 1982), porém a fragmentação das amostras é freqüente, sobretudo em fígados cirróticos, quando se utiliza a agulha aspirativa convencional. Recentemente, Dawson *et al.* (2005) reportaram uma série de biópsias hepáticas transjugulares realizadas em cinco pacientes portadores de hemofilia e um portador de doença de von Willebrand. Nessa série, não houve complicações hemorrágicas e espécimes adequados foram obtidos em todos os pacientes. Entretanto, em nosso meio essa

técnica ainda é pouco utilizada devido ao alto custo e pouca disponibilidade de profissionais experientes na realização do exame.

Outra importante limitação da biópsia hepática é a dificuldade de se conseguirem amostras bem representativas do fígado. Muitas vezes são obtidos fragmentos hepáticos com número insatisfatório de tratos portais, por fatores dependentes tanto da técnica quanto do paciente. Em indivíduos mais obesos, é comum a obtenção de fragmentos menores. Em pacientes cirróticos, são comuns amostras fragmentadas. Mesmo considerando-se que a amostra seja satisfatória, é importante lembrar que um fragmento adequado obtido pela agulha de Menghini retira um fragmento hepático que em geral representa apenas 1/63.000 do volume total do órgão de um adulto. Esse pequeno fragmento pode não representar de forma adequada o real estadiamento da fibrose hepática (VOLMER; LÜDERS, 1994).

Outras limitações da biópsia referem-se à técnica realizada na coloração das lâminas, que algumas vezes não é adequada. Além disso, existe o aspecto subjetivo de se tratar de exame observador-dependente da análise da biópsia hepática, com possibilidade de significativa discordância entre examinadores (DE PAULA FARAH, 2004).

Várias condições contra-indicam a realização da biópsia hepática, entre elas: pacientes não-cooperativos, distúrbios de coagulação (plaquetas $< 60.000 \text{ mm}^3$, tempo de protrombina maior que 3-4 segundos do controle), história prévia de hemorragia após procedimentos cirúrgicos, hemangiomas, uso recente de ácido acetilsalicílico (AAS) ou antiinflamatórios não-esteróides (AINES), obstrução biliar extra-hepática, colangite bacteriana, ascite significativa, pneumotórax, ausência de avaliação radiológica prévia do fígado e indisponibilidade de produtos sanguíneos, caso hemotransfusão seja necessária. Todas estas dificuldades, limitações e complicações da biópsia hepática têm estimulado a busca por marcadores não-invasivos para a avaliação da fibrose hepática, o que se torna ainda mais oportuno em populações de mais alto risco para o procedimento.

2.5 Marcadores não-invasivos de fibrose hepática na hepatite C

A quantificação e o estadiamento da fibrose hepática são fundamentais na avaliação da lesão hepática na hepatite C crônica e têm influência direta na decisão terapêutica da doença. A

biópsia permanece como padrão-ouro para a avaliação da fibrose hepática, entretanto, devido às suas limitações e complicações já discutidas, tem-se buscado outras formas de avaliar-se a fibrose (BATALLER *et al.*, 2005).

O conhecimento da fisiopatologia da formação da fibrose hepática propiciou a identificação de numerosas substâncias envolvidas na deposição, remodelação e degradação da MEC. Diversos marcadores estão envolvidos no metabolismo da MEC e seus níveis séricos podem refletir o grau de fibrose hepática, podendo ser classificados da seguinte forma (AFDHAL; NUNES, 2004).

- simples ou indiretos: mostram alterações da função hepática, mas não refletem diretamente o metabolismo da MEC, tais como as transaminases (ALT e AST), a contagem de plaquetas gama-glutamil-transpeptidase-GGT, bem como fórmulas matemáticas com combinações diferentes entre eles. Estes marcadores não serão abordados nesta revisão.
- complexos ou diretos: refletem diretamente o metabolismo da MEC, resultando ou participando diretamente do seu remodelamento - ácido hialurônico, colágeno IV, MMPs, inibidores das metaloproteinases (TIMPs), pró-colágeno tipo III, laminina, TGF- β e YKL-40 (glicoproteína presente na cartilagem humana).

2.5.1 Marcadores complexos ou diretos

2.5.1.1 Ácido hialurônico

O ácido hialurônico (AH) é um polissacarídeo de alto peso molecular, que apresenta diversas funções no organismo, tais como a estabilização da matriz extracelular, lubrificação das articulações, homeostase hídrica, regulação da distribuição protéica plasmática, barreira para a disseminação de microorganismos e regulação de atividades celulares (GERDIN; HALLGREN, 1997; FRASER; LAURENT; LAURENT, 1997). Laurent, Laurent e Fraser (1981) foram os primeiros a mostrar a presença de AH no sangue periférico e a descrever o seu metabolismo. Trata-se de substância com distribuição ubíqua no organismo, com meia-vida curta de apenas dois a nove minutos. As células estreladas hepáticas (CEH) ou células de Ito são as principais produtoras de AH no organismo e os capilares sinusoidais hepáticos são os maiores responsáveis pelo seu *clearance*. Cerca de 10 a 100 mg de AH são lançados

diariamente na corrente sangüínea. Indivíduos saudáveis apresentam níveis séricos de AH que variam de 10 a 100 mcg/L (MARTINS *et al.*, 2003). Diversos fatores podem levar ao aumento desses níveis, como o aumento da idade, doenças fibrosantes, colagenoses, septicemias, neoplasias e DRC.

O AH atua como citocina pró-inflamatória através de sua interação com o receptor CD44 (glico-proteína transmembrana tipo 1), presente na superfície de linfócitos e macrófagos. Mediante estímulos inflamatórios, ocorre aumento da expressão de AH na superfície das células endoteliais. A ligação do AH com o CD44 de linfócitos e macrófagos proporciona a transmigração vascular dessas células (MOHAMADZADEH *et al.*, 1998).

A medida dos níveis séricos de ácido hialurônico pode ser obtida por diversas técnicas: radiometria (I^{125}), imunoenensaio, ensaio imunoenzimático-ELISA competitivo e não-competitivo. O “ELISA-sanduiche”, ensaio baseado em imunofluorescência, é a técnica mais utilizada atualmente, disponível na forma de *kit* comercial (MARTINS *et al.*, 2003).

Nas doenças hepáticas fibrosantes, observa-se elevação dos níveis de AH, o que pode estar relacionado tanto com o aumento de sua produção quanto com a menor metabolização no endotélio sinusoidal. Diversos estudos têm demonstrado a correlação entre a elevação do nível sérico de AH e a presença de fibrose em doenças hepáticas crônicas de várias etiologias (ENGSTRÖM-LAURENT; LOOF, 1985; GUÉCHOT *et al.*, 1996; HALFON *et al.*, 2005; McHUTCHISON *et al.*, 2000; NINOMIYA *et al.*, 1998; OLIVEIRA *et al.* 2001; PLEVRIS; HAYDON; SIMPSON, 2000; WONG; HUGHES; TRULL, 1998). Na maioria desses estudos foram dosados os níveis séricos do AH e realizada a biópsia hepática, que foi utilizada como o padrão-ouro no estadiamento da fibrose hepática. Foram estabelecidos pontos de corte de níveis de AH, com seus respectivos valores preditivos, sensibilidade e especificidade para detecção dos estágios de fibrose hepática.

Na investigação de McHutchison *et al.* (2000), realizou-se a medida de AH em 486 pacientes portadores de hepatite C crônica e observou-se relação significativa entre sua elevação e a presença de fibrose verificada na biópsia hepática. Os autores verificaram mais aplicabilidade do ácido hialurônico na exclusão de cirrose. Os valores séricos de AH menores que 60 mcg/L excluíram fibrose significativa ou cirrose, com VPN e VPP de 93 e 99%, respectivamente. Os valores menores que 110 mcg/L identificaram corretamente 97% dos pacientes não-cirróticos

e valores maiores que 110 mcg/L identificaram 44% daqueles com cirrose. A sensibilidade foi de 88% e a especificidade de 78%, com acurácia global de 79%. Nessa pesquisa constatou-se, portanto, valor maior do AH na exclusão da cirrose.

Halfon *et al.* (2005), em estudo multicêntrico e prospectivo, avaliaram 405 portadores de hepatite C com amostras de soro coletadas no dia da realização da biópsia, classificadas pelo METAVIR. Foram excluídos os portadores de doenças articulares e insuficiência renal crônica. Os autores verificaram que níveis de AH de 121, 160 e 237 mcg/L se relacionaram com a presença de fibrose significativa, grave e cirrose, com VPP de 94, 100 e 57% , respectivamente. Para excluir fibrose significativa, fibrose avançada e cirrose, os pontos de corte foram $AH < 16$ mcg/L, < 26 mcg/L e < 50 mcg/L, com VPNs de 82, 89 e 100%, respectivamente.

Em outro estudo, Wong, Hughes e Trull (1998) mostraram a superioridade da relação com a fibrose hepática do AH quando comparado à ALT, ao estudar uma coorte de 130 pacientes com hepatite C crônica. Os níveis séricos de AH foram significativamente mais altos naqueles com fibrose avançada (sensibilidade de 85% e especificidade de 88%) do que nos com fibrose leve a moderada. Não houve relação entre os níveis de ALT e os estágios de fibrose hepática.

Em estudo brasileiro de Oliveira *et al.* (2001), avaliou-se a acurácia diagnóstica do AH em portadores de hepatite C crônica sem evidências clínicas e bioquímicas de cirrose hepática e ausência de sinais de hipertensão portal ao ultra-som de abdome. Os níveis séricos do AH foram relacionados aos achados da biópsia hepática. Os valores médios do AH foram significativamente mais elevados nos portadores de cirrose do que naqueles com hepatite crônica não-cirróticos. No grupo cirrótico, 80% dos casos apresentaram valores séricos elevados de AH, enquanto 87% do outro grupo apresentaram valores de AH abaixo do ponto de corte estabelecido, com acurácia diagnóstica de 83%.

Nos diversos trabalhos avaliados, notou-se a utilidade do ácido hialurônico na identificação de cirrose, porém com menos acurácia na distinção de graus menores de fibrose.

Alguns autores mostraram que portadores de DRC apresentam níveis mais elevados de AH (KAYSEN *et al.*, 1997; TURNEY *et al.*, 1991). Os pacientes submetidos a transplante renal

têm seus níveis de AH reduzidos ao normal (TURNERY *et al.*, 1991). De Medina *et al.* (1998) estudaram 184 portadores de DRC em hemodiálise e referiram que os níveis de AH foram significativamente mais altos do que nos do grupo-controle, sem DRC. Os pesquisadores explicaram que os fatores associados ao aumento do AH são a redução do seu *clearance* renal e o estado inflamatório decorrente do próprio processo dialítico em que há mais liberação de citocinas pró-inflamatórias. Destacaram, ainda, mais elevação do AH nos pacientes em hemodiálise portadores de hepatite C crônica, mas não foi feita biópsia hepática para avaliar se esse aumento se relacionava à presença de fibrose.

Furusyo *et al.* (2000) verificaram associação direta dos níveis do AH com o tempo de hemodiálise, justificada pelos autores pelas co-morbidades extra-hepáticas surgidas ao longo da hemodiálise, como a amiloidose. Não foi verificada associação entre a idade dos pacientes e os níveis de AH.

A DRC e o processo dialítico levam a uma série de alterações metabólicas, entre elas a hipocalcemia, que é compensada pelo surgimento do hiperparatireoidismo secundário. O paratormônio (PTH) atua na homeostase do cálcio por intermédio do estímulo de osteoclastos que geram maior *turnover* ósseo, com reabsorção óssea e conseqüente liberação de cálcio na corrente sanguínea. O hiperparatireoidismo ocorre na maioria dos pacientes com DRC em hemodiálise. Estudos experimentais mostraram que o PTH pode estimular a maior produção de AH pelos osteoclastos e osteoblastos (MIDURA; EVANKOS; HASCALL, 1994; MIDURA *et al.*, 2003). Embora esse mecanismo não esteja completamente elucidado, esse fator poderia contribuir para o mais alto nível de AH encontrado nos pacientes com CRC. Assim, caso os níveis elevados de PTH realmente se associem à elevação dos níveis séricos de AH, esse fato poderia interferir no uso dessa substância como marcador direto de fibrose hepática.

2.5.1.2 Colágeno IV

O colágeno IV (C-IV) é o maior componente da membrana basal, perivascular e periportal, sendo liberado durante a degradação de filamentos intersticiais, refletindo a deposição e o remodelamento da MEC. Kefalides (1973) foi o primeiro a demonstrar o C-IV como um dos principais componentes da MEC. Desde então, a partir da utilização de anticorpos específicos

contra C-IV, diversos autores têm demonstrado o aumento do C-IV como resultado da maior formação de fibrose hepática em doenças de diversas etiologias (FURUSYO *et al.*, 2000; HAHN *et al.*, 1980; IUSHCHUK *et al.*, 2005; MURAWAKI *et al.*, 2001; NINOMIYA *et al.*, 1998; QIU *et al.*, 2004; UENO *et al.*, 1992).

Murawaki *et al.* (2001) compararam a dosagem do C-IV com a contagem de plaquetas como marcadores de fibrose hepática em 165 portadores de hepatite C crônica. Demonstraram que a dosagem de C-IV foi mais acurada na diferenciação de fibrose moderada a avançada da fibrose leve ou ausente. Para a detecção de fibrose acima de F2 (classificação de Scheuer), o ponto de corte para o C-IV maior que 110 ng/mL associou-se a: sensibilidade de 77%, especificidade de 73% e acurácia global de 75%. Ao contrário do AH, o colágeno IV mostra melhor acurácia para distinguir os graus de fibrose e não apenas para detectar a existência ou não de cirrose.

Saitou *et al.* (2005) avaliaram os níveis séricos de C-IV, pró-colágeno tipo III (PIIIP), AH e YKL-40 em 109 portadores de hepatite C crônica. Houve elevação nos níveis séricos de todos os marcadores analisados, com a maior acurácia do AH. O YKL-40 teve boa correlação com o AH, com sensibilidade de 80,9% e especificidade de 80,5% na distinção dos graus de fibrose.

Qiu *et al.* (2004) estudaram a combinação de C-IV e tempo de protrombina comparada à combinação de C-IV e contagem de plaquetas como marcadores de fibrose em 140 portadores de hepatite C crônica. Comprovaram a superioridade dos primeiros no diagnóstico de cirrose. A elevação das aminotransferases e gama-glutamil-transpeptidase não se associou à existência de cirrose de forma estatisticamente significativa.

Em portadores de DRC em hemodiálise, Furusyo *et al.* (2000) investigaram os níveis de AH e C-IV em 233 pacientes em hemodiálise, 80 com hepatite C e 153 sem e 228 sem DRC com hepatite C. As medianas dos níveis séricos de AH foram 649, 213,1 e 190,7 ng/mL nos grupos em hemodiálise com hepatite C, em hemodiálise sem hepatite C e portadores de hepatite C, respectivamente. As medianas dos níveis de C-IV foram 188,7, 165,5 e 143 ng/mL nos mesmos grupos, respectivamente. Houve diferença estatisticamente significativa dos níveis de ácido hialurônico e C-IV entre os três grupos. Também nesse estudo, como a biópsia hepática não foi realizada, os níveis séricos desses marcadores não puderam ser

relacionados com achados histológicos, embora tenham sido associados a alterações ultrasonográficas nos pacientes com hepatite C crônica.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Avaliar a associação entre os níveis plasmáticos de ácido hialurônico (AH) e colágeno IV (C-IV) e o grau de fibrose hepática em portadores do vírus da hepatite C e doença renal crônica (DRC) em hemodiálise.

3.2 Objetivos específicos

- Descrever as características sociodemográficas dos pacientes com doença renal crônica em hemodiálise e hepatite C.
- Medir os níveis plasmáticos de AH e C-IV nos pacientes com DRC, com hepatite C.
- Avaliar a associação entre os níveis plasmáticos do AH e C-IV e o grau de fibrose hepática nos portadores de hepatite C em hemodiálise.
- Avaliar a associação entre as variáveis sociodemográficas e laboratoriais e o grau de fibrose hepática nos portadores de hepatite C em hemodiálise.

4 PACIENTES E MÉTODOS

4.1 Desenho do estudo

Trata-se de estudo transversal e comparativo, com coleta de dados do período de maio de 2000 a outubro de 2007. Os pacientes foram submetidos à dosagem plasmática de ácido hialurônico e colágeno IV, que foram correlacionados com o grau de fibrose hepática à biópsia. Os mesmos marcadores foram dosados em pacientes com hepatite C sem insuficiência renal e naqueles em hemodiálise sem hepatite C, utilizados como controles. Realizou-se a análise da associação entre os níveis desses marcadores e o grau de fibrose encontrada na biópsia hepática. Utilizou-se a estratificação dos graus de fibrose em dois grupos distintos: METAVIR <F2 (ausente ou leve) e \geq F2 (moderada a grave; definida no estudo como significativa). Essa estratificação foi empregada por constituir o critério de indicação ou não do tratamento da hepatite C crônica.

4.2 Pacientes

Estudaram-se pacientes adultos entre 18 e 70 anos de idade, de ambos os sexos, acompanhados no Ambulatório de Hepatites Virais do Centro de Treinamento e Referência em Doenças Infecciosas e Parasitárias-CTR/DIP-Orestes Diniz/ Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte/ UFMG e no Centro de Diálise do Hospital das Clínicas da UFMG, no período de maio de 2000 a setembro de 2007, distribuídos em três grupos:

- Grupo 1: portadores de DRC em hemodiálise e hepatite C crônica.
- Grupo 2: portadores de hepatite C crônica sem DRC.
- Grupo 3: portadores de DRC em hemodiálise, sem hepatite C.

Parte dos pacientes (grupo 1, n=13; grupo 2, n=11) já havia sido submetida à biópsia hepática e coleta de amostra de sangue para pesquisa do VHC-RNA (PCR qualitativo) em estudo anterior (DE PAULA FARAH, 2004), de maio de 2000 a dezembro de 2003. Nos demais, a biópsia hepática e a coleta de amostra foram realizadas de agosto de 2006 a setembro de 2007.

4.2.1 Critérios de inclusão para os grupos 1 e 2

- Idade entre 18 e 70 anos.
- VHC-RNA (PCR qualitativo) positivo.
- HBsAg não-reativo.
- Anti-VIH não reativo.
- Ausência de esquistossomose mansônica (três exames parasitológicos de fezes - EPF - negativos ou ausência de espessamento periportal ao ultra-som de abdome ou de achados sugestivos de esquistossomose na biópsia hepática).
- Fator antinuclear (FAN) não- reativo.
- Anticorpo contra músculo, fígado e rim (antiLKM), antimúsculo liso e antimitocôndria negativos.
- Ausência de etilismo (ingestão de mais de 40 g de álcool por dia).
- Ausência de uso de drogas hepatotóxicas por mais de 30 dias, no último ano.
- Disponibilidade de biópsia hepática realizada no estadiamento da hepatite C.
- Disponibilidade de amostra de sangue coletada no dia ou no máximo no intervalo de um ano da biópsia (antes ou após).
- Assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

4.2.2 Critério de exclusão para os grupos 1 e 2

- Tratamento prévio específico para hepatite C (interferon convencional ou peguilado e ribavirina).

4.2.3 Critérios de inclusão para o grupo 3

- Idade entre 18 e 70 anos.
- Portadores de DRC em hemodiálise.
- Anti-VHC não-reativo.
- HBsAg não-reativo.
- Anti-VIH não-reativo.

- Ausência de esquistossomose mansônica (EPF negativo ou ausência de espessamento periportal ao ultra-som de abdome).
- Ausência de etilismo (ingestão de mais de 40 g de álcool por dia)¹.
- Ausência de uso de drogas hepatotóxicas por mais de 30 dias no último ano.
- Disponibilidade de coleta de amostra de sangue.
- Assinatura do TCLE.

Os pacientes que preencheram os critérios de inclusão foram convidados a participar do estudo e se submeteram a anamnese e exame físico, com coleta dos dados durante a entrevista. Os que foram submetidos à realização de biópsia hepática antes do início do estudo, cujas amostras de sangue desse período encontravam-se disponíveis, tiveram as informações da anamnese, exame físico e exames complementares mais próximo da data da coleta da amostra de sangue, buscadas diretamente do prontuário. Preencheu-se o questionário do estudo (APÊNDICE A), contendo as variáveis sociodemográficas, epidemiológicas, clínicas e laboratoriais. As informações obtidas durante a anamnese foram complementadas com a consulta do prontuário médico. Foram elegíveis para o estudo 80 pacientes, entretanto, no grupo 1 (DRC/hepatite C) houve perda de quatro amostras de plasma que foram inadequadas para as dosagens dos marcadores avaliados. Foram analisados, então, 76 pacientes. As FIG. 1 e 2 mostram os fluxogramas de seleção dos pacientes do estudo.

¹ Considerou-se que uma garrafa de cerveja equivale a 30 g de etanol, um cálice de vinho a 7,5 g e uma dose de bebida destilada (conhaque, uísque, vodca, cachaça e rum) a 15 g, aproximadamente.

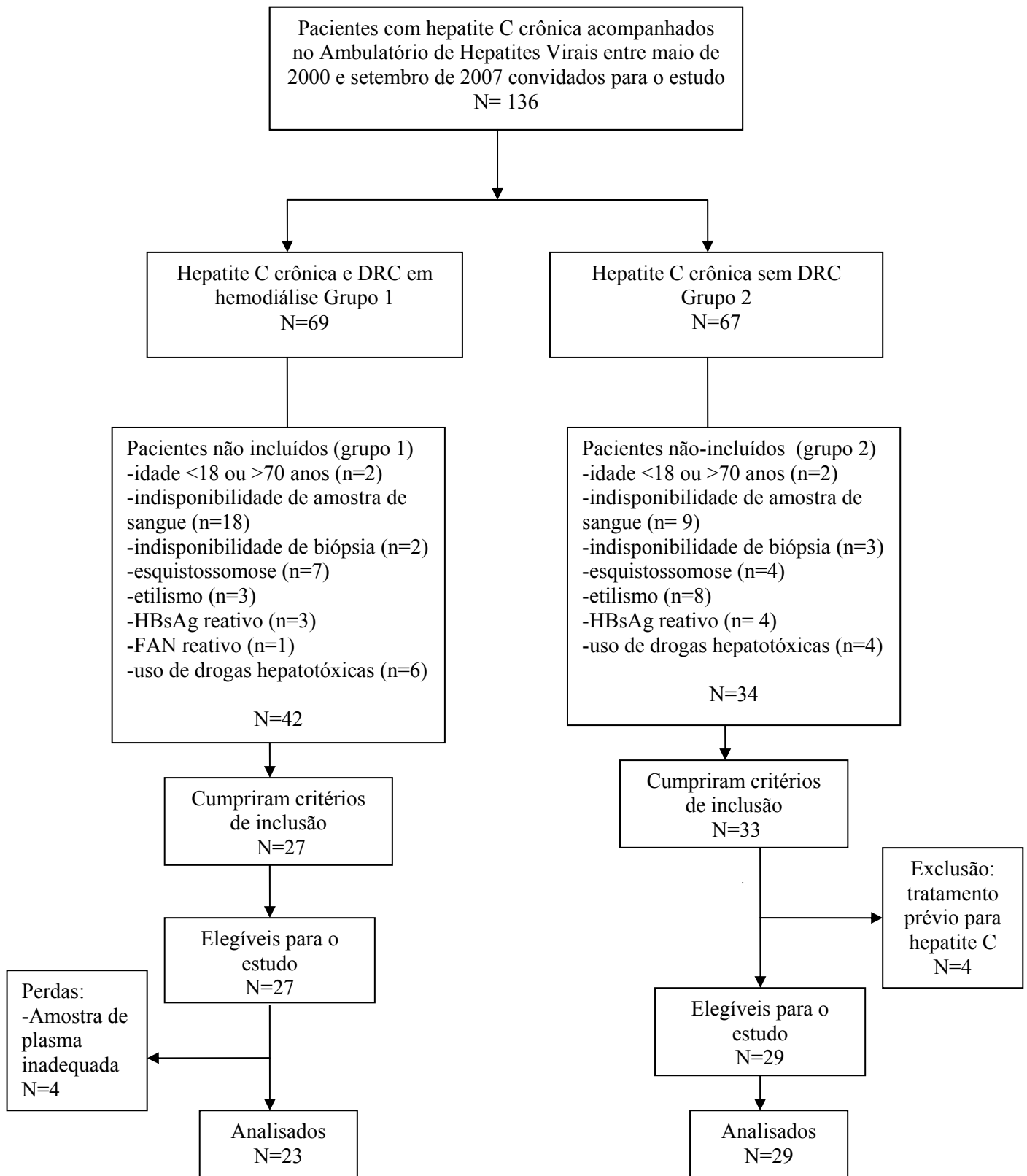


FIGURA 1 - Seleção dos pacientes dos grupos 1 e 2.

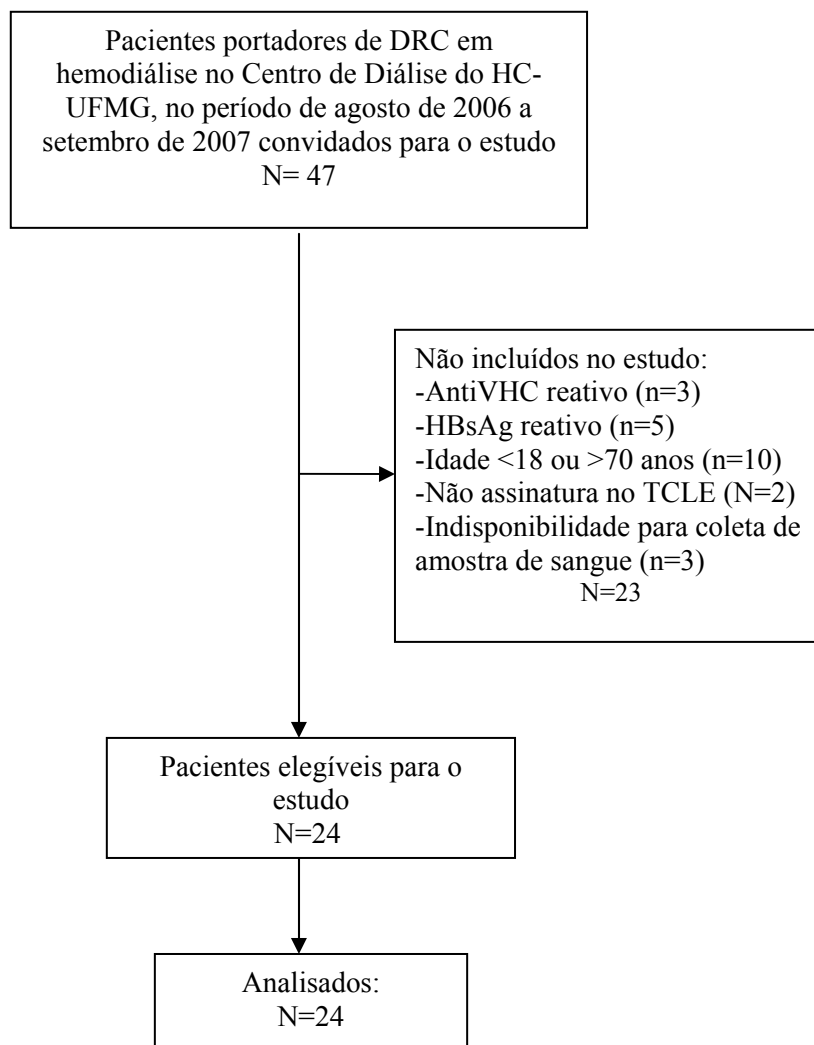


FIGURA 2 - Seleção dos pacientes do grupo 3.

4.3 Métodos

4.3.1 Biópsia hepática

A biópsia hepática percutânea guiada por ultra-som foi solicitada obedecendo-se à rotina do atendimento ambulatorial dos pacientes com hepatite C, conforme protocolo do serviço. Nos pacientes portadores de DRC em hemodiálise, as biópsias foram realizadas em ambiente hospitalar, com orientação da suspensão da heparina na sessão de diálise anterior ao dia do exame e administração de desmopressina (0,3 mg/Kg) uma hora antes do procedimento.

4.3.2 Avaliação histológica

A avaliação histológica das biópsias hepáticas foi realizada dentro da rotina do Serviço de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da UFMG, utilizando-se a classificação METAVIR (QUADRO 3).

QUADRO 3

Classificação histopatológica da infecção pelo VHC
segundo os critérios estabelecidos pelo METAVIR*

GRADUAÇÃO DA ATIVIDADE INFLAMATÓRIA		
1. Necrose lobular focal	0 = < 1 foco necro-inflamatório por lóbulo	
	1 = pelo menos um foco necro-inflamatório por lóbulo	
	2 = vários focos necro-inflamatórios por lóbulo ou necrose confluyente ou necrose em ponte	
2. Inflamação portal	0 = ausente	
	1 = presença de agregados de monucleares em alguns tratos portais	
	2 = agregados monucleares em todos os tratos portais	
	3 = agregados monucleares grandes e difusos em todos os tratos portais	
3. Necrose em saca-bocados	0 = ausente	
	1 = alteração focal da placa periportal em alguns tratos portais	
	2 = alterações difusas da placa periportal em alguns tratos portais ou lesões focais ao redor dos tratos portais	
	3 = alterações difusas da placa periportal em todos os tratos portais	
4. Necrose em ponte	0 = ausente	
	1 = presente	
ATIVIDADE HISTOLÓGICA		
Necrose em saca-bocados + Necrose lobular = escore da atividade histológica		
0	0 (sem ou leve)	0
0	1 (moderada)	1 (leve)
0	2 (acentuada)	2 (moderada)
1 (leve)	0,1	1
1	2	2
2 (moderada)	0,1	2
2	2	3 (acentuada)
3 (acentuada)	0,1,2	3
FIBROSE		
Escore	Descrição	
0	Sem fibrose	
1	Aumento “estrelado” dos tratos portais sem formação de septos	
2	Aumento do trato portal com raros septos	
3	Vários septos sem cirrose	
4	Cirrose	

Fonte: Poynard, Bedossa e Opolon (1997).

4.3.3 Coleta das amostras de sangue

No dia da realização da biópsia hepática ou no período máximo de 30 dias após o exame, foram coletadas amostras de 10 mL de sangue venoso periférico (com heparina) para a realização das dosagens plasmáticas de AH e C-IV. Os pacientes com biópsia hepática realizada anteriormente e amostra de sangue congelada (-20°C) disponível no NUPAD-UFGM foram convidados a participar do estudo. Utilizaram-se apenas amostras de sangue cuja coleta não distava mais de 12 meses (antes ou depois) da realização da biópsia. Nos pacientes portadores de DRC sem hepatite C, as amostras foram obtidas na unidade de diálise antes do início da sessão dialítica. As amostras coletadas durante o estudo foram centrifugadas e tiveram o plasma aliqüotado e armazenado à temperatura de -20°C até a realização das dosagens de interesse. Houve perda de quatro amostras que se mostraram inadequadas para as dosagens do AH (FIG. 1).

4.3.4 Dosagem de ácido hialurônico e colágeno IV

As dosagens foram realizadas no laboratório de Bioquímica e Imunologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFGM.

4.3.4.1 Ácido hialurônico

Realizou-se a dosagem do AH por meio de *kit* comercial AH-ELISA (Echelon Biosciences® Salt Lake, Estados Unidos da América). Trata-se de ensaio imunoenzimático no qual o sinal colorimétrico é inversamente proporcional à quantidade de AH presente na amostra. Foram utilizadas soluções-padrão com diluições de 50 a 1.600 ng/mL, que formaram a curva-padrão utilizada como controle.

4.3.4.2-Colágeno IV

Realizou-se a dosagem do C-IV por meio do *kit* comercial Collagen IV ELISA, (Echelon Biosciences® Salt Lake, Estados Unidos da América). Utilizou-se a técnica de ELISA-

sanduíche para a quantificação do C-IV solúvel no soro. Foram utilizadas soluções-padrão com diluições de 0 a 500 ng/mL. A reação colorimétrica foi medida pela absorvância de 450 nm. A intensidade da absorvância foi diretamente proporcional à concentração de C-IV na amostra, que foi determinada pela curva-padrão gerada por análise de regressão não-linear.

4.4 Variáveis estudadas

Variáveis epidemiológicas:

- idade;
- sexo;
- cor;
- escolaridade;
- história prévia de hemotransfusão;
- uso de drogas ilícitas injetáveis.

Variáveis relacionadas à DRC:

- etiologia da DRC;
- tempo de tratamento dialítico;
- história prévia de transplante renal.

Variáveis clínicas:

- hepatomegalia;
- esplenomegalia;
- sinais de insuficiência hepática (ascite, icterícia, telangiectasias, ginecomastia, *flapping*, eritema palmar).

Variáveis laboratoriais:

- genótipo do vírus da hepatite C (nos grupos 1 e 2);
- ALT (média das três últimas dosagens com intervalo mínimo de um mês);
- AST (nos grupos 1 e 2);
- GGT (nos grupos 1 e 2);
- albumina;

- hemoglobina;
- plaquetas;
- dosagem de PTH (nos grupos 1 e 3);
- dosagem plasmática de ácido hialurônico;
- dosagem plasmática de colágeno IV.

Variáveis histológicas hepáticas (grupos 1 e 2):

- número de tratos portais;
- classificação histológica de atividade inflamatória e fibrose pela escala METAVIR;
- esteatose;
- siderose.

Ocorrência de complicações na biópsia hepática nos grupos 1 e 2. Foram avaliadas todas as complicações, com exceção de dor leve (que não necessitou de analgesia venosa ou internação) no momento ou após a realização da biópsia.

4.5 Análise estatística

As informações obtidas foram armazenadas em banco de dados computadorizado, utilizando-se o *software* Epi Data 3.1 [Lauristen JM (editor) *Epi Data Entry, Data Management and basic Statistical Analysis Sistem*, Epi Data Association, 2000-2006 (Disponível em : <http://www.epidata.dk>)].

Para as análises estatísticas, adotou-se o *software Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) 12.0 *for windows* - SPSS Incorporation, Chicago, Illinois, Estados Unidos da América, 2005 (disponível no Laboratório de Informática do Centro de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da UFMG).

A análise descritiva foi feita pela distribuição da frequência das variáveis categóricas e pelas medidas de tendência central das variáveis contínuas. As diferenças de proporções foram avaliadas pelo teste de χ^2 com correção de Yates ou teste exato de Fisher e as diferenças entre as médias avaliadas pelo teste *t* de Student.

Na comparação dos grupos de estudos (DRC/hepatite C; hepatite C e DRC) no que diz respeito aos níveis do ácido hialurônico e colágeno IV, foi utilizada a Análise de Variâncias (ANOVA) e em seguida o teste de comparações múltiplas de Tukey. Deve-se ressaltar que, pelo fato das variáveis analisadas (AH e Colágeno IV) não apresentarem distribuição normal, foi aplicada uma transformação nos dados por meio do logaritmo.

A análise das variáveis associadas à presença de fibrose foi feita separadamente para os grupos 1 e 2.

A análise univariada avaliou a associação entre a presença de fibrose e a variável sexo, empregando-se o teste exato de Fisher, apropriado para comparação de proporções em amostras com pequenas frequências.

Para avaliar a associação entre a presença de fibrose e as variáveis numéricas foi utilizado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Optou-se por um teste não paramétrico, devido ao caráter assimétrico das variáveis analisadas.

A análise multivariada verificou associações com a presença de fibrose a partir do modelo de regressão logística binária. Para a entrada das variáveis preditoras no modelo logístico, adotou-se p-valor de 0,15 e para permanência da variável no modelo final o nível de 5% de significância.

4.5.1 Análise dos níveis de ácido hialurônico associados à fibrose

Essa análise foi feita separadamente para os grupos 1 e 2. Para definição do melhor ponto para o ácido hialurônico para previsão da ocorrência de fibrose, foi utilizada a metodologia da curva ROC. Essa curva é uma representação gráfica da sensibilidade *versus* um menos a especificidade, proporcionando a escolha do ponto de corte mais apropriado para definir um teste positivo. A área abaixo da curva varia entre zero e um e é um indicador do quão bom o índice em questão é para distinguir um teste positivo. Uma área de 0,5 (linha diagonal) indica que o índice não tem poder de predição e o valor 1 indica o perfeito poder de predição.

Foi utilizada como padrão ouro a classificação histológica METAVIR \geq F2 para definição de teste positivo (presença de fibrose significativa). Nessa análise, calculou-se a área abaixo da curva e os pontos de corte com suas respectivas sensibilidade e especificidade. Foram destacados os pontos de corte cujos valores têm maior soma de sensibilidade e especificidade.

4.5.1.1 Análise dos fatores associados aos níveis do ácido hialurônico.

Essa análise foi feita separadamente para os grupos 1 e 3. Para comparar o nível do ácido hialurônico com as demais variáveis que eram de caráter numérico, usou-se o coeficiente de correlação de Pearson.

A análise de regressão linear múltipla descreveu a relação entre as variáveis preditoras como: tempo de hemodiálise, sexo, idade e PTH e uma variável-resposta ou desfecho, neste caso o “logaritmo do ácido hialurônico”.

Ao final do processo de modelagem, todas as suposições do modelo foram testadas e foram elaborados gráficos de resíduos para validarem-se as suposições de homocedasticidade (variâncias constantes) e normalidade do modelo. Ainda para avaliar o ajuste do modelo foi utilizado o coeficiente de determinação (R^2).

4.6 Considerações éticas

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (ANEXO A). Os participantes só foram incluídos no estudo mediante assinatura no termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE, APÊNDICE B). Os pacientes submetidos à biópsia hepática antes do período do estudo também assinaram o TCLE autorizando o uso das amostras armazenadas e dos dados clínico-laboratoriais para o estudo. Os dados obtidos foram utilizados exclusivamente para os fins da pesquisa. A identidade dos pacientes participantes foi mantida em total sigilo.

5 RESULTADOS

5.1 Características sociodemográficas e epidemiológicas dos grupos 1, 2 e 3

Analisaram-se 76 pacientes, distribuídos em três grupos:

- **Grupo 1 (DRC/hepatite C):** 23 pacientes com média de idade de 43,87 anos, sendo 11 homens (47,8%) e 12 mulheres (52,2%).
- **Grupo 2 (hepatite C):** 29 pacientes com média de idade de 46 anos, sendo 18 homens (62,1%) e 11 mulheres (37,9%).
- **Grupo 3 (DRC):** 24 pacientes com média de idade de 33 anos, sendo 14 homens (58,3%) e 10 mulheres (41,7%).

Os grupos estudados foram semelhantes quanto às características sociodemográficas, diferindo apenas em relação à idade, que foi menor no grupo de portadores de DRC sem hepatite C (TAB. 1).

TABELA 1

Distribuição e frequência das características sociodemográficas e epidemiológicas dos grupos 1 (DRC/hepatite C), 2 (hepatite C) e 3 (DRC)

Características	Grupo 1 (DRC/Hepatite C) N=23	Grupo 2 (Hepatite C) N=29	Grupo 3 (DRC) N=24	p
Idade (anos) média (dp)	43,47 (± 12,37)	46,07 (± 12,39)	33,5 (± 13,52)	0,00 *
Sexo				
Masculino	11 (48,1%)	18 (62,1%)	14 (58,3%)	
Feminino	12 (51,9%)	11 (37,9%)	10 (41,7%)	0,45**
Cor				
Branca	07 (30,4%)	13 (44,8%)	12 (50,0%)	
Negra	05 (21,7%)	01 (3,4%)	02 (8,3%)	0,67**
Outra	11 (47,8%)	15 (51,7%)	10 (41,7%)	
Escolaridade (anos) mediana	6,0	8,0	8,0	0,12***
Hemotransfusão prévia	20 (87,0%)	09 (32,1%)	16 (66,7%)	0,08**
Uso de drogas ilícitas	0 (0%)	2 (8,3%)	0 (0%)	

Dp – desvio-padrão.

* Teste ANOVA ** Teste de Fisher

*** Kruskal-Wallis

5.2 Características relacionadas à doença renal crônica, nos grupos 1 e 3

As causas mais comuns da DRC foram diferentes nos dois grupos, mas com predomínio da hipertensão arterial e glomerulonefrite crônica (72,33%). A nefropatia diabética foi a causa da DRC em apenas quatro pacientes do grupo 3, não sendo observada no grupo 1. Os pacientes do grupo 1 apresentaram mais tempo de hemodiálise (com significância estatística) e maior número de pacientes previamente submetidos a transplante renal (sem significado estatístico), com posterior perda do enxerto e retorno ao tratamento dialítico. Nestes pacientes, o tempo de hemodiálise foi contado a partir do reinício do tratamento dialítico. A maioria deles apresentava hiperparatireoidismo secundário, considerando-se como valor de referência o PTH > 69 pg/mL (95,65% e 82,61%, nos grupos 1 e 3, respectivamente).

TABELA 2

Características clínico-laboratoriais dos pacientes com DRC dos grupos 1 (DRC/hepatite C) e 3 (DRC)

Características	Grupo 1 DRC/hepatite C N=23	Grupo 3 DRC N=24	Valor-p
Causas da DRC			
Hipertensão arterial	10 (45,83%)	06 (25,00%)	
Diabetes <i>mellitus</i>	0	04 (16,67%)	0,03*
Glomerulonefrite	11 (45,83%)	08 (33,33%)	
Outros ^a	02 (8,34%)	06 (25,00%)	
Tempo de hemodiálise médio em anos (dp)	9,67 ± 5,00	5,35 ± 4,69	0,00**
PTH U/mL (média)	381,04	407,57	0,48**

a- Grupo 1: rim policístico (n=1), nefropatia obstrutiva (n=1). Grupo 3: refluxo ureteral (n=2), rim policístico (n=1), nefrolitíase (n=1), doença de Berger (n=1), bexiga neurogênica (n=1)

* Teste exato de Fisher

**Teste t Student

5.3 Características clínicas dos grupos 1 (DRC/hepatite C) e 2 (DRC)

Sinais de insuficiência hepática (ascite, icterícia, telangiectasias, eritema palmar, *flapping* e ginecomastia) e esplenomegalia não foram verificados em ambos os grupos. Hepatomegalia

foi registrada em três (12,9%) pacientes do grupo 1 (DRC e hepatite C) e em apenas um (3,4%) do grupo 2 (hepatite C).

5.4 Características laboratoriais dos grupos 1 (DRC/hepatite C), 2 (hepatite C) e 3 (DRC)

Os três grupos analisados foram significativamente diferentes quanto aos valores de ALT, hemoglobina, plaquetas e albumina. Verificaram-se níveis mais baixos de ALT nos portadores de DRC, porém o grupo com DRC e hepatite C teve níveis de ALT mais altos do que os pacientes sem hepatite C. A AST e a GGT foram coletadas apenas nos grupos com hepatite C. Quanto aos genótipos do VHC, o genótipo 1 predominou em ambos os grupos com hepatite C. Apenas um paciente (4,3%) do grupo 1 apresentou genótipo 2. No grupo 2, seis (21%) apresentaram o genótipo 3 e os demais 23 (79%) o genótipo 1.

TABELA 3

Características laboratoriais dos grupos 1 (DRC/hepatite C), 2 (hepatite C) e 3 (DRC)

Características	DRC/hepatite C	Hepatite C	DRC	p
ALT U/L (mediana)	37,0	74,0	26,0	0,00
AST U/L (mediana)	29,0	53,3	-----	0,00
Hemoglobina g/dL (mediana)	11,5	15,6	10,9	0,00
Plaquetas /mm ³ (mediana)	194000	212.000	186.500	0,37
Albumina g/dL (mediana)	3,7	4,3	3,9	0,00
GGT U/L (mediana)	42,50	72,07	-----	0,65

* Teste Kruskal-Wallis.

5.5 Características ultra-sonográficas dos grupos 1 (DRC/hepatite C) e 2 (hepatite C)

Hepatomegalia foi verificada em um (4,3%) paciente do grupo 1 (DRC/hepatite C) e em três do grupo 2 (hepatite C). Sinais de hipertensão portal e esplenomegalia não foram verificados

em ambos os grupos. Sinais sugestivos de esteatose hepática não foram vistos no grupo 1, mas foram identificados em cinco (17,3%) pacientes do grupo 2.

5.6 Complicações da biópsia hepática nos grupos 1 (DRC/hepatite C) e 2 (hepatite C)

Complicações da biópsia hepática aconteceram em seis pacientes (26%) do grupo 1 - dor moderada a grave (n=3), hemobilia (n=1), hemoperitônio (n=2) - e em um (3,4%) do grupo 2 - dor moderada (n=1); (p=0,00, pelo teste exato de Fisher).

5.7 Características histológicas dos grupos (DRC/hepatite C) e 2 (hepatite C)

A média de tratos portais avaliados foi semelhante em ambos os grupos: 9,48 (dp = 3,04) no grupo 1 e 9,17 (dp = 4,69) no 2.

Esteatose hepática foi verificada em 16 pacientes (55,2%) do grupo 2 e em nenhum paciente do grupo 1. Dos seis pacientes com o VHC genótipo 3, quatro (66,7%) apresentaram esteatose hepática. A siderose hepática ocorreu em 13 participantes (56,5%) do grupo 1 e em nenhum do grupo 2. O APÊNDICE C mostra lâminas com as imagens histológicas da siderose hepática verificada (FIG. 3 e 4).

Verificou-se fibrose significativa (METAVIR \geq F2) em 13 (56,5%) pacientes do grupo 1 e em 13 (44,3%) dos do grupo 2. Apenas dois (6,8%) do grupo 2 apresentaram cirrose (METAVIR=F4) à biópsia. Não foi encontrada cirrose no grupo 1.

Em relação à atividade inflamatória pela classificação METAVIR, no grupo 1 houve os seguintes estadiamentos: A0 em seis pacientes (26,1%), A1 em 15 (65,2%), A2 em um (4,3%) e A3 também em apenas um (4,3%). No grupo 2: A0 em três pacientes (10,3%), A1 em 15 (51,7%), A2 em 10 (34,5%) e A3 em um (3,4%). A classificação METAVIR de ambos os grupos está representada nos GRAF. 1 e 2.

**Distribuição percentual dos graus de fibrose hepática nos grupos 1
(DRC/Hepatite C n=23) e 2 (Hepatite C n=29)**

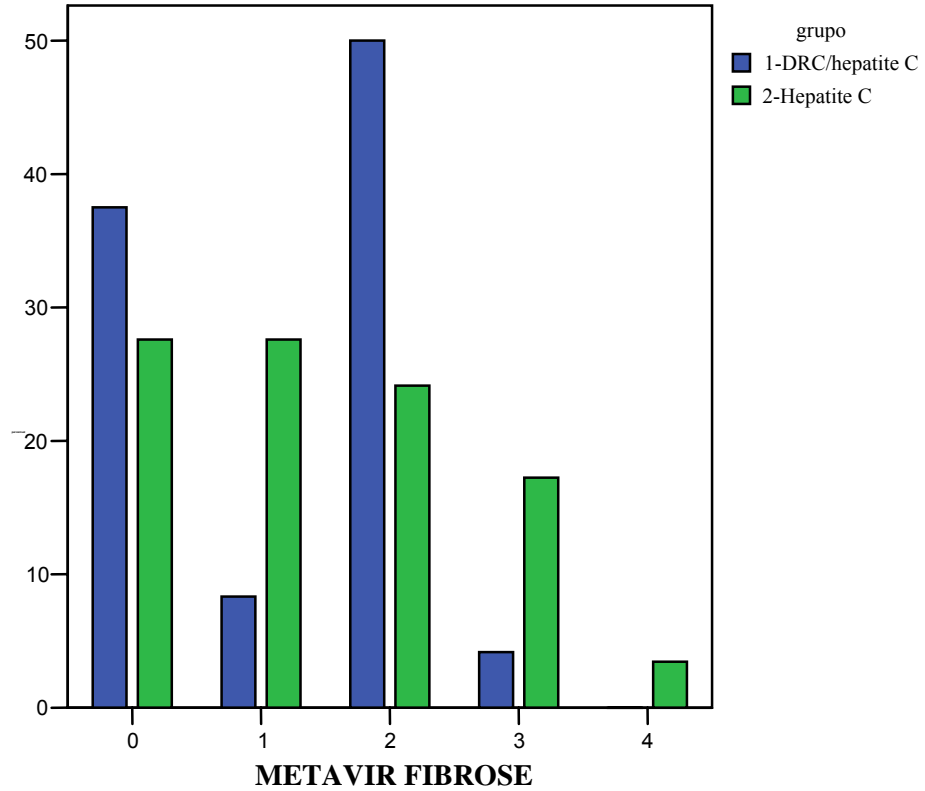


GRÁFICO 1 - Classificação METAVIR da fibrose hepática nos grupos 1
(DRC/hepatite C: N = 23) e 2 (hepatite C: N = 29).

**Distribuição percentual da atividade inflamatória nos grupos 1
(DRC/hepatite C: n=23) e 2 (hepatite C: n=29)**

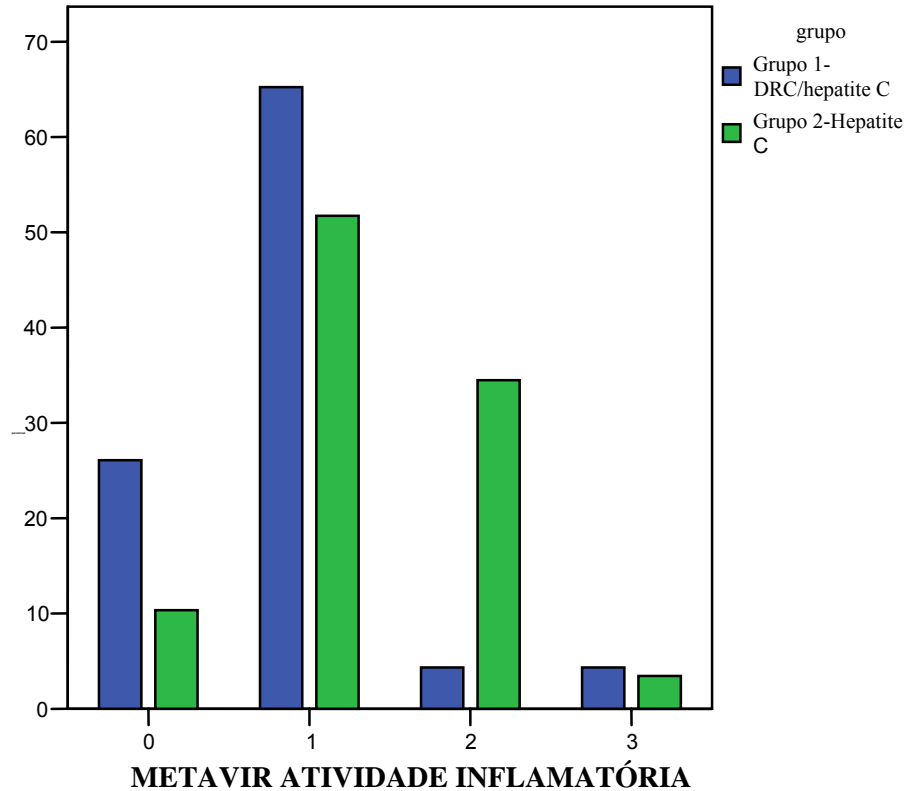


GRÁFICO 2 - Classificação METAVIR da atividade inflamatória nos grupos 1 (DRC/hepatite C: N =23) e 2 (hepatite C: N =29).

5.8 Análise dos níveis plasmáticos de ácido hialurônico e colágeno IV

Houve diferença estatisticamente significativa entre os níveis de AH e C-IV nos três grupos (valor- $p < 0,05$). A mediana do AH foi menor no grupo com hepatite C (160,8 ng/mL) e maior no grupo DRC/hepatite C (1546,3 ng/mL). Quanto ao C-IV, a mediana foi menor no grupo DRC (0 ng/mL) e bastante semelhante nos grupos DRC/hepatite C e hepatite C (em torno de 18 ng/mL) - (TAB. 4).

TABELA 4

Comparação entre os grupos 1 (DRC/hepatite C), 2 (hepatite C) e 3 (DRC), quanto aos níveis de ácido hialurônico e colágeno IV

	Ácido Hialurônico (ng/mL)			p*	Colágeno IV (ng/mL)			p*
	DRC/ hepatite C (n=23)	Hepatite C (n=29)	DRC (n=24)		DRC/ hepatite C (n=23)	Hepatite C (n=29)	DRC (n=24)	
Média	5002,8	268,3	2265,0		33,7	26,3	17,0	
Mediana	1546,3	160,8	961,8		17,6	18,6	0,0	
DP	9455,9	255,3	2750,7	<0,00	48,0	30,9	64,7	0,00
Mínimo	302,5	80,9	276,8		0,0	0,0	0,0	
Máximo	39226,3	1029,3	11894,5		157,1	113,3	318,5	

DP= Desvio-padrão

*Teste de Kruskal-Wallis

Após a transformação logarítmica para normalização dos dados, realizou-se o teste ANOVA para a comparação dos níveis do AH e C-IV. Para a variável AH, a diferença entre os três grupos continuou estatisticamente significativa, entretanto, para o C-IV não houve diferenças significativas (valor-p=0,497). Isso pode ser explicado pelo grande número de zeros nessa variável que, após a transformação logarítmica, são transformados em *missings* (TAB. 5).

TABELA 5

Resultados da ANOVA para comparação entre os grupos DRC/hepatite C, hepatite C e DRC, quanto aos níveis de ácido hialurônico e colágeno IV, após transformação logarítmica

	Log Ácido Hialurônico					Log Colágeno IV				
	Soma quadrados	gl	Média quadrados	F	p	Soma quadrados	gl	Média quadrados	F	p
Entre grupos	75,7	2,0	37,8	35,8		3,7	2,0	1,8	0,7	
Dentro grupo	76,2	72,0	1,1		<0,00	125,3	48,0	2,6		0,49
Total	151,9	74,0				129,0	50,0			

Na TAB. 6 estão apresentados os resultados do teste de comparações múltiplas para o AH, na tentativa de identificar quais são os grupos diferentes. Verificou-se diferença estatisticamente significativa entre os níveis de AH dos grupos: DRC/hepatite C e hepatite C; hepatite C e DRC. Percebeu-se que o AH foi maior no grupo DRC/hepatite C se comparado ao grupo hepatite C; e no grupo DRC se comparado ao grupo hepatite C. Entretanto, embora com medianas consideravelmente diferentes, não houve diferença significativa ($p=0,39$) entre os grupos DRC/hepatite C e DRC.

TABELA 6
Resultados do teste de comparações múltiplas (Tukey) entre os três grupos,
para os níveis de ácido hialurônico

(I) Grupo	(J) Grupo	Média das diferenças (I-J)	Erro-padrão	p
DRC/hepatite C	Hepatite C	2,2	0,3	<0,00
	DRC	0,4	0,3	0,39
Hepatite C	DRC/hepatite C	-2,2	0,3	<0,00
	DRC	-1,8	0,3	<0,00
DRC	DRC/hepatite C	-0,4	0,3	0,39
	Hepatite C	1,8	0,3	<0,00

5.9 Análise das variáveis associadas à presença de fibrose nos grupos 1 (DRC/hepatite C) e 2 (hepatite C)

5.9.1 Análise do grupo 1 (DRC/hepatite C)

Entre os casos do grupo 1, houve diferença estatisticamente significativa entre aqueles com e sem fibrose apenas para a variável AH ($p=0,01$). Os níveis de AH foram mais elevados entre os pacientes com METAVIR \geq F2 que entre os demais. Como nenhuma outra variável teve valor- $p < 0,15$, não se construiu modelo de regressão logística neste grupo.

TABELA 7
Análise da associação das variáveis epidemiológicas e laboratoriais
e a presença de fibrose para grupo 1 (DRC/hepatite C)

	METAVIR<F2 (n=10)	METAVIR≥F2 (n=13)	P
Sexo			
Masculino	3 (27,3%)	8 (72,8%)	0,21*
Feminino	7 (58,3%)	5 (41,7%)	
	medianas		
Ácido hialurônico (ng/mL)	822,1	3402,6	0,01**
Colágeno (ng/mL)	15,3	22,1	0,46**
AST (U/L)	21,0	29,0	0,55**
ALT (U/L)	35,0	36,0	0,83**
PTH	126,0	215,0	0,31**
Idade (anos)	41,5	46,0	0,44**

*Teste exato de Fisher

**Teste Mann-Whitney

5.9.2 Análise do grupo 2

A TAB. 8 mostra que houve diferença estatisticamente significativa entre os casos com e sem fibrose do grupo 2 para as variáveis AH e ALT ($p < 0,05$). Percebe-se que os níveis do AH e ALT foram mais elevados entre os pacientes com METAVIR \geq F2 na comparação com os demais. Tentou-se construir, entre os pacientes do grupo 2, um modelo logístico binário tendo como variável-resposta o METAVIR e iniciando com as co-variáveis sexo, AH, AST, e ALT (valor- $p < 0,15$). Entretanto, nenhum modelo foi ajustado na presença dessas variáveis ou combinações duas as duas. Provavelmente, devido à multicolinearidade, essas variáveis não permaneceram juntas no modelo final.

TABELA 8
Análise da associação das variáveis epidemiológicas e laboratoriais
e a presença de fibrose no grupo 2 (hepatite C)

	METAVIR<F2 (n=16)	METAVIR≥F2 (n=13)	P
Sexo			
Masculino	7 (38,9%)	11 (61,1%)	0,05*
Feminino	9 (81,8%)	2 (18,2%)	
	medianas		
Ácido hialurônico ng/mL	141,0	277,6	0,02**
Colágeno (ng/mL)	12,5	21,1	0,57**
AST (U/L)	44,0	49,0	0,07**
ALT (U/L)	56,0	91,0	0,01**
Idade (anos)	44,0	47,0	0,66**

*Teste exato de Fisher

**Teste Mann-Whitney

5.9.3 Análise dos níveis de ácido hialurônico associados à fibrose (Curva ROC)

De acordo com os resultados anteriores, verificou-se diferença estatisticamente significativa entre os grupos com e sem fibrose, no que se refere aos níveis de AH. Essa relação foi avaliada por meio da curva ROC.

5.9.3.1 Análise do grupo 1

O GRÁF. 3 mostra a curva ROC construída para o AH tentando verificar o ponto de corte que melhor distingue a ocorrência de fibrose (METAVIR_≥F2) entre os pacientes DRC/hepatite C.

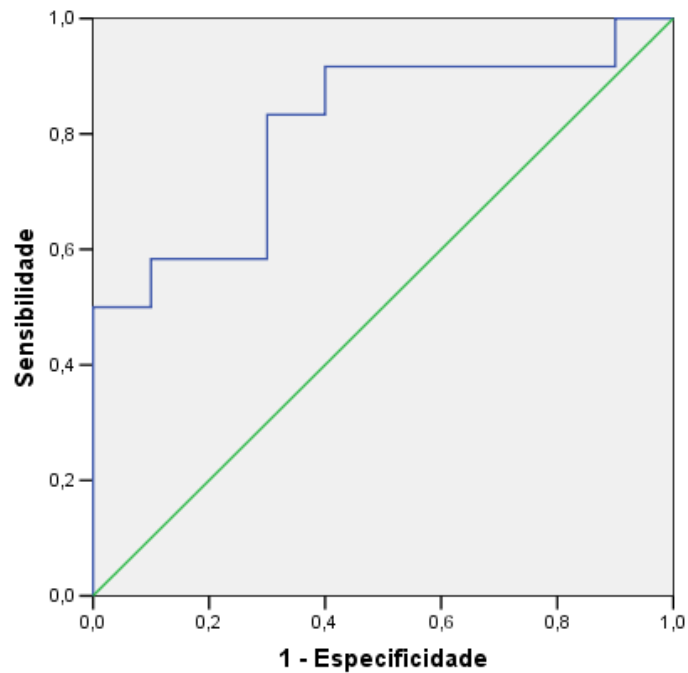


GRÁFICO 3 - Curva ROC para ácido hialurônico como preditor da ocorrência de fibrose, entre pacientes do grupo 1 (DRC/hepatite C).

A área sob a curva foi de 0,808 [IC=0,622 a 0,995], que define a acurácia do AH em detectar fibrose hepática compatível com a classificação METAVIR \geq F2 de 80,8%.

De acordo com o critério de que o melhor ponto de corte deve ser aquele com maior soma entre sensibilidade e especificidade, o valor escolhido para o grupo 1 foi de 984,8 ng/mL. Assim, níveis de AH superiores a esse valor são capazes de detectar fibrose hepática METAVIR \geq F2 com 83% de sensibilidade e 70% de especificidade. O ponto de corte mínimo do AH foi definido pela TAB. 15 do APÊNDICE D, que mostra todos os possíveis pontos de corte para a medida do AH, com suas respectivas sensibilidade e especificidade.

5.9.3.2 Análise do grupo 2

Também para os pacientes do grupo 2 (hepatite C sem DRC) a curva ROC foi construída para o AH para verificar o ponto de corte que melhor detecta a presença de fibrose METAVIR \geq F2 (GRÁF. 4).

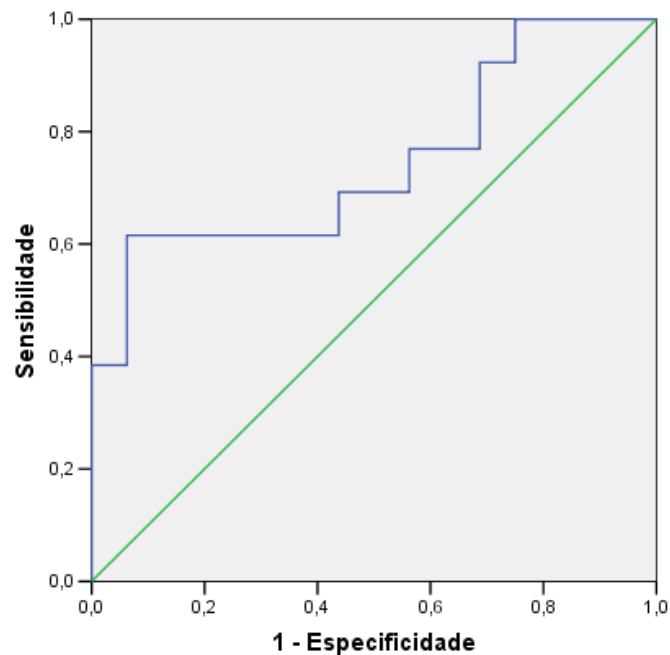


GRÁFICO 4 - Curva ROC para ácido hialurônico como preditor da presença de fibrose, entre os pacientes do grupo 2 (hepatite C sem DRC).

A área sob a curva ROC foi de 0,745 [IC=0,555 a 0,935]. Para detecção de fibrose hepática METAVIR \geq F2, o valor de AH=222,3 ng/mL apresentou 62% de sensibilidade e 94% de especificidade (TAB. 16, APÊNDICE D).

5.9.4 Análise dos fatores associados aos níveis do ácido hialurônico

5.9.4.1 Análise do grupo 1 (DRC/hepatite C)

Como mostrado anteriormente, o AH também se associou à variável METAVIR categorizada em menor ou maior ou igual a F2. Essa variável foi utilizada das duas formas (categorizada e ordinal) no modelo linear.

O logaritmo do AH mostrou-se correlacionado significativamente apenas com os níveis do METAVIR ordinal (correlação de Pearson=0,53, p=0,01). Houve correlação limítrofe com a idade (correlação de Pearson=0,44, p=0,06) - (TAB. 9).

TABELA 9

Correlação entre log ácido hialurônico, idade, tempo de hemodiálise, paratormônio (PTH) e classificação histológica METAVIR no grupo 1 (DRC/hepatite C)

Variável	Coefficiente de correlação	p
Idade	0,41	0,06
Tempo de hemodiálise (anos)	-0,06	0,81
PTH	0,38	0,12
METAVIR (ordinal)	0,53	0,01

Foram testados modelos de regressão linear, tendo como resposta o log AH no grupo 1, e com as combinações das variáveis explicativas. Entretanto, nenhuma combinação de co-variáveis mostrou-se estatisticamente significativa no modelo final (TAB. 10 e 11).

TABELA 10

Modelos de regressão linear, para avaliar fatores associados ao log ácido hialurônico, utilizando como co-variáveis os níveis de METAVIR no grupo 1 (DRC/hepatite C)

Co-variáveis	Modelo 1*	Modelo 2*	Modelo 3*	Modelo 4*	Modelo 5*	Modelo 6*	Modelo 7*
Idade	0,25 (0,263)	0,26 (0,239)	0,03 (0,079)	0,33 (0,085)	--	--	--
PTH	0,14 (0,558)	0,20 (0,380)	--	--	0,21 (0,366)	0,18 (0,053)	0,39 (0,142)
Níveis METAVIR	0,43 (0,076)	,39 (0,091)	0,52 (0,051)	0,47 (0,018)	0,48 (0,045)	0,51 (0,469)	--
Tempo de hemodiálise (anos)	0,10 (0,663)	--	--	--	--	-0,05 (0,836)	-0,10 (0,708)
Sexo	-0,39 (0,113)	-0,32 (0,131)	-0,54 (0,273)	--	--	--	--
R² ajustado	0,36	0,37	0,33	0,32	0,26	0,22	0,03

*Beta padronizado (valor-p)

TABELA 11

Modelos de regressão linear ajustados, para avaliar fatores associados aos níveis de ácido hialurônico utilizando como covariável METAVIR categorizado (\geq F2) no grupo 1 (DRC/hepatite C)

Co-variáveis	Modelo 1*	Modelo 2*	Modelo 3*	Modelo 4*
Idade	0,29 (0,205)	0,28 (0,190)	0,35 (0,065)	0,34 (0,067)
Paratormônio (PTH)	0,12 (0,625)	0,17 (0,545)	--	--
METAVIR\geqF2	0,45 (0,072)	0,41 (0,080)	0,43 (0,037)	0,50 (0,011)
Tempo de hemodiálise (anos)	0,04 (0,854)	--	--	--
sexo	-0,33 (0,180)	-0,29 (0,174)	-0,19 (0,331)	--
R² ajustado	0,37	0,37	0,38	0,35

*Beta padronizado (valor-p)

Ao se avaliarem separadamente o PTH e o log do AH nos pacientes do grupo 1 (DRC/hepatite C) com fibrose hepática METAVIR<F2, verificou-se que ambos se correlacionaram significativamente (correlação de Pearson=0,915, $p<0,00$), conforme GRÁF. 5. Entretanto, como já constatado nos modelos anteriores, quando associadas as demais co-variáveis a outros graus da classificação METAVIR, essa correlação se perde.

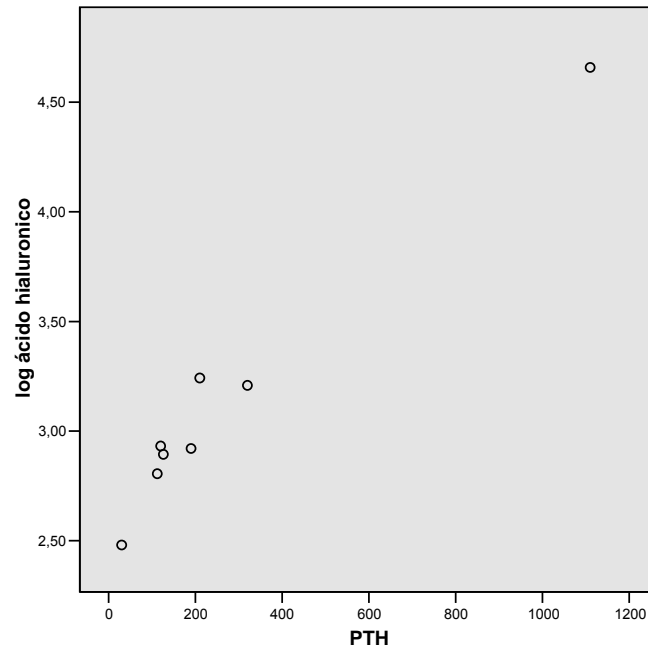


GRÁFICO 5 - Dispersão entre o log do ácido hialurônico e o paratormônio (PTH U/mL) nos pacientes do grupo 1 (DRC/hepatite C) com METAVIR <F2.

5.9.4.2 Análise do grupo 3 (DRC)

O logaritmo do AH mostrou-se correlacionado significativamente apenas com o tempo de diálise (correlação de Pearson=0,577, $p=0,00$) - (TAB. 12).

TABELA 12

Correlação entre log ácido hialurônico e idade, tempo de hemodiálise e paratormônio (PTH), no grupo 3 (DRC)

	Coefficiente de correlação	p
Idade	0,319	0,13
Tempo de hemodiálise diálise (anos)	0,577	0,00
PTH	0,169	0,44

Foram testados modelos de regressão linear tendo como resposta o log AH no grupo 3 (DRC) com as combinações das variáveis explicativas. Os modelos estão expostos na TAB. 13.

TABELA 13

Modelos de regressão linear ajustados para log AH, no grupo (DRC)

Co-variáveis	Modelo 1*	Modelo 2*	Modelo 3*	Modelo 4*
Idade	0,45 (0,006)	0,41 (0,012)	0,36 (0,043)	--
Paratormônio	0,23 (0,117)	---	0,21 (0,219)	0,16 (0,394)
Tempo de hemodiálise (anos)	0,47 (0,005)	0,48 (0,005)	0,58 (0,002)	0,57 (0,005)
Sexo feminino	-0,43 (0,010)	-0,41 (0,015)	---	--
R² ajustado	0,57	0,53	0,40	0,29

*Beta padronizado (valor-p).

Como mostrado na TAB. 13, o modelo final de regressão linear para as variáveis do grupo 3 (DRC) foi o modelo 2, no qual todas as co-variáveis foram significativas e com alto R2 (0,53). Assim, as variáveis que podem prever os níveis do AH entre os pacientes desse grupo são: idade, tempo de diálise e sexo. De acordo com os valores de Beta, com o aumento de um ano na idade houve aumento de 0,41 no log AH. Além disso, com o aumento de um ano no tempo de diálise houve aumento de 0,48 no log AH. Por fim, pacientes do sexo feminino tiveram redução de 0,41 no log AH se comparados aos do sexo masculino. As

suposições do modelo 2 de regressão linear foram testadas e mostraram-se válidas, visto que seus resíduos tiveram variâncias constantes, dispendo-se aleatoriamente em torno de zero, além de apresentarem distribuição normal.

Por último, testou-se a associação entre o PTH e tempo de hemodiálise entre pacientes do grupo 1 (DRC/hepatite C) e grupo 3 (DRC) separadamente. Entretanto, nenhuma relação foi detectada, como mostra a TAB. 14.

TABELA 14
Correlação entre tempo de hemodiálise e o paratormônio (PTH)
nos grupos 1 (DRC/hepatite C) e 2 (DRC)

	Coefficiente de correlação	p
Grupo 1	0,192	0,446
Grupo 3	0,022	0,921

6 DISCUSSÃO

O AH foi um bom marcador da presença da fibrose hepática significativa (METAVIR \geq F2) no grupo de portadores de DRC e hepatite C, com acurácia de 80.8%. Nos pacientes com hepatite C sem DRC, o AH também detectou fibrose hepática significativa, embora com menor acurácia (74,5%). Em ambos os grupos o C-IV não se mostrou bom marcador de fibrose hepática. A importância destes achados consiste na possibilidade do uso do AH como marcador não-invasivo de fibrose hepática nos portadores de DRC, nos quais se verifica risco mais alto de complicações hemorrágicas pela biópsia hepática.

Apesar da boa relação do aumento do AH com a presença de fibrose significativa, características peculiares dessa população devem ser observadas. A própria DRC e o processo crônico inflamatório devido à hemodiálise e suas conseqüentes alterações metabólicas podem interferir nos índices de AH e prejudicar sua função como marcador de fibrose hepática.

Os níveis mais altos de AH nos portadores de DRC confirmam dados prévios da literatura (DE MEDINA *et al.*, 1998; FURUSYO *et al.*, 2000; STENVINKEL *et al.*, 1999). Entretanto, observou-se que, além da possibilidade do processo inflamatório e diminuição do *clearance* renal do AH, outros aspectos como o tempo de hemodiálise, a idade e o sexo também se associaram significativamente ao aumento do AH nesses pacientes. Assim, indivíduos com DRC e hepatite C crônica, que apresentam longo período de hemodiálise, idade avançada e do sexo masculino devem ter seus níveis de AH avaliados com cautela, quando relacionados ao grau de fibrose hepática. Apesar da presença desses fatores nos pacientes com fibrose hepática pela hepatite C, os seus níveis de AH foram ainda mais altos e capazes de detectar a presença de fibrose significativa, reafirmando o valor dessa substância como marcador de fibrose hepática, também neste grupo.

Alguns estudos experimentais (MIDURA; EVANKOS; HASCALL, 1994, MIDURA *et al.*, 2003) têm mostrado o papel do PTH na estimulação de células ósseas, como osteoclastos e osteoblastos, na produção de AH. Como a grande maioria dos pacientes portadores de DRC apresenta hiperparatireoidismo secundário, este fator deve ser analisado individualmente.

Um AH elevado nesses pacientes poderia refletir as alterações do *turnover* ósseo secundário ao hiperparatireoidismo e as conseqüências de um processo inflamatório crônico pela hemodiálise e não somente o grau de fibrose hepática. Entretanto, neste estudo, os níveis de PTH se correlacionaram com os níveis de AH apenas nos pacientes sem fibrose significativa. Ao se analisar o PTH em conjunto com as demais variáveis e sem categorização da classificação METAVIR, esta associação não foi verificada em nenhum dos modelos de regressão logística testados.

Os níveis mais baixos de AH no sexo feminino também podem estar relacionados ao metabolismo ósseo, que sofre influência do estógeno. Esse hormônio atua diminuindo a reabsorção óssea por induzir o apoptose dos osteoclastos (HUGHES *et al.*, 1996). Além disto, o estrógeno se liga aos receptores dos osteoblastos e inibe a liberação de fatores estimuladores dos osteoclastos (SUDA *et al.*, 1995). A inibição dos osteoclastos diminui a reabsorção óssea e pode se associar à menor liberação do AH por essas células.

O C-IV, ao contrário, não se mostrou elevado nos pacientes com DRC sem hepatite C, conforme achados de Furusyo *et al.* (2000) que, à semelhança do AH, detectaram níveis mais altos de C-IV nos pacientes com DRC quando comparados aos com hepatite C, sem DRC. Contudo, seus níveis foram mais altos no grupo com DRC e hepatite C. Embora esses níveis elevados possam se correlacionar com a fibrose hepática, na amostra estudada não ocorreu esta associação com significância estatística. Isto também aconteceu no grupo com hepatite C sem DRC. Esses dados não confirmam os achados de estudos prévios em que o C-IV se mostrou bom marcador de fibrose hepática (HAHN *et al.*, 1980; IUSHCHUK *et al.*, 2005; MURAWAKI *et al.*, 2001; NINOMIYA *et al.*, 1998; QIU *et al.*, 2004; UENO *et al.*, 1992).

Os níveis do AH e do C-IV foram diferentes nos três grupos estudados. As medianas do AH no grupo portador de hepatite C sem DRC foram muito mais baixas do que nos pacientes com DRC e hepatite C (160,8 ng/mL e 1546,3 ng/mL, respectivamente). Entretanto, ao se analisarem separadamente os níveis do AH nos grupos com DRC, não se verificou diferença estatisticamente significativa. Apesar disto, os níveis de AH foram mais altos nos pacientes com hepatite C (mediana = 1564,8) do que no grupo sem hepatite C (mediana = 961,8 ng/mL). Estes achados confirmam os dados da literatura, que mostra a influência da DRC e da hepatite C na elevação do AH (FURUSYO *et al.*, 2000).

Os grupos estudados foram estatisticamente diferentes quanto à idade, que foi menor no grupo com DRC sem hepatite C. Este grupo também apresentou menos tempo de hemodiálise, quando comparado aos pacientes com DRC e hepatite C. O maior período em diálise e a mais alta média de idade dos pacientes com hepatite C podem refletir sua maior exposição aos fatores de risco de infecção. Quanto maior o tempo em tratamento dialítico, maior é a exposição à transmissão nosocomial do VHC (YEN; KEEFFE; AHMED, 2003).

O uso recente de eritropoetina (EPO) para tratamento da anemia associada à uremia reduziu a necessidade de se transfundirem os pacientes em hemodiálise. Embora sem significância estatística, o número de hemotransfusões foi menor nos pacientes com DRC sem hepatite C. O elevado número de hemotransfusões nos portadores de DRC com hepatite C pode ser explicado pelo maior tempo de hemodiálise verificado nesses indivíduos e o maior número de transplantes renais nesse grupo. Além disso, esses pacientes foram mais expostos a hemotransfusões antes da testagem sorológica para hepatite C nos bancos de sangue.

Os pacientes com DRC e hepatite C apresentaram graus semelhantes de fibrose hepática significativa, quando comparados aos portadores de hepatite C. Verificou-se elevada incidência (56%) de siderose hepática nos pacientes com DRC e hepatite C. Este aspecto reflete possível sobrecarga de ferro administrada a esses pacientes (DE PAULA FARAH *et al.*, 2007). A esteatose hepática, ao contrário, predominou no grupo sem DRC, no qual não se observou siderose.

Maior incidência de complicações secundárias à biópsia hepática também foi observada nos pacientes em hemodiálise, quando comparados aos sem DRC (26% *versus* 3,4%, respectivamente). Mas vale lembrar que todos os tipos de complicações foram consideradas e não apenas as mais graves ou hemorrágicas.

O tamanho da amostra e a predominância de formas leves da hepatite C crônica podem ter sido fatores limitantes do estudo. Apesar de a maioria dos pacientes com hepatite C (com ou sem DRC) apresentar fibrose significativa (METAVIR \geq F2), foi baixo o número de pacientes com fibrose avançada (METAVIR \geq F3) em ambos os grupos. Esta limitação não impediu a demonstração de associação entre os níveis de AH e o grau de fibrose hepática, mas pode ter prejudicado a avaliação do C-IV.

O predomínio de formas leves da doença pode ter sido um viés de seleção dos pacientes, explicado pelo local onde o estudo foi feito. O CTR-DIP é um ambulatório que recebe grande quantidade de pacientes assintomáticos, principalmente por ser referência dos bancos de sangue com inaptidão sorológica. Por outro lado, os pacientes portadores de DRC, de modo geral, têm menos tempo de progressão da hepatite C, com altas taxas de morbimortalidade por outras causas que não as complicações da infecção (RAMPINO *et al.*, 1999).

A heterogeneidade do tempo entre a coleta das amostras de sangue, a realização da biópsia e as dosagens dos marcadores também pode ter sido uma limitação do estudo. Entretanto, foram incluídos apenas aqueles cuja coleta de amostra de sangue foi feita num período não superior a um ano da biópsia hepática. Como o fator correlacionado com as dosagens foi a fibrose hepática, cuja progressão é lenta, acredita-se que este fator não tenha comprometido a análise de forma significativa.

Este estudo apresenta relevância por ter mostrado que o AH, já bem definido como marcador de fibrose na hepatite C crônica, também pode ser útil nos pacientes com DRC em hemodiálise. Assim, abrem-se precedentes para que novos estudos com número maior de pacientes possam validar esta investigação.

7 CONCLUSÕES

- Os três grupos estudados foram semelhantes quanto às características sociodemográficas (sexo, cor, escolaridade, história prévia de hemotransusão e uso de drogas ilícitas). A idade foi menor nos portadores de doença renal crônica (DRC) sem hepatite C, o que pode refletir menos exposição aos fatores de risco para a infecção pelo vírus da hepatite C nesses pacientes.
- Os níveis de ácido hialurônico (AH) foram significativamente mais altos nos portadores de DRC e hepatite C, o que confirma o valor do AH para identificar a fibrose hepática nos portadores de hepatite C em hemodiálise.
- O AH foi bom marcador de fibrose hepática significativa (METAVIR \geq F2), tornando-se útil na indicação do tratamento da hepatite C nos hemodialisados.
- O colágeno IV não foi bom marcador de fibrose hepática nos pacientes com DRC e hepatite C na amostra estudada.
- Não houve associação entre idade, sexo, cor, escolaridade, história prévia de hemotransusão e uso de drogas ilícitas e os graus de fibrose hepática no grupo com DRC/hepatite C.
- Nos pacientes portadores de DRC o tempo de hemodiálise e a idade se associaram a níveis mais altos de AH. O sexo feminino se associou aos níveis mais baixos de AH e é possível que o estrogênio diminua a reabsorção óssea nestas pacientes.

8 PROPOSIÇÕES

- Estudos envolvendo maior número de casos devem ser realizados para confirmar a importância do AH como marcador de fibrose hepática em portadores de DRC e hepatite C crônica em hemodiálise.
- Estudos com a avaliação da influência do PTH na dosagem do AH devem ser conduzidos, visto que este hormônio encontra-se frequentemente elevado em portadores de DRC e pode, indiretamente, interferir na avaliação do grau de fibrose hepática.
- O efeito do estrogênio no metabolismo ósseo e suas possíveis implicações nos níveis do AH devem ser pesquisados. Esses estudos poderiam avaliar se esse hormônio realmente contribui para os níveis mais baixos de AH verificados no sexo feminino.

REFERÊNCIAS

- AFDHAL, N.H.; NUNES, D. Evaluation of liver fibrosis: a concise review. **Am J Gastroenterol**, Bethesda: p.1160-1174, 2004
- AHMAD, A. *et al.* Transjugular liver biopsy in patients with end-renal disease. **J Vasc Interv Radiol**, Saint Louis, v.15:257-260, 2004.
- ALLANDER, T. *et al.* Hepatitis C transmission in a hemodialysis unit: molecular evidence for spread of virus among patients not sharing equipment. **J Med Virol**, [s.l.], v.43: p.415-419, 1994.
- ALTER, H.J.; SEEFF, L.B. Recovery, persistence, and sequelae in hepatitis C virus infection: a perspective on long term outcome. **Semin Liver Dis**, New York, v.1: p.17-35, 2000.
- BASSIT, L. *et al.* Chronic hepatitis C vírus infection in brazilian patients: association with genotypes, clinical parameters and response to long term alpha interferon therapy. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, São Paulo, v.41: p.183-189, 1999.
- BATALLER R., BRENNER DA. Liver fibrosis. **J Clin Invest**, Thorofare, v.115, n.2: p.209-18, 2005.
- BISSEL, D.M. Hepatic fibrosis as wound repair: A progress report. **J Gastroenterol**, Philadelphia, v.33: p-295-302,1998.
- BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde/ Ministério da Saúde. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para o tratamento da hepatite viral crônica C**. 2007.
- BRAVO, A.A.; SHETH, S.G.; CHOPRA, S. Current Concepts: liver Biopsy. **N Engl J Med**, Seattle, v.344: p.495-500, 2001.
- BRUCHFELD, A. *et al.* Pegylated interferon and ribavirin treatment for hepatitis C in haemodialysis patients. **J Viral Hepatitis**, Boxtel, v.13: p.316-321, 2006.
- BUSEK S. C. U. **Estudo da prevalência e genotipagem do vírus da hepatite C em pacientes em hemodiálise de Belo Horizonte, Minas Gerais, 2000**. 2000. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas, Área de concentração: Biologia de Microrganismos) – Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal, Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto.
- CADRANEL, J.F.; RUFAT, P.; DEGOS, F. Practices of liver biopsy in France: Results of a Prospective Nationwide Survey. **Hepatology**, Philadelphia, v.32, n.3: p.477-81, 2000.
- CAMPIOTTO, S. *et al.* Geographic distribution of hepatitis C vírus genotypes in Brazil. **Braz J Méd Biol Res**, São Paulo, v.38: p.41-49, 2005.

CARAMELO, C. *et al.* Liver disease patterns in hemodialysis patients with antibodies to hepatitis C vírus. **Am J Kid Dis**, Chicago, v.22: p.822-828, 1993.

CARAMELO, C. *et al.* Undiagnosed hepatitis C virus infection in hemodialysis patients: value of HCV RNA and liver enzyme level. **Kid Int**, Massachusetts, v.50: p.2027-2031, 1996.

CARMO, R.A. *et al.* Hepatitis C vírus infection among Brazilian hemophiliacs: a virological, clinical and epidemiological study. **Braz J Med Biol Res**, São Paulo, v.35: p.589-598, 2002.

CARNEIRO, M.A. *et al.* Hepatitis C prevalence and risk factors in hemodialysis patients in Brazil: a survey by polimerase chain reaction and serological. **Membros do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.96: p.765-769, 2001.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. **MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report**, Atlanta, 47: RR-19: p.1-40, 1998.

CHOO, Q.L. *et al.* Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. **Science**, Washington, v.244: p.359-362, 1989.

COTLER, S.J. *et al.* Characteristics of hepatitis C in renal transplantation candidates. **J Clin Gastroenterol**, New York, v.35: p.191-195, 2002.

CRAWFORD, D.R.; REYNA, R.S.; WWINER, M.W. Effects on in vivo and *in vitro* dialysis on plasma transaminase activity. **Nephron**, Berlin, v.22: p.418-422, 1978.

DAWSON, M.A. *et al.* Transjugular liver biopsy is a safe and effective intervention to guide management for patients with a congenital bleeding disorder infected with hepatitis C. **Int Med J**, London, v.35: p.556-559, 2005.

DE MEDINA, M. *et al.* Detection of anti-hepatitis C virus antibodies in patients undergoing dialysis utilizing a hepatitis C virus 3.0 assay: correlation with hepatitis C virus RNA. **J Lab Clin Med**, [s.l.], v.132: p.73-75, 1998.

DE PAULA FARAH, K. **Hepatite C em portadores de insuficiência renal crônica em tratamento hemodialítico: estudo clínico, epidemiológico e laboratorial.** Tese de doutorado (Curso de pós-graduação em medicina tropical, área de concentração medicina tropical) Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2004.

DE PAULA FARAH, K. *et al.* Hepatitis C, HCV genotypes and hepatic siderosis in patients with chronic renal failure on haemodialysis in Brazil. **Nephrol Dial Transplant**, Berlin, 2007.

DOTTA, M.A. *et al.* Métodos molecular e imunológico no diagnóstico da hepatite C em pacientes em hemodiálise. **J Br Nefrol**, Curitiba, v.25: p.86-94, 2003.

ENGSTRÖM-LAURENT, A.; LOOF, L. Increased serum levels of hyaluronate in liver disease. **Hepatology**, Philadelphia, v.5: p.638-642, 1985.

ESPINOSA, M.; RODRIGUEZ, M.; MARTÍN-MALO, A. Interferon therapy in hemodialysis patients with chronic hepatitis C infection induces a high rate of long-term sustained virological and biochemical response. **Clin Nephrol**, Mexico, v.55: p.220-226, 2001.

FABRIZI, F. *et al.* Nosocomial transmission of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients: Clinical perspectives. **Int J Artif Organs**, Oslo, v.23, p.805-816, 2000.

FABRIZI, F.; POORDAD, F.F.; MARTIN, P. Hepatitis C infection and the patient with end-stage renal disease. **Hepatology**, Philadelphia, v.36: p.3-10, 2002.

FABRIZI, F. *et al.* Meta-analysis: Interferon for the treatment of chronic hepatitis C in dialysis patients. **Aliment Pharmacol Ther**, London, v.18: p.1071-1081, 2003.

FABRIZI, F.; MARTIN, P.; BUNNAPRADIST, S. Treatment of chronic viral hepatitis in patients with renal disease. **Gastroenterol Clin N Am**, Washington, v.33: p.655-670, 2004.

FARCI, P. *et al.* The outcome of acute hepatitis C predicted by the evolution of the viral quasispecies. **Science**, Washington, v.288: p.339-334, 2000.

FISSELL, RB.; BRAGG-GRESHAM, JL.; WOODS, JD.; JADOUL, M.; GILLESPIE, B.; HEDDERWICK, AS.; PAYNER, HC.; GREENWOOD, RN.; AKIBA, T.; YOUNG, EW. Patterns of hepatitis C prevalence and seroconversion in hemodialysis units from three continents: the DOPPS. **Kid Int**, Massachusetts, v.65: p.2335-2342

FRANÇA, J.L. *et al.* **Manual para normalização de publicações técnico-científicas**. Belo Horizonte: UFMG, 8a. edição, 2007.

FRASER J.R.; LAURENT, T.C.; LAURENT, U.B.G. Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. **J Int Med**, London, v.242, n.1: p.27-33, 1997.

FRIEDMAN, S.L. Mechanisms of Disease: mechanisms of hepatic fibrosis and therapeutic implication. **Nat Clin Pract**, Oxford, v.1, n.2: p.98-105, 2004.

FURUSYO, N. *et al.* Liver damage in hemodialysis patients with hepatitis C virus viremia: A prospective 10- year study. **Dig Dis Sci**, New York, v.45: p.2221-2228, 2000.

GERDIN, B.; HALLGREN, R. Dynamic role of hyaluronan (HYA) in connective tissue activation and inflammation. **J Int Med**, London, v.242, n.1: p.49-55, 1997.

GIBB, D.M.; GOODALL, R.L.; DUNN, D.T. Mother-to-child transmission of hepatitis C virus: evidence for preventable peripartum transmission. **Lancet**, London, v.356: p.904-907, 2000.

GONZÁLES-RONCERO, F. *et al.* Outcome of kidney transplant in chronic hepatitis C virus patients: effect of pretransplantation interferon-alpha 2b monotherapy. **Transplant Proceed**, [s.l.], v.35: p.1745-1747, 2003.

GONZÁLEZ-PERALTA, R.P. *et al.* Clinical implications of viral quasispecies in chronic hepatitis C. **J Med Virol**, [s.l.], v.49: p.242-247, 1996.

GRETCHER, S. *et al.* Molecular epidemiology of an outbreak of HCV in a hemodialysis unit: Direct sequencing of HCV-HVR-1 as an appropriate tool for phylogenetic analysis. **J Med Virol**, [s.l.], v.60: p.152-158, 2000.

GUECHOT, J. *et al.* Diagnostic accuracy of hyaluronan and type III procollagen amino-terminal peptide serum assays as markers of liver fibrosis in chronic viral hepatitis C evaluated by ROC curve analysis. **Clin Chem**, Washington, v.42, n.4: p.558-63, 1996.

GUH, J.Y. *et al.* Impact of decreased serum transaminase levels on the evaluation of viral hepatitis in hemodialysis patients. **Nephron**, Berlin, v.69: p.459-465, 1995.

HAHN, E. *et al.* Distribution of basement membrane proteins in normal and fibrotic human liver: collagen type IV, laminin and fibronectin. **Gut**, New York, v.21: p.63-71, 1980.

HALFON, P. *et al.* Accuracy of hyaluronic acid level for predicting liver fibrosis stages in patients with hepatitis C virus. **Comp Hepatol**, N Jersey, v.11, n.4: p.6, 2005.

HUGHES, D. *et al.* Estrogen promotes apoptosis of murine osteoclasts mediated by TGF-beta. **Nat Med**, v.2: p.1132-1136, 1996.

ISHAK, K.G. *et al.* Histological grading and staging of chronic hepatitis. **J Hepatol**, Melbourne, v.22: p.696-99, 1995.

IUSHCHUK, N.D. *et al.* Diagnostic significance of type IV collagen and hyaluronic acid in the serum of patients with chronic hepatitis C for staging hepatic fibrosis. **Ter Arkh**, Alexandria, v.77, n.4: p.50-55, 2005.

JADOUL, M. Epidemiology and mechanisms of transmission of the hepatitis C virus in hemodialysis. **Nephrol Dial Transplant**, Berlin, v.15: p.S39-S41, 2000.

KAYSEN, G.A. *et al.* Determinants of albumin concentration in hemodialysis patients. **Am J Kidney Dis**, Chicago, v.29: p.658-668, 1997.

KEFALIDES, N.A. Structure and biosynthesis of basement membranes. **Int Rev Connect Tis Res**, [s.l.], v.6: p.63-104, 1973.

KELLER, T.B.; AFDHAL, N. Noninvasive assessment of liver fibrosis. **Clin Liver Dis**, v.9, [s.l.], n.4: p.667-683, 2005.

KOKOGLU, O.F.; UCMAN, H.; HOSOGLU, S. Efficacy and tolerability of pegylated-interferon alpha-2a in haemodialysis patients with chronic hepatitis C. **J Gastroenterol Hepatol**, Philadelphia, v.21: p.575-580, 2006.

KORETZ, R.L.; ABBEY, H.; CLOEMAN, E. Non A, non B post transfusion hepatitis: looking back in the second decade. **Ann Intern Med**, Philadelphia, v.119: p.110-115, 1993.

LAURENT, T.C.; LAURENT, U.B.; FRASER, J.R. Functions of hyaluronan. **Ann Rheum Dis**, London, v.54: p.429-432, 1995.

LEBREC, D. *et al.* Transvenous liver biopsy. An experience based on 1000 hepatic tissue samplings with this procedure. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.83: p.338-340, 1982.

LERUEZ-VILLE, M.; KUNSTMANN, J.M.; ALMEIDA, M. Detection of hepatitis C virus in the semen of infected men. **Lancet**, London, v.356: p.42-43, 2000.

MANNS, P.M.; McHUTCHISON, J.C.; GORDON, S. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C: a randomized trial. **Lancet**, London, 2001.

MARCELLIN, P. Hepatitis C: clinical spectrum of the disease. **J Hepatol**, Melbourne, v.31: p.9-16, 1999.

MARTINS, J.R. *et al.* Practical determination of hyaluronan by a new noncompetitive fluorescence-based assay on serum of normal and cirrhotic patients. **Anal Biochem**, San Diego, v.319: p.65-72, 2003.

MATTSON, L.; SONNERBOG, A.; WEILAND, O. Outcome of acute asymptomatic non A, non B hepatitis: a 13 year follow up study of hepatitis C virus markers. **Liver**, [s.l.], v.13: p.2748, 1993.

MAUSER-BUSCHOTEN, E.P.; BRESTERS, D.; VAN DRIMMELEN, A.A. Hepatitis C infection and viremia in Dutch hemophilia patients. **J Med Virol**, [s.l.], v.45: p.241-246, 1995.

McGILL, D.B. *et al.* A 21- year experience with major hemorrhage after percutaneous liver biopsy. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.99: p.1396-1400, 1990.

McHUTCHISON, J.G. *et al.* Measurement of serum hyaluronic acid in patients with chronic hepatitis C and its relationship to liver histology. Consensus Interferon Study Group. **J Gastroenterol Hepatol**, Philadelphia, v.15, n.8: p.945-51, 2000.

MEMON, M.I.; MEMON, M.A. Hepatitis C: an epidemiological review. **J Viral Hepatitis**, Baxtel, v.9: p.84-100, 2002.

MERICAN, I. *et al.* Clinical, biochemical and histological features in 102 patients with chronic hepatitis C virus infection. **Quart J Med**, [s.l.], v.86: p.119-125, 1993.

MEYERS, C.M. *et al.* Hepatitis C and renal disease: an update. **Am J Kid Dis**, Chicago, v.42: p.631-657, 2003.

MIDURA, R.J.; EVANKOS, S.P.; HASCALL, V.C. Parathyroid hormone stimulates hyaluronan synthesis in a osteoblast-like cell line. **J Biolog Chem**, Baltimore, v.269, n.18: p.13200-13206, 1994.

MIDURA, R.J. *et al.* Parathyroid hormone rapidly stimulates hyaluronan synthesis by periosteal osteoblasts in the tibial diaphysis of the growing rat. **J Biolog Chem**, Baltimore, v.278, n.51: p.51462-51468, 2003.

MOHAMADZADEH, M. *et al.* Proinflammatory stimuli regulate hyaluronan expression and CD44/HA – dependent primary adhesion. **J Clin Invest**, Thorofare, v.101: p.97-108, 1998.

MOUSA, D.H. *et al.* Alpha-interferon with ribavirin in the treatment of hemodialysis patients with hepatitis C. **Transplant Proceed**, [s.l.], v.36: p.1831-1834, 2004.

MURAWAKI, Y. *et al.* Diagnostic value of serum type IV collagen test in comparison with platelet count for predicting the fibrotic stage in patients with chronic hepatitis C. **J Gastroenterol Hepatol**, Philadelphia, v.16, n.7: p.777-81, 2001.

NAKAYAMA, A. *et al.* Prognosis of anti-hepatitis C virus antibody-positive patients on regular hemodialysis therapy. **J Am Soc Nephrol**, Cakut, v.11: p.1896 -902, 2000.

NEUBAUER, K.; SAILE, B.; RAMADORI, G. Liver fibrosis and altered matrix synthesis. **Can J Gastroenterol**, Toronto, v.15, n.3: p.187-93, 2001.

NINOMIYA, T. *et al.* Clinical significance of serum hyaluronic acid as a fibrosis marker in chronic hepatitis C patients treated with interferon-alpha: histological evaluation by a modified histological activity index scoring system. **J Gastroenterol Hepatol**, Philadelphia, v.13, n.1: p.68-74, 1998.

OKAMOTO, M.; NAGATA, I.; MURAKAMI, J. Prospective reevaluation of risk factors in mother-to-child transmission of hepatitis C virus: high viral load, vaginal delivery, and negative anti-NS4 antibody. **J Infect Dis**, Nova Delhi, v.182: p.1511-41519, 2000.

OLIVEIRA, A.C. *et al.* Capacidade discriminativa do teste respiratório com CO₂- metacetina e da dosagem do ácido hialurônico em discriminar formas avançadas da doença hepática crônica pelo vírus C. **GED**, São Paulo, 2001.

PICCININO, F. *et al.* Complications following percutaneous liver biopsy: a multicentre retrospective study on 68, 276 biopsies. **J Hepatol**, Melbourne, v.2: p.165-173, 1986.

PLEVRIS, J.N.; HAYDON, G.H.; SIMPSON, K.J. Serum hyalurona: a non-invasive test for diagnosing liver cirrhosis. **Eur J Gastroenterol Hepatol**, Limerick, v.12: p.1121-1127, 2000.

POL, S. *et al.* Hepatitis C virus RNA in anti-HCV positive hemodialysed patients: significance and therapeutic implications. **Kid Int**, Massachusetts, v.44: p.1097-1100, 1993.

POL, S. *et al.* Infection and hemodialysis. **Semin Nephrol**, London, v.22: p.331-339, 2002.

POYNARD, T.; BEDOSSA, P. Age and platelet count: a simple index for predicting the presence of histological lesions in patients with antibodies to hepatitis C virus. **J Viral Hepatitis**, Boxtel, v.4, n.3: p.199-208, 1997.

POYNARD, T.; BEDOSSA, P.; OPOLON, P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVDC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVDC groups. **Lancet**, London, v.349, n.9055: p.825-32, 1997.

QIU, Y. *et al.* A simple combination of serum type IV collagen and prothrombin time to diagnose cirrhosis in patients with chronic active hepatitis C. **Hepatology**, Philadelphia, v.30, n.4: p.214-220, 2004.

RAMPINO, T. *et al.* Hemodialysis prevents liver disease caused by hepatitis C virus: Role of hepatocyte growth factor. **Kid Int**, Massachussets v.56: p.2286-2291, 1999.

RENDINA, M. *et al.* The treatment of chronic hepatitis C with peginterferon alfa-2a (40 kDa) plus ribavirin in haemodialysed patients awaiting renal transplant. **J Hepatol**, Melbourne, v.46: p.768-774, 2007.

ROSTAINING, L. *et al.* Liver histology in renal transplant patients after more 10 years of hepatitisC virus infection. **Transplantat Proceed**, v.28: p.2836-2837, 1996.

ROTH, D. *et al.* Ten year prospective study of hepatitis C virus infection in kidney transplant recipients. **Am J Transplant**, Baltimore, v.2: p.260A, 2002.

RUSSO, M.W. *et al.* Randomized trial of pegylated interferon alpha-2b monotherapy in haemodialysis patients with chronic hepatitis C. **Nephrol Dial Transplant**, Berlin, v.21: p.437- 443, 2006.

SAAB, S.; WALNG, V. Recurrent hepatitis C following liver transplant: diagnosis, natural history, and therapeutic options. **J Clin Gastroenterol**, New York, v.37: p.155-163, 2001.

SAITOU, Y. *et al.* Noninvasive estimation of liver fibrosis and response to interferon therapy by a serum fibrogenesis marker, YKL-40, in patients with HCV- associated liver disease. **World J Gastroenterol**, USA, 28, v.11, n.4: p.476-81, 2005.

SALAMA, G. *et al.* Hepatitis C virus infection in French hemodialysis unit: A multicenter Study. **J Med Virol**, [s.l.], v.61: p.44-51, 2000.

SAMPIETRO, M. *et al.* High prevalence of a rare hepatitis C virus in patients treated in the same hemodialysis unit: Evidence for nosocomial transmission of HCV. **Kid Int**, Massachussets, v.47: p.911- 917, 1995.

SANTANA, G.O. *et al.* Anticorpo contra o vírus C da hepatite em pacientes sob programa de hemodiálise em Salvador, BA, Brasil. **Arq Gastroenterol**, São Paulo, v.34: p.24-31, 2001.

SCHIAVON, L.L. *et al.* Simple blood test as noninvasive markers of liver fibrosis in hemodialysis patients with chronide hepatitis C virus infection. **Hepatology**, Philadelphia, v.46: p.307-314, 2007.

SCHNEEDERGER, P.M. *et al.* Hepatitis C virus infection in dialysis centers in the Netherlands, a national survey by serological and molecular methods. **J Clin Microbiol**, Washington, v.36: p.1711-1715, 1998.

SIMON, N. *et al.* A twelve year natural history of hepatitis C virus infection in hemodialysed patients. **Kid Int**, Massachusetts, v.48: p.504-511, 1994.

STENVINKEL, P. *et al.* High serum hyaluronan indicates poor survival in renal replacement therapy. **Am J Kid Dis**, Chicago, v.34: p.1083-1088, 1999.

STRAUSS, E. Hepatite C. **Rev Soc Br Med Trop**, São Paulo, v.34: p.69-82, 20

STUYVER, L. *et al.* Hepatitis C virus in a hemodialysis unit: Molecular evidence for nosocomial transmission. **Kid Int**, Massachusetts, v.49: p.889-895, 1996.

SUDA, T. *et al.* Modulation of osteoclast differentiation by local factors. **Bone**, Edinburgh, v.28: p. 87-91, 1995

THOMAS, D.L. Occupational risk of hepatitis C infections among general dentists and oral surgeons in North America. **Am J Med**, Newton, v.100, n.1: p.41-45, 1996.

TREMOLADA, F.; CASARIN, C.; ALBERT, A. Long term follow up of non A, non B (type C) post transfusion hepatitis. **J Hepatol**, Melbourne, v.16: p.273-281, 2002.

TSUKADA, S.; PARSONS, C.J.; RIPPE, R.A. Mechanisms of liver fibrosis. **Clin Chim Acta**, Stockholm, v.364: p.33-60, 2006.

TUMMINELLI, F. Shaving as potential source of hepatitis C virus infection. **Lancet**, London, v.345: p.658, 1995.

TURNEY, J.H. *et al.* Hyaluronic acid in end-stage renal failure treated by hemodialysis: Clinical correlates and implications. **Nephrol Dial Transplant**, Berlin, v.6: p.566-570, 1991.

UENO, T. *et al.* Significance of serum type-IV collagen levels in various liver diseases. **Scand J Gastroenterol**, Stockholm, v.27: p.513-520, 1992.

VAN THIEL, D.H. *et al.* Liver biopsy: its safety and complications as seen at a liver transplant center. **Transplantation**, [s.l.], v.55: p.1087-1090, 1993.

VOLMER, J.; LÜDERS, C.J., Morphometric investigations on the portal tracts of liver the differentiation of evaluation of hepatic fibrosis in needle liver biopsy specimens: comparison with morphometric studies. **Hepatology**, Philadelphia, v.20: p.349-355, 1994.

WONG, V.S.; HUGHES, V.; TRULL, A. Serum hyaluronic acid is a useful marker of liver fibrosis in chronic hepatitis C virus infection. **J Viral Hepatitis**, Boxtel, v.5: p.187-192, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Hepatitis C: Global prevalence (up date). **Wkly Epidemiol Rec**, Atlanta, v.75:18-19, 2000.

YASUDA, K. *et al.* Hypoaminotransferasemia in patients undergoing long-term hemodialysis: clinical and biochemical appraisal. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.109: p.1295-1300, 1995.

YEN, T.; KEEFFE, E.B.; AHMED, A. The epidemiology of hepatitis C virus infection. **J Clin Gastroenterol**, New York, v.36: p.47-53, 2003.

YOKOSUKA, O.; OKUDA, K. Natural history of chronic hepatitis C in patients on hemodialysis: case-control study with 4-23 years of follow-up. **World J Gastroenterol**, USA, v.10: p.2209-2212, 2004.

YUKI, N. *et al.* Reappraisal of biochemical hepatitis C activity in hemodialysis patients. **J Clin Gastroenterol**, New York, v.30: p.187-194, 2000.

ZEUZEM, S. *et al.* Peginterferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of chronic hepatitis C in previously untreated patients infected with HCV genotypes 2 or 3. **J Hepatol**, Melbourne, v.42: p.434, 2005.

ANEXO E APÊNDICES

Anexo A – Parecer ético

Apêndice A - Questionário do estudo

ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE ÁCIDO HIALURÔNICO E DE COLÁGENO IV E O GRAU DE FIBROSE HEPÁTICA EM PACIENTES HEMODIALISADOS INFECTADOS PELO VÍRUS C DA HEPATITE

Curso de Pós-graduação em Ciências da Saúde Infectologia e Medicina Tropical FM-UFMG/ CTR-DIP/Orestes Diniz

QUESTIONÁRIO DO ESTUDO	CODIFICAÇÃO
Data do questionário: / /	_ _ _ _ _ _ _
Pesquisador: _____	
1) IDENTIFICAÇÃO	
1.1- Nome do paciente: _____	
1.2- SAME: _____	_ _ _ _ _ _ _
1.3- Idade : _____ anos	_ _ _
1.4-Sexo : 1) M 2) F 8)NA 9) IGN	_
1.5-Endereço: _____	
1.6-Telefone: _____	
2) DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS:	
2.1) Escolaridade: _____ anos de estudo	_ _ _
2.2) Profissão: _____	
2.3) Estado civil: 1) solteiro 2) casado 8) NA 9) IGN	_
2.4) Cor: 1) branca 2) negra 3) pardo 4) amarela	_
3) CLASSIFICAÇÃO NO ESTUDO	
3.1) Portador de hepatite C crônica (VHC-RNA positivo)? 1- Sim 2- Não 8- NA 9- IGN	_
3.2) Portador de doença renal crônica em hemodiálise? 1- Sim 2- Não 8- NA 9- IGN	_
3.3) Grupo no estudo: 1- DRC/hepatite C 2- Hepatite C 3- DRC	_
4) DADOS EPIDEMIOLÓGICOS	
4.1) História de hemotransusão? 1- Sim 2- Não 8- NA 9- IGN	_
4.1.2) Data da primeira hemotransusão : ____/____/____	_ _ _ _ _ _ _
4.1.3) Data da última hemotranfusão: ____/____/____	_ _ _ _ _ _ _
4.2) História de etilismo atual (no último ano)? 1- Sim 2- Não 8- NA 9- IGN	_
4.2.1) História de etilismo prévio? 1- Sim 2- Não 8- NA 9- IGN	_
4.2.2) Há quanto tempo parou de beber? _____ anos	_ _ _
4.3) História de uso de drogas ilícitas injetáveis ou inalatórias no último ano? 1- Sim 2- Não 8- NA 9- IGN	_
4.3.1) História prévia de uso de drogas ilícitas injetáveis ou inalatórias? 1- Sim 2- Não 8- NA 9- IGN	_
4.3.2) Há quanto tempo parou de usar drogas ilícitas? _____ anos	_ _ _
4.4) Fez uso de droga hepatotóxica nos últimos trinta dias? 1- Sim 2- Não 8- NA 9- IGN	_

4.5) Esquistossomose confirmada por EPF ou biópsia retalou ultra-som de abdome? 1- Sim 2- Não 8- NA 9- IGN	_
4.5.1) Foi tratada? 1- Sim 2- Não 8- NA 9- IGN	_
4.5.1.2) Data do tratamento: ___/___/___	_ _ _ _ _ _ _
4.6) Causas da DRC (grupos 1 e 3)	
4.6.1) HAS (1)	
4.6.2) Glomerulonefrite (2)	_
4.6.3) Diabetes (3)	
4.6.4) Outras: _____	
4.6.5) Tempo de hemodiálise (anos) (Grupos 1 e 3)	_ _
4.7) Passado de transplante renal: (grupos 1 e 3) 1- Sim 2- Não 8- NA 9- IGN	_
4.7.1) Data do transplante: ___/___/___	_ _ _ _ _ _ _
4.8) Preencheu os critérios de inclusão no estudo? 1- Sim 2- Não 8- NA 9- IGN	_
5) DADOS CLÍNICOS	
5.1) Peso: _____ Kg	_ _ _
5.2) Estatura: _____ cm	_ _ _ _
5.3) Sinais de insuficiência hepática?	
5.3.1) icterícia: 1- Sim 2- Não 8- NA 9- IGN	_
5.3.2) ascite: 1- Sim 2- Não 8- NA 9- IGN	_
5.3.3) aranhas vasculares: 1- Sim 2- Não 8- NA 9- IGN	_
5.3.4) eritema palmar: 1- Sim 2- Não 8- NA 9- IGN	_
5.3.5) flapping: 1- Sim 2- Não 8- NA 9- IGN	_
5.3.6) ginecomastia: 1- Sim 2- Não 8- NA 9- IGN	_
5.4) Hepatomegalia? 1- Sim 2- Não 8- NA 9- IGN	_
5.6) Esplenomegalia? 1- Sim 2- Não 8- NA 9- IGN	_
6) EXAMES LABORATORIAIS	
6.1) Data Anti-HCV: ___/___/___	_ _ _ _ _ _ _
6.2) Data do VHC-RNA: ___/___/___	_ _ _ _ _ _ _
6.3) Genótipo HCV: (Grupos 1 e 2) 1-1 2-2 3-3 4-4 5-5 6-6 8- NA 9-IGN	_
6.4) Hemograma: Data : ___/___/___	_ _ _ _ _ _ _
6.4.1) Hemoglobina: _____ g/dL	_ _ _ _
6.4.2) Global de leucócitos: _____ cel/ mm ³	_ _ _ _ _ _ _
6.4.3) Plaquetas: _____ cel/ mm ³	_ _ _ _ _ _ _
6.5) AST _____ U/L Data : ___/___/___	_ _ _ _
6.6) GGT _____ U/L Data : ___/___/___	_ _ _ _
6.7) Albumina _____ g/dL Data : ___/___/___	_ _ _
6.8) PTH: _____ U/mL Data : ___/___/___	_ _ _ _ _
7) Ultra-som: 7.1) Data do último ultra-som: ___/___/___	_ _ _ _ _ _ _
7.2) Tamanho do fígado: 1- Normal 2- Aumentado 3- Diminuído 8- NA 9- IGN	_
7.3) Aspecto sugestivo de esteatose hepática? 1- Sim 2- Não 8- NA 9- IGN	_

7.4) Espessamento periportal sugestivo de fibrose de Symmers? 1- Sim 2- Não 8- NA 9- IGN	__
8) BIÓPSIA HEPÁTICA (grupos 1 e 2)	
8.1) Data da biópsia: ___ / ___ / ___	_ _ _ _ _ _ _
8.2) Método da biópsia: 1) Percutânea 2) Laparoscopia 2) Laparotomia	__
8.3) Houve complicação na biópsia? 1- Sim 2- Não 8- NA 9- IGN 8.3.1) Especificar complicação que ocorreu na biópsia?	__
8.4) METAVIR	
8.4.1) Atividade inflamatória: 0-0 1-1 2-2 3-3 8-NA 9-IGN	__
8.4.2) Fibrose: 0-0 1-1 2-2 3-3 4-4 8-NA 9-IGN	__
8.5) Presença de siderose? 1- Sim hepatocitária 2- Sim Kuppferiana 3- Não 8- NA 9-IGN	__
8.6) Aspecto sugestivo de esquistossomose? 1- Sim fibrose de Symmers 2- Sim ovos/granuloma 3- Não 8-NA 9-IGN	__
8.7) Presença de esteatose hepática? 1- Sim 2- Não 8- NA 9- IGN	__
9) MARCADORES DE FIBROSE HEPÁTICA	
9.1) Ácido hialurônico:	
9.1.1) Data da coleta: ___ / ___ / ___	_ _ _ _ _ _ _
9.1.2) Nível plasmático: _____ ng/mL	_ _ _ _ _ _ _
9.2) Colágeno tipo IV:	
9.2.1) Data da coleta: ___ / ___ / ___	_ _ _ _ _ _ _
9.2.2) Nível plasmático: _____ ng/mL	_ _ _ _ _ _ _

Apêndice B - Termo de consentimento livre e esclarecido para o grupo 1 (DRC/hepatite C)

PROJETO: ESTUDO DA CORRELAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS DE ÁCIDO HIALURÔNICO E COLÁGENO IV E FIBROSE HEPÁTICA EM PORTADORES DE HEPATITE C E INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA EM HEMODIÁLISE

Curso de pós-graduação: Ciências da Saúde, Infectologia e Medicina Tropical FM-UFMG/
Ambulatório de hepatites virais- CTR-Orestes Diniz

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa denominada: “*Estudo da correlação entre os níveis de ácido hialurônico e colágeno IV e fibrose hepática em portadores de hepatite C e insuficiência renal crônica em hemodiálise*”. O objetivo deste estudo é verificar a existência de exames feitos no sangue que possam identificar a presença e o grau de possíveis lesões no fígado provocadas pela hepatite C. O benefício que ele poderá trazer é a possibilidade de se utilizar de exames no sangue em substituição à biópsia do fígado na avaliação da indicação ou não do tratamento da hepatite C.

Quando você for se submeter à biópsia do fígado, exame ainda necessário para avaliar a indicação do tratamento da hepatite C, iremos coletar pequena amostra de sangue (10 mL) para a realização, em laboratório, dos exames investigados nesta pesquisa (dosagem de colágeno IV e ácido hialurônico). A técnica de coleta é simples e idêntica à realizada para os exames comuns, sendo desprezíveis os riscos para o paciente. A biópsia do fígado será pedida pelo médico-assistente em todos os pacientes sem contra-indicações e que objetivam o tratamento da hepatite C, independentemente de sua participação ou não neste estudo.

Todos os dados obtidos serão utilizados exclusivamente com a finalidade de pesquisa. Os dados que identificam o paciente serão mantidos em sigilo. Nenhum paciente deixará de ser acompanhado ou receber os cuidados ou tratamento devidos por ter se recusado a participar da pesquisa.

Caso ocorra qualquer problema durante a coleta de amostra de sangue, haverá uma pessoa preparada para tentar sua solução e o procedimento será feito sempre em ambiente hospitalar ou no centro de hemodiálise. Os pesquisadores estarão disponíveis para qualquer dúvida ou resolução de problemas eventuais, nos telefones: 9811-6654 ou 3398-6654 (Dra. Renata Eliane de Ávila) ou 3248- 9547 (Dra. Renata Eliane de Ávila, Dr. Ricardo Andrade Carmo e Dr. José Roberto Lambertucci) ou 3248- 9820 (Dr. José Roberto Lambertucci). Caso ainda persistam dúvidas ou o paciente se sinta lesado por algum motivo, poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (Tel. 3499-4592).

Termo de consentimento:

Eu, _____, declaro que fui bem informado (a) a respeito da pesquisa “Estudo da correlação entre os níveis de ácido hialurônico e colágeno IV e fibrose hepática em portadores de hepatite C e insuficiência renal crônica em hemodiálise” e estou ciente de que os riscos decorrentes da realização da coleta de sangue são muito baixos e de que as informações obtidas são sigilosas e somente serão utilizadas para fins de pesquisa.

Belo Horizonte, _____ de _____ de _____.

paciente

testemunha

Termo de consentimento livre e esclarecido para o grupo 2

PROJETO: ESTUDO DA CORRELAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS DE ÁCIDO HIALURÔNICO E COLÁGENO IV E FIBROSE HEPÁTICA EM PORTADORES DE HEPATITE C E DOENÇA RENAL CRÔNICA EM HEMODIÁLISE

Curso de pós-graduação: Ciências da Saúde, Infectologia e Medicina Tropical FM-UFMG / Ambulatório de hepatites virais - CTR-Orestes Diniz

Grupo portador de hepatite C sem Insuficiência Renal

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa denominada: “*Estudo da correlação entre os níveis de ácido hialurônico e colágeno IV e fibrose hepática em portadores de hepatite C e doença renal crônica em hemodiálise*”. O objetivo deste estudo é verificar a existência de exames feitos no sangue que possam identificar a presença e o grau de possíveis lesões no fígado provocadas pela hepatite C. O benefício que ele poderá trazer é a possibilidade da utilização de exames no sangue que poderão substituir a biópsia do fígado na avaliação da indicação ou não do tratamento da hepatite C.

Quando você for se submeter à biópsia do fígado, exame ainda necessário para avaliar a indicação do tratamento da hepatite C, faremos a coleta de amostra de sangue (10 mL) para a realização, em laboratório, dos exames investigados nesta pesquisa (dosagem de colágeno tipo IV e ácido hialurônico). A técnica de coleta é simples e idêntica à realizada para os exames comuns, sendo mínimos os riscos para o paciente. Podem ocorrer pequeno hematoma no local e dor discreta no momento da coleta. O risco de infecção é mínimo, pois todo o material utilizado será único e descartável.

Todos os dados obtidos serão utilizados exclusivamente com a finalidade de pesquisa. Os dados que identificam o paciente serão mantidos em sigilo. Nenhum paciente deixará de ser acompanhado ou receber os cuidados ou tratamento devidos por ter se recusado a participar da pesquisa.

Caso ocorra qualquer problema durante a coleta de amostra de sangue, haverá uma pessoa preparada para tentar sua solução e o procedimento será feito sempre em ambiente hospitalar ou no centro de hemodiálise. Os pesquisadores estarão disponíveis para qualquer dúvida ou resolução de problemas eventuais, nos telefones: 9811-6654 ou 3398-6654 (Dra. Renata Eliane de Ávila) ou 3248- 9547 (Dra. Renata Eliane de Ávila, Dr. José Roberto Lambertucci e Dr. Ricardo Andrade Carmo) ou 3248-9820 (Dr. José Roberto Lambertucci). Caso ainda persistirem dúvidas ou o paciente se sinta lesado por algum motivo, poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (Tel. 3499-4592).

Termo de consentimento:

Eu, _____, declaro que fui bem informado (a) a respeito da pesquisa “Estudo da correlação entre os níveis de ácido hialurônico e colágeno IV e fibrose hepática em portadores de hepatite C e insuficiência renal crônica em hemodiálise” e estou ciente de que os riscos decorrentes da realização da coleta de sangue são muito baixos e de que as informações obtidas são sigilosas e somente serão utilizadas para fins desta pesquisa.

Belo Horizonte, _____ de _____ de _____.

paciente

testemunha

Termo de consentimento livre e esclarecido do pacientes com amostra de sangue armazenada (grupos 1 (DRC/hepatite C) e 2 (hepatite C))

PROJETO: ESTUDO DA CORRELAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS DE ÁCIDO HIALURÔNICO E COLÁGENO IV E FIBROSE HEPÁTICA EM PORTADORES DE HEPATITE C E DOENÇA RENAL CRÔNICA EM HEMODIÁLISE

Curso de pós-graduação: Ciências da Saúde, Infectologia e Medicina Tropical FM-UFMG/
Ambulatório de hepatites virais-CTR-Orestes Diniz

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa denominada: “*Estudo da correlação entre os níveis de ácido hialurônico e colágeno IV e fibrose hepática em portadores de hepatite C e doença renal crônica em hemodiálise*”. O objetivo deste estudo é verificar a existência de exames feitos no sangue que possam identificar a presença e o grau de possíveis lesões no fígado provocadas pela hepatite C. O benefício que ele poderá trazer é a possibilidade da utilização de exames no sangue que poderão substituir a biópsia do fígado na avaliação da indicação ou não do tratamento da hepatite C, nos portadores de insuficiência renal ou não.

Quando você realizou o exame PCR qualitativo para hepatite C (exame que confirmou a presença da infecção), uma parte do sangue não utilizada ficou armazenada no laboratório do NUPAD. Nosso objetivo é realizar outro exame nesta mesma amostra de sangue, para medirmos duas substâncias (ácido hialurônico e colágeno IV) e comparar os resultados com os achados de sua biópsia do fígado, feita naquela ocasião. Não será necessária a realização de outros exames para que você participe da pesquisa. Portanto, este estudo não lhe trará riscos. Necessitamos que você apenas autorize a utilização do sangue armazenado. Todos os dados obtidos serão utilizados exclusivamente com as finalidades desta pesquisa. Os dados obtidos serão mantidos em sigilo. Nenhum paciente deixará de ser acompanhado ou de receber os cuidados ou tratamento devidos por ter se recusado a participar da pesquisa. As despesas diretamente relacionadas ao desenvolvimento da pesquisa serão de responsabilidade dos pesquisadores. Não haverá remuneração pela sua participação na pesquisa.

Caso ocorra qualquer dúvida ou o paciente se sinta prejudicado por algum motivo, os pesquisadores estarão disponíveis para esclarecimentos, nos telefones: 9811-6654 (Dra. Renata Eliane de Ávila) ou 3248-9547 (Dra. Renata Eliane de Ávila, Dr. José Roberto Lambertucci (pesquisadores) e Dr. Ricardo Andrade Carmo - médico do Ambulatório) ou 3249-9320 (Dr. José Roberto Lambertucci). Caso ainda persistam dúvidas, o paciente poderá entrar em contato com o Comitê de Ética e Pesquisa da UFMG (Tel. 3499-4592).

Termo de consentimento:

Eu, _____ declaro que fui bem informado (a) a respeito da pesquisa “Estudo da correlação entre os níveis de ácido hialurônico e colágeno IV e fibrose hepática em portadores de hepatite C e doença renal crônica em hemodiálise” e estou ciente que a participação no estudo não me trará novos riscos e de que as informações obtidas são sigilosas e somente serão utilizadas para fins desta pesquisa.

Belo Horizonte, ____ de _____ de _____ .

paciente

testemunha

Termo de consentimento livre e esclarecido para o grupo 3 (DRC)

PROJETO: ESTUDO DA CORRELAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS DE ÁCIDO HIALURÔNICO E COLÁGENO IV E FIBROSE HEPÁTICA EM PORTADORES DE HEPATITE C E DOENÇA RENAL CRÔNICA EM HEMODIÁLISE

Curso de pós-graduação: Ciências da Saúde, Infectologia e Medicina Tropical da FM-UFMG

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa denominada: “*Estudo da correlação entre os níveis de ácido hialurônico e colágeno IV e fibrose hepática em portadores de hepatite C e doença renal crônica em hemodiálise*”. O objetivo deste estudo é verificar a existência de exames feitos no sangue que possam identificar a presença e o grau de possíveis lesões no fígado provocadas pela hepatite C. O benefício que ele poderá trazer é a possibilidade de se utilizar de exames no sangue em substituição à biópsia do fígado na avaliação da indicação ou não do tratamento da hepatite C. Para você que não é portador de hepatite C este estudo não trará benefícios diretos, entretanto, poderá trazer benefício aos demais pacientes em hemodiálise que têm hepatite C.

Estamos pedindo a sua participação neste estudo na coleta de pequena amostra de sangue (10 mL) para que possamos realizar a dosagem de duas substâncias e compará-las aos valores encontrados nos pacientes que também estão em hemodiálise, mas que apresentam hepatite C. O objetivo é verificar se a presença da hepatite C eleva os níveis dessas substâncias.

Todos os dados obtidos serão utilizados exclusivamente com a finalidade de pesquisa. Os dados que identificam o paciente serão mantidos em sigilo. Nenhum paciente deixará de ser acompanhado ou receber os cuidados devidos por ter se recusado a participar da pesquisa.

Caso ocorra qualquer problema durante a coleta de amostra de sangue, haverá uma pessoa preparada para tentar sua solução e o procedimento será feito sempre em ambiente hospitalar ou no centro de hemodiálise. Os pesquisadores estarão disponíveis para qualquer dúvida ou resolução de problemas eventuais, nos telefones: 9811-6654 ou 3398-6654 (Dra. Renata Eliane de Ávila) ou 3248- 9547 (Dra. Renata Eliane de Ávila, Dr. Ricardo Andrade Carmo e Dr. José Roberto Lambertucci) ou 3248- 9820 (Dr. José Roberto Lambertucci). Caso ainda persistam dúvidas ou o paciente se sinta lesado por algum motivo, poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (Tel. 3499-4592).

Termo de consentimento:

Eu, _____, declaro que fui bem informado (a) a respeito da pesquisa “Estudo da correlação entre os níveis de ácido hialurônico e colágeno IV e fibrose hepática em portadores de hepatite C e doença renal crônica em hemodiálise” e estou ciente de que os riscos decorrentes da realização da coleta de sangue são muito baixos e de que as informações obtidas são sigilosas e somente serão utilizadas para fins de pesquisa.

Belo Horizonte, _____ de _____ de _____.

paciente

testemunha

Apêndice C - Figuras de lâminas histológicas de biópsia hepática, mostrando siderose hepática

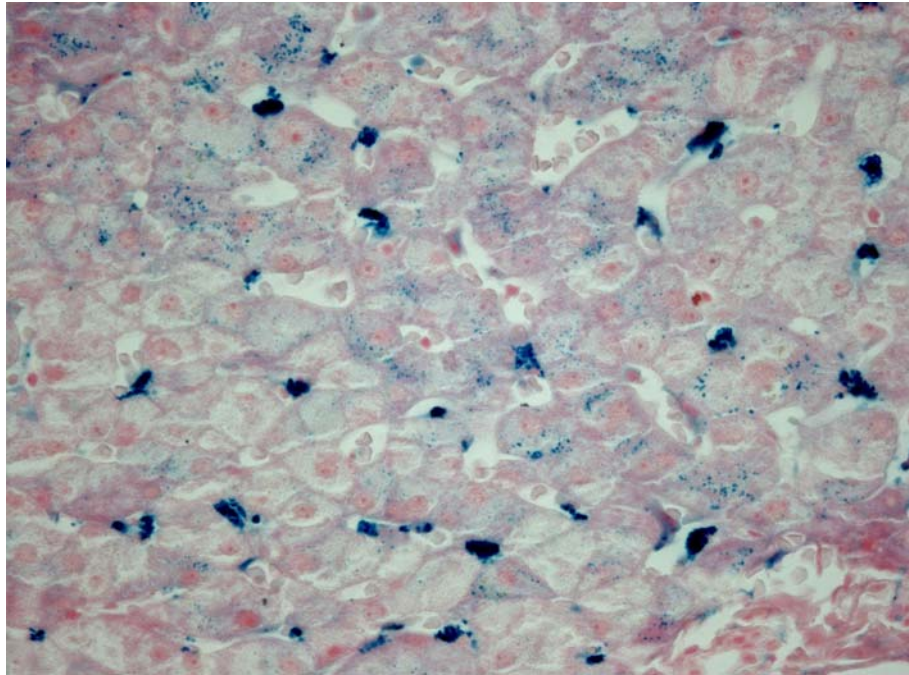


FIGURA 3 - Lâmina de histologia hepática ilustrando a siderose hepatocitária e Kupfferiana.

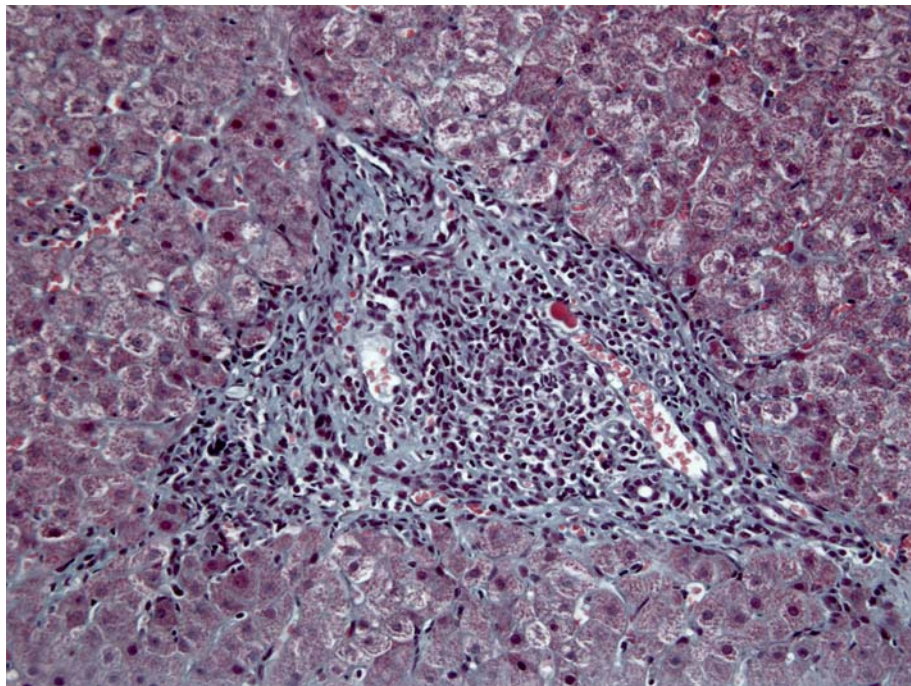


FIGURA 4 - Lâmina de fibrose hepática em espaço periportal

Apêndice D

TABELA 15

Parâmetro para determinar o melhor ponto de corte do AH, de acordo com a maior sensibilidade e especificidade, no grupo 1 (DRC/hepatite C)

AH (ng/mL)	Sensibilidade	Especificidade
301,5	100%	0%
388,3	100%	10%
480,0	92%	10%
562,6	92%	20%
711,5	92%	30%
797,4	92%	40%
822,1	92%	50%
840,2	92%	60%
851,2	83%	60%
984,8	83%	70%
1301,7	75%	70%
1546,3	67%	70%
1610,0	58%	70%
1681,2	58%	80%
1931,5	58%	90%
2389,2	50%	90%
3675,1	50%	100%
4731,7	42%	100%
5017,0	33%	100%
8947,6	25%	100%
18866,5	17%	100%
32161,6	8%	100%
39227,3	0%	100%

TABELA 16

Parâmetro para determinar o melhor ponto de corte do AH, de acordo com a maior sensibilidade e especificidade, no grupo 2 (hepatite C)

AH (ng/mL)	Sensibilidade	Especificidade
79,9	100%	0%
83,9	100%	6%
95,0	100%	13%
104,6	100%	19%
107,7	100%	25%
110,5	92%	25%
112,1	92%	31%
112,4	85%	31%
115,8	77%	31%
119,9	77%	38%
129,5	77%	44%
139,4	69%	44%
141,0	69%	50%
150,0	69%	56%
159,5	62%	56%
161,5	62%	63%
172,4	62%	69%
183,2	62%	75%
198,6	62%	81%
215,3	62%	88%
222,3	62%	94%
252,5	54%	94%
290,7	46%	94%
314,0	38%	94%
411,1	38%	100%
594,6	31%	100%
755,4	23%	100%
833,5	15%	100%
938,3	8%	100%
1030,3	0%	100%