

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA / NEFROLOGIA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

CITOLOGIA HEPÁTICA EM TRANSPLANTADOS RENAIIS  
COM INFECÇÃO CRÔNICA PELO VÍRUS DA HEPATITE C

Autor: Marcelo Generali da Costa

Orientador: Prof. Dr. Luiz Felipe Gonçalves

Porto Alegre, 1995

Aos cidadãos de Porto Alegre e do Rio Grande do Sul,  
usuários, por direito, do Sistema Único de Saúde.

## AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Luiz Felipe Gonçalves, orientador de extrema perspicácia e capacidade, mas, mais do que isso, modelo de postura médica na assistência e na pesquisa.

Ao Dr. Sérgio Barros, pela inesgotável disponibilidade, tanto na realização das biópsias quanto na co-orientação do trabalho.

Ao Dr. José Goldim, pela orientação metodológica.

Ao Dr. Carlos Thadeu Cerski, pela leitura das lâminas de biópsia, pela orientação e crítica e pela bibliografia em patologia hepática.

Ao Dr. Fernando Thomé, pelo auxílio na análise multivariada.

À acadêmica Betina Teruchkin, pelo inestimável auxílio em todas as fases do trabalho.

À Dra. Sandra Genro, pelo apoio e pela realização das ecografias.

À Dra. Helenice Preier Pankowski e ao Dr. Roberto Reckziegel pelo auxílio na realização das biópsias hepáticas.

À Dra. Elza Daniel de Mello, mais do que pelo freezer, pela amizade.

À Dra Liane Marise Röhsig, pela realização, sempre “na hora”, das provas de coagulação.

À Lídia do Carmo S. C. do Nascimento, pelo auxílio e pela precisão na análise estatística.

À Tania Cortinovi, pela revisão de linguagem.

À Vânia Hirakata, pela formatação final.

À Ana Catarina Barshak, pela revisão das normas bibliográficas.

À Dra. Clarice Mautone, pela revisão do resumo em inglês.

Aos professores do Serviço de Nefrologia do HCPA, em especial os Drs. César Costa e Carlos Prompt, pelo apoio e por acreditarem que um sanitarista poderia tornar-se nefrologista.

Aos funcionários e Médicos Residentes do Serviço de Nefrologia do HCPA, pelo auxílio e pela paciência.

À Dra. Nora Franceschini, pelo exemplo e por ter aberto os caminhos desta linha de pesquisa.

Aos Drs. Valter e Clotilde Garcia, pelo fundamental estímulo e apoio no caminho da nefrologia.

À Susana Metz, por tudo.

## SUMÁRIO

**LISTA DE ABREVIATURAS**

**LISTA DE FIGURAS**

**LISTA DE TABELAS**

**RESUMO**

**SUMMARY**

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
1.1 A hepatite pelo vírus C .....	2
1.1.1 Hepatite C em pacientes com insuficiência renal crônica e em transplantados renais .....	2
1.1.2 Caracterização e detecção do vírus da hepatite C .....	6
1.1.3 Fisiopatogenia e evolução da hepatite C .....	9
1.1.4 Histopatologia na hepatite C .....	13
1.2 Citologia aspirativa hepática .....	18
1.3 Objetivos .....	21
<b>2 PACIENTES E MÉTODOS .....</b>	<b>22</b>
2.1 Caracterização do estudo .....	22
2.2 Variáveis em estudo .....	22
2.3 Pacientes .....	24
2.3.1 Imunossupressão .....	24
2.3.2 Tamanho da amostra .....	25
2.3.3 Seleção dos pacientes .....	26
2.4 Métodos .....	27

2.4.1 Marcadores virais .....	27
2.4.2 Avaliação clínico-laboratorial .....	28
2.4.3 Punção aspirativa hepática (PAH) .....	28
2.4.4 Punção biópsia hepática (PBH).....	29
2.4.5 Avaliação do material e interpretação das leituras das PAH .....	29
2.4.6 Interpretação das PBH .....	31
2.4.7 O Escore de Knodell .....	33
2.5 Análise estatística .....	35
2.5.1 Distribuição das variáveis .....	35
2.5.2 Reprodutibilidade da interpretação da PAH .....	35
2.5.3 Diagnóstico histológico .....	35
2.5.4 Escore de Knodell .....	36
2.5.5 Testes estatísticos .....	37
2.5.6 Nível de significância .....	38
2.5.7 Programas de computação .....	38
<b>3 RESULTADOS .....</b>	<b>39</b>
3.1 Características da amostra .....	39
3.2 Punção biópsia hepática .....	41
3.3 Punção aspirativa hepática (PAH).....	47
3.3.1 Reprodutibilidade da leitura .....	47
3.3.2 Relação entre o ICT e o diagnóstico histológico .....	49
3.3.3 Relação entre o ICT e o Escore de Knodell .....	53
3.3.4 Relação entre o número de células imunoativadas (CIA) e o diagnóstico histológico .....	54
3.3.5 Relação entre o número de células imunoativadas (CIA) e o Escore de Knodell .....	57
3.3.6 O escore morfológico e o escore de colestase .....	58
3.4 Avaliação clínico-laboratorial .....	60
3.4.1 Provas bioquímicas hepáticas .....	61

3.4.2 Rejeições .....	61
3.4.3 Drogas imunossupressoras .....	61
3.4.4 Drogas hepatotóxicas .....	62
3.4.5 Infecções virais .....	63
3.4.6 Relação das características descritivas dos pacientes com o diagnóstico histológico e com o Escore de Knodell .....	63
3.4.7 Relação entre as provas bioquímicas hepáticas e o diagnóstico histológico .....	69
3.4.8 Relação entre as provas bioquímicas hepáticas e o Escore de Knodell .....	70
3.4.9 Relação entre a presença de rejeições e o diagnóstico histológico e o Escore de Knodell .....	71
3.4.10 Relação da imunossupressão com o diagnóstico histológico e com o Escore de Knodell .....	73
3.4.11 Relação do uso de drogas hepatotóxicas com o diagnóstico histológico e com o Escore de Knodell .....	77
3.4.12 Relação entre a sorologia para o citomegalovírus (CMV) e o diagnóstico histológico e o Escore de Knodell .....	77
3.5 Análise multivariada .....	78
<b>4 DISCUSSÃO .....</b>	<b>82</b>
4.1 Características da amostra .....	82
4.2 A punção biópsia hepática .....	86
4.3 A punção aspirativa hepática .....	93
4.4 Avaliação clínico-laboratorial .....	100
4.4.1 Sexo .....	100
4.4.2 Tipo de doador .....	100
4.4.3 Co-infecções virais .....	101
4.4.4 Provas bioquímicas hepáticas .....	102
4.4.5 O tempo de diálise, o tempo de transplante e o número de transfusões .....	106

4.4.6 A análise multivariada: a idade, o processo imunológico e a imunossupressão .....	108
<b>5 CONCLUSÕES .....</b>	<b>120</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>122</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>136</b>
<b>ANEXO I. FICHA DE PACIENTE.....</b>	<b>136</b>
<b>ANEXO II. PATOLOGIA / INTERPRETAÇÃO DA PBH.....</b>	<b>138</b>
<b>ANEXO III. CITOLOGIA / INTERPRETAÇÃO DA PAH .....</b>	<b>139</b>
<b>ANEXO IV. CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO .....</b>	<b>140</b>

**LISTA DE ABREVIATURAS**

ALT	Alanina aminotransferase (transaminase glutâmico-pirúvica)
ANOVA	Análise de variância
Anti-CMV	Anticorpos contra o citomegalovírus
Anti-HCV	Anticorpos contra o vírus da hepatite C
AST	Aspartato aminotransferase (transaminase glutâmico-oxalacética)
CIA	Células imunoativadas
CMV	Citomegalovírus
DNA	Ácido desoxi-ribonucleico
EK	Escore de Knodell
ELISA	Ensaio por imuno-sorvente ligado a enzima
GAL	Globulina anti-linfocítica
gama-GT	Gama-glutamil transpeptidase
GGT	Gama-glutamil transpeptidase
HBsAg	Antígeno de superfície do vírus da hepatite B
HBV	Vírus da hepatite B
HC	Hepatite crônica
HCA	Hepatite crônica ativa
HCL	Hepatite crônica lobular
HCP	Hepatite crônica persistente
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
HCV	Vírus da hepatite C
HCV-RNA	RNA do vírus da hepatite C
HE	Hematoxilina-eosina
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HLA	Antígenos leucocitários humanos
HLA-A	Antígenos leucocitários humanos do locus A

HLA-B	Antígenos leucocitários humanos do locus B
HLA-C	Antígenos leucocitários humanos do locus C
HLA-DR	Antígenos leucocitários humanos do locus DR
IAH	Índice de atividade histológica (Escore de Knodell)
ICAM	Moléculas de adesão intercelular
ICT	Incremento corrigido total
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
MGG	May-Grunwald, Giemsa
PAH	Punção aspirativa hepática
PAS	Ácido periódico - Schiff
PBH	Punção biópsia hepática
PCR	Reação de cadeia de polimerase
RIBA	Ensaio imunoblot recombinante
RNA	Ácido ribonucleico
RPMI	Meio de cultura de células do Roswell Park Memorial Institute
TTPA	Tempo de tromboplastina parcial ativado
VO	Via oral

**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1. PBH: área de esteatose macrogoticular .....	42
Figura 2. PBH: área de necrose focal .....	42
Figura 3. PBH: hepatite crônica ativa pelo vírus C: necrose em saca-bocado e lesão de epitélio ductal .....	43
Figura 4. PAH: hepatócitos edemaciados com grânulos de bilirrubina, indicando colestase .....	43
Figura 5. PAH: hepatócitos vacuolisados indicando dano celular .....	44
Figura 6. PAH: linfócito ativado .....	44

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Frequência de Infecção pelo HCV em Pacientes em Hemodiálise .....	3
Tabela 2. Frequência de Infecção pelo Vírus C em Transplantados Renais em Diversos Centros .....	5
Tabela 3. Material Utilizado na PAH .....	29
Tabela 4. Índice de Atividade Histológica em Biópsias de Fígado .....	34
Tabela 5. Idade, Tempo de Diálise, Tempo de Transplante e Número de Transfusões de Sangue dos Pacientes Estudados .....	40
Tabela 6. Etiologia da Insuficiência Renal .....	40
Tabela 7. Resultado das PBH e das PAH .....	45
Tabela 8. Diagnósticos Histológicos Encontrados nas PBH .....	46
Tabela 9. Escore de Knodell nos Casos Biopsiados .....	46
Tabela 10. Valores do Escore de Knodell conforme o Diagnóstico Histológico .....	47
Tabela 11. Comparação entre Valores do Incremento Corrigido Total nas Duas Leituras da PAH .....	48
Tabela 12. Comparação dos Valores do Número de Células Imunoativadas e do Escore de Colestase entre as Duas Leituras da PAH .....	48
Tabela 13. Coeficiente de Correlação entre as Duas Leituras das Lâminas das PAH para o Incremento Corrigido Total, o Número de Células Imunoativadas e o Escore de Colestase ....	49
Tabela 14. Relação entre o ICT e o Diagnóstico Histológico .....	49
Tabela 15. Relação entre o ICT e os Diagnósticos Histológicos Dicotomizados .....	50
Tabela 16. Associação entre os Pontos de Corte do Incremento Corrigido Total (ICT) e o Diagnóstico Histológico Dicotomizado .....	51

Tabela 17. Sensibilidade, Especificidade, Valor Preditivo Positivo e Negativo de Diferentes Pontos de Corte do ICT para Detectar Lesões Avançadas (diagnóstico histológico agrupado na forma lesões leves x lesões avançadas) .....	52
Tabela 18. Sensibilidade, Especificidade, Valor Preditivo Positivo e Negativo de Diferentes Pontos de Corte do ICT para Detectar Lesões de Hepatite Crônica (diagnóstico histológico agrupado na forma lesões mínimas x lesões de hepatite crônica) .....	52
Tabela 19. Incremento Corrigido Total Conforme os Níveis de Corte do Escore de Knodell .....	53
Tabela 20. Incremento Corrigido Total Conforme os Níveis Dicotomizados do Escore de Knodell .....	54
Tabela 21. Relação entre o Número de CIA e o Diagnóstico Histológico .....	54
Tabela 22. Relação entre o Número de CIA e os Diagnósticos Histológicos Dicotomizados .....	55
Tabela 23. Distribuição dos Pacientes Conforme o Número de Células Imunoativadas e o Diagnóstico Histológico .....	56
Tabela 24. Relação entre o Número de Células Imunoativadas e o Diagnóstico Histológico Dicotomizado .....	56
Tabela 25. Número de Células Imunoativadas Conforme Níveis de Valores do Escore de Knodell .....	57
Tabela 26. Número de Células Imunoativadas Conforme Níveis de Valores do Escore de Knodell Dicotomizados .....	58
Tabela 27. Valores do Escore Morfológico e do Escore de Colestase Conforme o Diagnóstico Histológico .....	59
Tabela 28. Valores do Escore Morfológico e do Escore de Colestase Conforme o Diagnóstico Histológico Dicotomizado na Forma “Lesões Mínimas x Lesões de Hepatite Crônica” .....	59
Tabela 29. Correlação entre Escore Morfológico e Escore de Colestase e o Escore de Knodell.....	59

Tabela 30. Valores dos Testes Bioquímicos Hepáticos e Número de Casos Alterados .....	60
Tabela 31. Número de Rejeições Agudas Conforme o Diagnóstico Histológico .....	61
Tabela 32. Número de Pulsos de Metil-prednisolona e Cursos de OKT3 Recebidos Pelos Pacientes .....	62
Tabela 33. Relação entre Idade e Diagnóstico Histológico .....	63
Tabela 34. Relação entre Idade e Diagnóstico Histológico Dicotomizado .....	64
Tabela 35. Distribuição dos Casos por Sexo e Diagnóstico Histológico .....	64
Tabela 36. Distribuição dos Casos por Sexo e Diagnóstico Histológico Dicotomizado .....	64
Tabela 37. Distribuição dos Casos por Tipo de Doador e Diagnóstico Histológico .....	64
Tabela 38. Distribuição dos Casos por Tipo de Doador e Diagnóstico Histológico Dicotomizado .....	65
Tabela 39. Relação entre o Tempo de Hemodiálise e o Diagnóstico Histológico .....	65
Tabela 40. Relação entre o Tempo de Hemodiálise e o Diagnóstico Histológico Dicotomizado .....	65
Tabela 41. Relação entre o Tempo de Transplante e o Diagnóstico Histológico .....	65
Tabela 42. Relação entre o Tempo de Transplante e o Diagnóstico Histológico Dicotomizado .....	66
Tabela 43. Relação entre o Número de Transfusões de Sangue e o Diagnóstico Histológico .....	66
Tabela 44. Relação entre o Número de Transfusões de Sangue e o Diagnóstico Histológico Dicotomizado .....	66
Tabela 45. Relação entre o Sexo e o Escore de Knodell .....	67
Tabela 46. Relação entre o Tipo de Doador e o Escore de Knodell .....	67
Tabela 47. Correlação entre Idade, Tempo de Hemodiálise, Tempo de Transplante, Número de Transfusões e o Escore de Knodell .....	67
Tabela 48. Relação entre o Tempo de Exposição e o Diagnóstico Histológico .....	68
Tabela 49. Relação entre o Tempo de Exposição e o Diagnóstico Histológico Dicotomizado .....	68

Tabela 50. Relação entre o Resultado das Provas Bioquímicas Hepáticas e o Diagnóstico Histológico Dicotomizado na Forma "Lesões Mínimas ou Inexistentes x Lesões de Hepatite Crônica" .....	69
Tabela 51. Valores Médios dos Testes Bioquímicos Hepáticos Conforme o Diagnóstico Histológico Dicotomizado na Forma "Lesões Mínimas ou Inexistentes x Lesões de Hepatite Crônica" .....	70
Tabela 52. Coeficientes de Correlação entre as Provas Hepáticas e o Escore de Knodell .....	71
Tabela 53. Relação entre Presença de Rejeições e Diagnóstico Histológico Dicotomizado ....	71
Tabela 54. Número de Episódios de Rejeição conforme o Diagnóstico Histológico .....	72
Tabela 55. Número de Episódios de Rejeição conforme o Diagnóstico Histológico Dicotomizado .....	72
Tabela 56. Escore de Knodell conforme a Presença ou Não de Rejeições .....	73
Tabela 57. Coeficientes de Correlação (Spearman) entre o Tempo de Uso das Drogas Imunossupressoras e o Escore de Knodell .....	74
Tabela 58. Relação entre Pulso de Metil-Prednisolona e Diagnóstico Histológico Dicotomizado na Forma "Lesões Mínimas x Lesões de Hepatite Crônica" .....	75
Tabela 59. Relação entre Curso de OKT3 e Diagnóstico Histológico Dicotomizado na Forma "Lesões Mínimas x Lesões de Hepatite Crônica" .....	75
Tabela 60. Escore de Knodell Conforme Ter ou Não Ter Recebido Pulsos de Metil-Prednisolona ou OKT3 .....	76
Tabela 61. Número de Pulsos de Metil-Prednisolona e de Cursos de OKT3 Conforme o Diagnóstico Histológico Dicotomizado .....	76
Tabela 62. Relação da Idade Com a Ocorrência de Rejeição .....	78
Tabela 63. Relação da Idade Com a Presença de Cursos de OKT3 .....	79
Tabela 64. Relação entre a Idade e o Diagnóstico Histológico Dicotomizado, Estratificada Conforme a Ocorrência de Rejeição .....	79
Tabela 65. Relação entre a Idade e o Diagnóstico Histológico Dicotomizado, Estratificada Conforme o Uso de OKT3 .....	80

Tabela 66. Modelo Logístico: Relação da Idade, Controlada para Tempo de Exposição, Ocorrência de Rejeição, Número de Pulsos de Metil-Prednisolona, Número de Cursos de OKT3 e Valor da ALT, com a Presença de Lesões de Hepatite Crônica .....	81
Tabela 67. Situações de Divergência entre a Citologia e o Diagnóstico Histológico .....	99
Tabela 68. Características Clínico-Laboratoriais do Paciente com Anti-CMV IgM Positivo ....	102

## RESUMO

As características clínicas da hepatite C em transplantados renais ainda não estão bem definidos. A punção biópsia hepática (PBH) é o padrão-ouro para o diagnóstico do grau de lesão nesses pacientes. O presente estudo objetivou avaliar o papel da citologia hepática obtida por meio de punção aspirativa com agulha fina (PAH) no diagnóstico das lesões hepáticas em transplantados renais com hepatite crônica pelo vírus C. Avaliou-se, também, a frequência e a gravidade das lesões hepáticas nesses pacientes e características clínico-laboratoriais correlacionadas com a gravidade da doença.

Vinte e oito pacientes foram submetidos à PBH e à PAH e os resultados comparados. A PAH utilizou a técnica de Hayry e von Willebrand calculando-se o Incremento Corrigido Total e o número de células imunoativadas (CIA).

Dezoito pacientes (66,6%) apresentaram, na PBH, ausência de lesões, lesões mínimas ou lesões não caracterizadas como hepatite crônica; 6 pacientes (22,2%) apresentaram hepatite crônica persistente ou lobular e 3 pacientes (11,1%) tiveram hepatite crônica ativa.

Não se verificou associação estatisticamente significativa entre os resultados da PAH e os da histologia (erro  $\beta = 0,82$ ).

A idade dos pacientes mostrou associação significativa com o diagnóstico histológico, sendo a idade média dos pacientes com lesões mínimas igual a 37,50 ( $\pm 10,1$ ) anos, com hepatite crônica persistente igual a 51,33 ( $\pm 6,2$ ) anos e com hepatite crônica ativa igual a 58,33 ( $\pm 12,7$ ) anos ( $p=0,0015$  - ANOVA). O uso de OKT3

associou-se à presença de lesões de hepatite crônica ( $p=0,0420$ ). A presença de rejeições agudas, um maior número de rejeições e ter recebido pulsos de metilprednisolona associou-se a lesões histológicas de menor gravidade. As demais variáveis não apresentaram relação significativa com o diagnóstico da PBH.

Na análise multivariada, apenas a idade manteve-se como fator independentemente associado à presença de lesões de hepatite crônica.

Conclui-se que a citologia hepática obtida mediante punção aspirativa com agulha fina não demonstrou utilidade para diagnosticar ou estabelecer o nível de gravidade ou de evolução da doença hepática em transplantados renais com hepatite crônica pelo vírus C, embora essa possibilidade não possa ser totalmente excluída. A imunossupressão e as rejeições mostraram resultados contraditórios, não estando ainda clara a sua relação com o dano hepático provocado pelo vírus C. A idade foi o único fator consistentemente associado à maior gravidade das lesões histológicas nesses pacientes.

## SUMMARY

The clinical manifestations of hepatitis C virus infection in Kidney transplant recipients are not well defined as yet. Core-needle hepatic biopsy (CNHB) is currently the gold standard for the diagnosis of the nature of the hepatic lesions in these patients. The present study was undertaken in order to investigate the role of hepatic cytology, got by fine-needle aspiration biopsy (FNAB) in the diagnosis of the hepatic lesions in kidney transplant patients with chronic C-virus hepatitis. The frequency and severity of hepatic lesions in these patients, and the clinical and laboratorial features that correlate with severity of disease were determined as well.

Twenty-eight patients had a CNHB and a FNAB. The FNAB were performed according the technique of Häiry & von Willebrand, which calculates the Total Corrected Increment (TCI) and the number of immunoactivated cells (IAC) in each specimen.

Eighteen patients (66,6%) had, on CNHB, absence of lesions, minimal lesions or lesions other than chronic hepatitis; 6 patients (22,2%) had chronic persistent or chronic lobular hepatitis, and 3 patients (11,1%) had chronic active hepatitis.

No statistically significant association was verified between the results of FNAB and histologic diagnosis ( $\beta$  error equal 0,82).

Patients' age showed significative association with the severity of histological diagnosis. Mean age of patients with minimal lesions was 37,50 ( $\pm 10,1$ ) years; for those with chronic persistent hepatitis was 51,33 ( $\pm 6,2$ ) years and was 58,33 ( $\pm 12,7$ ) years for those with chronic active hepatitis ( $p=0,0015$  - ANOVA).

The use of OKT3 was associated with lesions of chronic hepatitis ( $p=0,0420$ ). Otherwise, the occurrence of acute graft rejections, a higher number of rejections and the use of “pulses” of metil-prednisolone were associated with lower grade histologic lesions. None of the other variables showed a positive relationship with the histologic diagnosis

Age of the patients was the only independent predictor of chronic hepatitis by histology in the multivariate analysis.

We conclude that hepatic cytology, obtained by fine needle aspiration biopsy did not prove to be useful for to diagnosis or establish the severity of hepatic disease in renal transplant patients with chronic hepatitis C virus infection. However, this possibility couldn't be fully excluded. The immunosupressive drugs and the immunological events (i.e. rejection) showed contradictorial results. The relationship of these factors with hepatic damage caused by virus C in kidney transplant patients is yet to be determined. Age was the only factor invariably associated with severity of histologic lesions.

## 1 INTRODUÇÃO

Em aproximadamente 3 décadas, o transplante de órgãos evoluiu de um procedimento experimental para uma terapêutica reconhecida e eficaz em pacientes com doenças terminais de vários órgãos. Em relação aos doentes com insuficiência renal crônica terminal, o transplante é a forma de tratamento que oferece a maior sobrevida e a melhor qualidade de vida, com o menor custo social (57, 116, 170).

No Rio Grande do Sul foram realizados, até 1993, 656 transplantes renais (144 somente naquele ano), verificando-se uma tendência de crescimento às custas de transplantes de doador cadáver (57).

A sobrevida, em um ano, dos receptores de transplantes de rins cadavéricos tem ficado em torno de 90% na literatura internacional e até 89,8% no Rio Grande do Sul, enquanto que a sobrevida dos enxertos, no mesmo período, situa-se em 80% e até 77%, respectivamente (62, 100).

Dentre as complicações que contribuem substancialmente para a morbidade e mortalidade dos transplantados renais, as infecções ainda estão entre as mais freqüentes, apesar de seu impacto estar diminuindo, não só devido a um melhor diagnóstico e tratamento dessas doenças, mas também devido a um manejo mais criterioso da imunossupressão (34).

Dentro desse contexto, as infecções por vírus latentes ou persistentes, como os retrovírus, os herpesvírus e os vírus das hepatites B, C e D continuam constituindo fonte de preocupação e exigindo a atenção de clínicos e pesquisadores.

## **1.1 A hepatite pelo vírus C**

As hepatites infecciosas são reconhecidas, há bastante tempo, como um problema freqüente em receptores de transplantes renais e de outros órgãos(26, 34, 56, 158).

Com a "clonagem" do vírus da hepatite C (HCV) por Kuo e Choo em 1989 (33, 90), abriu-se um vasto campo de investigação, trazendo inúmeras consequências e novas perspectivas para a prática clínica cotidiana (6).

Com esses estudos, verificou-se que a infecção pelo vírus C é a principal causa das hepatites previamente chamadas de "não-A-não-B". Mais ainda, com o decréscimo verificado na incidência da hepatite B na maioria dos países, em virtude das medidas de controle adotadas, a hepatite C tornou-se o grande problema emergente em unidades de diálise e transplante renal (128).

O problema da hepatite C atingiu tal magnitude que a testagem para o vírus C é incluída nos exames de rotina (do tipo check up) em países como a Itália (19).

No entanto, até agora, pode-se dizer que mais numerosas são as dúvidas do que as certezas com relação a esse vírus. Especialmente no que concerne aos transplantados renais, as características clínico-patológicas, a história natural e os indicadores prognósticos da doença não foram ainda definidos (31).

### **1.1.1 Hepatite C em pacientes com insuficiência renal crônica e em transplantados renais**

A presença da hepatite C em transplantados renais deve-se a diversos fatores associados: à elevada prevalência do vírus C em pacientes em hemodiálise, à realização de transfusões sanguíneas no perioperatório do transplante, à possibilidade de aquisição da infecção através do enxerto e à imunossupressão a que são submetidos esses pacientes (128).

A freqüência da infecção pelo vírus C em pacientes em hemodiálise, doadores

e receptores de transplantes renais tem apresentado grande variação entre os diversos centros.

Como mostra a tabela 1, a frequência de infecção pelo HCV em hemodialisados variou amplamente, de 4,0% a 80,6%.

**Tabela 1. Frequência de Infecção pelo HCV em Pacientes em Hemodiálise**

Referência	Local	Frequência (%)	Teste
Jeffers, L. J. , Kidney Int, 1990 (81)	Miami	12,0	ELISA-1
Alivanis, P. , Transplant Proc, 1991 (3)	Grécia	9,0	ELISA-1
Hsien-Hong, L. , Am J Nephrol, 1991 (75)	Taiwan	46,7	ELISA-1
Kallinowski, B. , Nephron, 1991 (83)	Heidelberg	7,4	ELISA-1
Al-Dhahry, S.H.S. , Transplant Proc, 1992 (2)	Oman	26,5	ELISA-2
Bracchi, O. , Nephron, 1992 (18)	Melegnano	29,0	ELISA-1
Gubertini, G. , Nephron, 1992 (68)	Milão	22,3	ELISA-1
Mc Hutchison, J. G. , Hepatology, 1992 (107)	New Jersey	4,0	ELISA-1
Mitwalli, A. , Am J Nephrol, 1992 (111)	A. Saudita	30,7	ELISA-1
Triolo, G. , Nephron, 1992 (162)	Turin	32,0	ELISA-1
Alves, D. M. , (9) *	Pará	80,6	ELISA-2
Cunha, S. M. , (35) *	S.Paulo (S. Casa)	14,0	ELISA-1
Goldani, J. C. , (60) *	P.Alegre (S. Casa)	32,3	ELISA-1
Pinto, L. V. , (126) *	R. de Janeiro	35,7	ELISA-1
Bilgin, N. , Transplant Proc, 1993 (15)	Turquia	49,0	ELISA-2
Chan, T. M. , Hepatology, 1993 (30)	Hong-Kong	11,8	ELISA-1
Kubo, M. , Transplant Proc, 1994 (89)	Japão	30,0	ELISA-2
Cecílio, A. M. , (23) +	Niterói	32,0	?
Franco, M.H.C. , (54) +	São Paulo (S.Casa)	20,8	?
Gonçalves, M.R.T. , (63) +	Niterói	68,5	ELISA-2
Maccariello, E.R. , (96) +	R. de Janeiro	44,9	ELISA-2
Naghetini, A. V. , (117) +	Goiânia	36,0	ELISA-2
Nogueira Paes, F.J.V. , (120) +	Ribeirão Preto	24,5	?
Santana, G. , (145) +	Bahia	29,8	ELISA-2 /
Cendoroglo M. Nephrol Dial Transplant, 1995. (25) +	São Paulo (EPM)	35,1	?
Karohl, C. , J Bras Nefrol, 1995 (84)	P.Alegre (HCPA)	28,8	ELISA-2

\* XVI Congresso Brasileiro de Nefrologia - Livro de Resumo, 1992

+ Jornal Brasileiro de Nefrologia, vol XVI, Nº 2, Suplemento, 1994

? = Não explicitado

A transmissibilidade do HCV pelo enxerto renal foi alvo de inúmeras discussões. Hoje, está bem estabelecido que a transmissão existe, embora com taxas variáveis (22, 27, 77, 114, 122, 123, 124, 125, 132, 141, 159, 165, 171, 175), sendo influenciada, entre outros fatores, pela viremia do doador no momento do transplante. Como consequência, alguns autores recomendam a não utilização de órgãos oriundos de doadores HCV-positivos (77, 114, 125), enquanto outros propõem que esses órgãos continuem a ser utilizados, embora sob determinadas condições (10, 11, 86, 125, 141, 142, 165). De qualquer maneira, existe, atualmente, um vasto contingente de transplantados já infectados pelo HCV, quer durante a diálise, quer durante ou após o transplante.

Nos transplantados renais, a frequência da infecção tem mostrado variações amplas, atingindo valores bastante elevados em alguns centros. Algumas estatísticas relativas à frequência do vírus da hepatite C nesses pacientes são mostradas na tabela 2.

Tanto no caso dos pacientes em diálise como entre os transplantados, as diferenças entre os resultados encontrados podem dever-se a diversos fatores: 1) diferenças epidemiológicas reais entre os diversos centros em diversos países, com tendência a maior prevalência em países subdesenvolvidos; 2) diferenças nos momentos de testagem, alguns dos estudos detectando infecções agudas imediatamente após o transplante e outros identificando a persistência do vírus algum tempo depois; 3) diferenças na acurácia dos testes utilizados para diagnosticar a presença ou a exposição ao HCV. No caso específico dos transplantados, a origem dos doadores dos órgãos e sua condição sorológica são fatores a mais a determinar a magnitude da prevalência do HCV nesse grupo.

**Tabela 2. Frequência de Infecção pelo Vírus C em Transplantados Renais em Diversos Centros**

Referência	Local	Frequência (%)	Teste
Alivanis, P. , Transplant Proc, 1991 (3)	Grécia	16,6	ELISA-1
Chan, T. M. , Transplantation, 1991 (28)	Hong-Kong	6,2	ELISA-1
Fernandez, J.A. , Transplant Proc, 1991 (47)	Miami	22,0	ELISA-?
Oliveras, A. , Transplant Proc, 1991 (121)	Barcelona	25,0 - 31,4 *	ELISA-?
Roth, D. , Transplantation, 1991 (140)	Miami	30,0 - 22,0 *	ELISA-1
Alberú, J. , Transplant Proc, 1992 (1)	México	6,5	ELISA-1
		4,8	ELISA-2
Al-Dhahry, S.H.S. , Transplant Proc, 1992 (2)	Oman	13,4	ELISA-2
Cendoroglo Neto, M. , Transplant Proc, 1992 (24)	São Paulo (EPM)	40,0	?
Huang, C. , Transplantation, 1992 (76)	Taiwan	65,0 - 37,9 *	ELISA-1
Klauser, R. , Transplant Proc, 1992 (87)	Viena	13,0	ELISA-1
Marcen, R. , Transplant Proc, 1992 (101)	Madrid	10,0	ELISA-1
Morales, J. M. , Transplant Proc, 1992 (112)	Madrid	33,0	ELISA-1
Triolo, G. , Nephron, 1992 (162)	Turin	45,0	ELISA-1
Chan, T.M. , Gastroenterology, 1993 (29)	Hong-Kong	12,4	ELISA-2
			PCR
Marcen, R. , Am J Nephrol, 1993 (102)	Madrid	13,9	ELISA-1
		24,7	ELISA-2
		19,9	RIBA-4
Morales, J. M. , Transplant Proc, 1993 (113)	Madrid	25,3	ELISA-2
			RIBA-4
Stempel, C. A. , Transplantation, 1993 (156)	Califórnia	10,6	ELISA-1
Kubo, M. , Transplant Proc, 1994 (89)	Japão	34,2	ELISA-2
Tomikawa, S. , Transplant Proc, 1994 (161)	Toquio	29,0	ELISA-2
Zanotelli, M. L. , Tese de Mestrado, 1994 (175)	P. Alegre	33,3	ELISA-2
Bang, B. K. , Nephron, 1995 (14)	Coréia	12,8	ELISA-2
Manfro, R. C. , Transplant Proc, 1995 (100)	P. Alegre (HCPA)	39,5	ELISA-2

\* Resultados em momentos distintos do seguimento

? = Não explicitado

### 1.1.2 Caracterização e detecção do vírus da hepatite C

O vírus da hepatite C é um vírus pequeno, cuja classificação ainda não está completamente definida, mas que, a princípio, faz parte da família *Flaviridae* em um gênero intermediário entre os *flavivirus* e os *pestivirus*, guardando maior semelhança com os últimos (43, 152). É composto por uma única cadeia de ácido ribonucleico (RNA), dividida em regiões que codificam as proteínas do nucleocapsídeo ou core (região C), do envelope (regiões E1 e E2), além de uma série de proteínas não-estruturais (regiões NS1 a NS5). Algumas dessas regiões, em especial a E2 e a NS1 possuem segmentos hipervariáveis, responsáveis pela enorme heterogeneidade do genoma viral. Como consequência, o HCV apresenta diversos *genótipos* (ao menos 6 genótipos principais), com distribuição geográfica e características clínico-epidemiológicas distintas, além das chamadas *quasi-espécies*, que são variações do genoma do vírus em um mesmo indivíduo infectado (21, 128).

A detecção do vírus da hepatite C e seus anticorpos no soro humano foi revisada recentemente em diversos artigos (109, 169).

O teste inicialmente introduzido por Kuo e Choo (33, 90) foi o ELISA (Enzyme-linked immuno-sorbent assay), posteriormente chamado de ELISA-1 ou de primeira geração. Esse teste identifica a existência de anticorpos voltados para antígenos virais e não a presença do vírus diretamente. A presença do anti-HCV detectado pelo ELISA-1 surge ainda na fase aguda da doença e, portanto, não reflete necessariamente o desaparecimento do vírus ou um estado de proteção contra a infecção. Pode, em alguns casos, significar a cura após uma infecção aguda, mas pode, também, estar presente em vigência de doença ativa (crônica). Por outro lado, o anti-HCV pelo ELISA-1 pode desaparecer após a resolução do processo infeccioso (43, 109, 169). O ELISA -1 detecta anticorpos específicos contra o antígeno "c100 - 3", que corresponde ao produto de parte da região NS3 e quase toda a região NS4 (regiões não-estruturais) do vírus. O teste tem uma janela imunológica em torno de 3 meses, sensibilidade limitada (55 a 90 %) e alta percentagem de falsos positivos (50 a

80 %) entre grupos de baixo risco, em pacientes com hepatite crônica auto-imune (105) e em presença de hipergamaglobulinemia (43, 109).

Em 1991 foi introduzido o teste de segunda geração, chamado ELISA-2. Esse teste detecta anticorpos contra as proteínas recombinantes c22-3, derivada do core do vírus, e c200, derivada da combinação dos epítomos c33c (da região NS3) e c100-3, já conhecido. O novo teste diminuiu a janela imunológica para 4 a 8 semanas e aumentou a sensibilidade em mais 10% a 30% (5, 43, 107, 169). A especificidade do ELISA-2 é superior à do ELISA-1(43), situando-se entre 60% a 70% se comparado com o RIBA (107). O ELISA de segunda geração é hoje o teste mais difundido na prática clínica e o teste de triagem mais utilizado a nível de pesquisas. Uma avaliação das potencialidades e limites dos testes de segunda geração pode ser encontrada em editorial de H. J. Alter, de 1992 (7).

Como em outros pacientes imunocomprometidos, os testes sorológicos tipo ELISA, em especial os de primeira geração subestimam a prevalência da infecção nos transplantados renais (56, 166).

O teste "confirmatório" mais extensamente avaliado e mais utilizado é o RIBA (Recombinant immunoblot assay) de segunda geração. É conhecido por RIBA-2 (por ser de segunda geração) ou RIBA-4, por detectar anticorpos contra 4 antígenos: os três já identificados pelo ELISA-2 e mais a proteína 5.1.1, da região NS4. O RIBA-2 tem alta especificidade e valor preditivo positivo (133). A positividade do RIBA correlaciona-se fortemente com infectividade, viremia detectável e doença hepática clínica (43, 49, 163, 169). O RIBA não é disponível em nossa instituição atualmente.

Já existem, embora ainda não difundidos, testes ELISA e RIBA de terceira geração, que incluem um peptídeo adicional da região NS5 (109, 128).

A detecção do RNA viral no soro e em tecido hepático é usualmente realizada pelo método da PCR (Polymerase Chain Reaction), que amplifica determinadas sequências do genoma viral após sua transcrição para DNA através da enzima transcriptase-reversa. Os resultados dos estudos de prevalência do HCV em

transplantados realizados com PCR tendem a ser mais uniformes que aqueles que utilizam apenas detecção do anti-HCV (104, 130). Além disso, o HCV-RNA é o único marcador da infecção em um período de algumas semanas iniciais nas quais os testes sorológicos são negativos (46). No entanto, o PCR é uma tecnologia cara, complexa e ainda não está suficientemente padronizada (43, 109). Embora seu papel não esteja ainda definido, é considerado o indicador mais confiável da persistência da infecção viral, e o método preferível em pacientes com resposta imunológica comprometida, como os urêmicos e os transplantados (20, 130), mas um teste negativo não exclui níveis baixos (indetectáveis) de HCV-RNA ou partículas virais sequestradas em determinados tecidos (43, 109). Resultados falsos-negativos e falsos-positivos ocorrem freqüentemente por problemas técnicos e de controle de qualidade do laboratório executor (169).

Atualmente o PCR quantitativo está sendo utilizado na aferição da viremia pré e pós-tratamento com interferon ou outras drogas antivirais, mas as dificuldades técnicas e os cuidados necessários são ainda maiores (55, 176).

A quantificação do RNA viral pode ser realizada, também, pela técnica da amplificação do sinal do DNA ramificado (branched-DNA), que detecta o vírus em concentrações "fisiológicas", isto é, nas que ocorrem naturalmente nos líquidos e tecidos biológicos, evitando os problemas técnicos da amplificação pelo PCR. No entanto, é uma técnica experimental que tem demonstrado baixa sensibilidade (109).

### 1.1.3 Fisiopatogenia e evolução da hepatite C

Não se conhece, com certeza, o mecanismo patogênico do HCV nem o modo de persistência da infecção. Sabe-se que o RNA viral não se incorpora ao genoma do hospedeiro e que o desaparecimento tanto do anti-HCV como do HCV-RNA do soro do paciente não significa, necessariamente, recuperação da doença (43, 46, 106).

Ainda não está totalmente claro se o HCV é diretamente citopático ou se o dano à célula hepática é imunologicamente mediado (43). Recente revisão de Gonzáles-Peralta e Lau (64) aponta evidências de que o dano hepático pode se dar por mais de um mecanismo: dano citopático direto pelo vírus e mecanismos imunomediados, particularmente citotoxicidade por linfócitos T. O mecanismo predominante em cada caso dependeria das relações agente-hospedeiro (vírus-imunidade) particulares daquela determinada situação clínica, naquele momento.

Como foi enfatizado anteriormente, as conseqüências da infecção pelo HCV ainda não estão totalmente claras, em especial no que concerne a pacientes com alterações na resposta imunitária. Porém, de modo geral, a hepatite C deve ser considerada uma doença com alta morbidade e mortalidade a longo prazo.

Em indivíduos "normais", ou seja, não imunodeprimidos, a hepatite C tem um curso bastante variável, porém com uma alta taxa de cronificação, certamente acima de 50% (5). Algumas estimativas chegam a avaliar a taxa de persistência do anti-HCV, entendida como cronificação da infecção, em até 80% dos infectados (149).

Recente relato de autores franceses confirmou a existência do "estado de portador", com ALT e histologia normais, em até 11% dos pacientes assintomáticos com infecção pelo HCV (78).

Embora algumas vezes a hepatite C seja muito agressiva e mostre um prognóstico pior do que o da hepatite B em períodos curtos de tempo (41), na maior parte das vezes, a doença avança insidiosa e inexoravelmente, produzindo danos clinicamente significativos após 20 anos da infecção, chegando a cirrose em até 20% dos casos e progredindo a carcinoma hepatocelular (ao menos em certas populações)

após 30 anos da presença do vírus (128, 150).

Em imunodeprimidos, incluindo-se aí os transplantados renais, a progressão da doença tem mostrado curso diferente daquele da população em geral (32, 56, 125, 158), mas as informações disponíveis sobre a história natural da infecção pelo HCV após transplante renal devem ser consideradas ainda preliminares (56, 59).

Embora a morbidade associada à infecção pelo vírus da hepatite B em pacientes transplantados renais seja elevada (26, 34, 44, 167), não estão bem definidas as conseqüências da presença da infecção pelo HCV e/ou da presença do anti-HCV na evolução desses pacientes.

Em 1985, antes, portanto, da identificação do vírus C, Rao (135) já havia verificado que a hepatite crônica persistente (HCP), independente de sua etiologia, que era tida tradicionalmente como "benigna", pode, em transplantados renais, progredir para cirrose do fígado e levar o paciente à morte por insuficiência hepática.

Inúmeros estudos têm sido realizados a respeito da evolução dos transplantados renais infectados pelo HCV, com resultados contraditórios.

A freqüência de disfunção hepática nos transplantados renais HCV-positivos tem variado de 29% a 50% (89, 102, 161, 172). Foi verificada evolução para doença hepática severa (HCA ou cirrose) (102, 113), e alguns autores afirmam que a hepatite crônica em transplantados HCV-positivos é mais agressiva e com pior prognóstico do que entre os transplantados HCV-negativos.

Parece ser particularmente agressiva e de mau prognóstico a doença hepática em transplantados em que há co-infecção pelo HBV e pelo HCV.

A maioria dos autores conclui, no entanto, que a presença do HCV, embora venha efetivamente a causar alterações hepáticas nestes pacientes, cursa com manifestações clínicas que tendem a ser benignas, e a infecção não altera a sobrevida global nem a sobrevida do enxerto (11, 28, 47, 85, 87, 110, 128, 134, 140, 143, 152, 156, 161, 172).

Particularmente interessante é o estudo de Pol e colaboradores (127) que,

analisando 140 receptores de transplantes renais HCV+ com uma média de 51 meses pós-transplante, verificaram que, embora a prevalência do anti-HCV tenha sido maior entre os transplantados renais com lesões de hepatite crônica e cirrose do que em pacientes com lesões mínimas ou sem lesões histológicas, ao comparar os pacientes anti-HCV positivos e negativos dentro de cada categoria histológica, não detectaram diferenças de sobrevida atuarial dos pacientes e dos enxertos.

Essas conclusões, no entanto, não podem ser consideradas definitivas devido a diversos fatores, como por exemplo: 1) o tempo de seguimento desses estudos é relativamente curto, situando-se em torno de 3 a 10 anos e na hepatite C a morbidade e mortalidade associadas à infecção aumentam com o tempo de seguimento, sendo mais nítidas justamente após 10 anos; 2) na maioria desses trabalhos, a hepatopatia crônica é definida a partir de alterações nas enzimas hepáticas, que caracteristicamente não são um bom indicador de doença na hepatite pelo vírus C; 3) a detecção do HCV foi feita por métodos distintos nos vários estudos, embora a tendência geral de não-alteração do prognóstico tenha se mantido mesmo nos trabalhos que utilizaram PCR; 4) independentemente do teste utilizado, o próprio significado patogênico da presença do antígeno viral ou seu anticorpo não está claramente definido, devido às peculiaridades da biologia do vírus C e ao pouco conhecimento existente sobre suas relações com um hospedeiro imunossuprimido.

Portanto, faz-se necessário, em todos os receptores de transplantes renais que se mostrarem HCV-positivos, um acompanhamento próximo e permanente das condições hepáticas. Coloca-se, dessa forma, o problema de qual a maneira mais adequada de fazer este acompanhamento.

As relações entre níveis anormais de ALT, lesões histológicas de hepatite crônica e disfunção hepática não estão bem definidas (158).

Em recente trabalho, Chan e colaboradores (31) afirmaram que em transplantados renais o perfil bioquímico correlaciona-se com a histologia hepática.

Em nosso meio, Manfro e colaboradores (100) verificaram que os

transplantados renais HCV-positivos tinham provas bioquímicas hepáticas mais elevadas que os transplantados HCV-negativos. No entanto, essa relação não é consistentemente confirmada pela maioria dos autores.

Embora a presença de anticorpos anti-HCV ou de HCV-RNA tenha sido claramente associada a aumento persistente ou "flutuante" das enzimas hepáticas, o valor preditivo e a sensibilidade da elevação das aminotransferases (AST e ALT) são reduzidos, quer do ponto de vista de indicar infecção pelo HCV, quer na correlação com a gravidade da doença hepática (17, 29, 41, 59, 136, 137, 156). Existem relatos consistentes de casos de hepatite C com RNA viral detectável, biópsia evidenciando lesões histológicas de hepatite crônica, mas com aminotransferases persistentemente normais (19).

Por esses motivos, alguns autores têm enfatizado a importância de biópsias seriadas na avaliação de receptores de transplantes infectados pelo HCV (123, 135). Druwé (40), revisando a literatura a respeito, é incisivo em afirmar que a positividade para o anti-HCV *per se* e a presença de anormalidades nas provas hepáticas **não** têm valor diagnóstico ou prognóstico se não forem acompanhadas pela histologia. De fato, resultados mais consistentes no sentido de avaliar as consequências da doença hepática em transplantados renais são os de Rao (136, 137), que verificou morbidade e mortalidade mais elevadas em transplantados renais que apresentavam hepatite crônica ativa à punção biópsia hepática (PBH). Essa elevação não ocorreu quando a lesão hepática encontrada na PBH foi esteatose ou hepatite crônica persistente (136). Esses dados estão de acordo com o fato que, em não-transplantados, o grau de lesão hepática encontrado na primeira biópsia realizada está associado ao ritmo de progressão da hepatite crônica para cirrose (43, 144). No entanto, nos estudos de RAO, as conclusões não foram correlacionadas com a etiologia da hepatite crônica, ou seja, não são apresentados elementos que permitam pressupor os riscos de evolução da doença hepática crônica em transplantados especificamente infectados pelo vírus C.

Boletis e colaboradores (17) são incisivos em afirmar a necessidade de biópsia hepática nos transplantados renais HCV positivos, com finalidade diagnóstica e prognóstica, já que em seu estudo de 40 pacientes verificaram a existência de um espectro de lesões morfológicas hepáticas nesses pacientes, não previstas pelos níveis de enzimas hepáticas nem pela presença de anticorpos anti-HCV IgM.

#### **1.1.4 Histopatologia na hepatite C**

A interpretação de biópsias hepáticas em casos de hepatites infecciosas depende dos critérios de classificação das hepatites empregados pelo patologista, critérios estes que tem passado por modificações.

A classificação das hepatites crônicas proposta, em 1968, por De Groote, baseava-se, originalmente, em critérios morfológicos e buscava expressar uma diferença de prognóstico entre os grupos de casos com características semelhantes, particularmente com respeito ao potencial desenvolvimento de cirrose. Em 1977, um grupo internacional promoveu uma revisão dessa classificação, estabelecendo uma nomenclatura para designar as formas de hepatite crônica que vem sendo amplamente usada até hoje (79, 152, 153).

Hepatite crônica agressiva ou ativa (HCA) foi definida como uma lesão crônica inflamatória e fibrosante do fígado, caracterizada por necrose em saca-bocado com formação de fibras novas e infiltração linfocítica dos espaços-porta e dos lóbulos, admitindo a presença de infiltração por outras células, mais comumente plasmócitos, (79).

Hepatite crônica persistente (HCP) caracteriza-se por uma infiltração inflamatória crônica, principalmente portal, com ausência de fibrose e necrose em saca-bocado (79). A hepatite crônica lobular (HCL) é incluída junto à HCP em algumas classificações, mas diferencia-se dessa, morfológicamente, por apresentar infiltrado inflamatório predominantemente intralobular, podendo mostrar alguma necrose focal intra-acinar (79, 153).

Cabe destacar que em qualquer dos casos, existe atividade inflamatória com infiltração celular e que essa classificação foi desenvolvida em um contexto que se referia fundamentalmente à hepatite pelo vírus B.

Em 1981 Knodell e colaboradores desenvolveram um sistema de escore numérico para avaliar a atividade histológica *em pacientes com hepatite crônica ativa assintomática* (88). O objetivo principal do escore era correlacionar achados histológicos com diferentes prognósticos e respostas a tratamento pelos pacientes, visto que a classificação de hepatite crônica ativa inclui um grupo clinicamente bastante heterogêneo de pacientes. Outro objetivo desse sistema era possibilitar análises estatísticas dos resultados das biópsias hepáticas para fins de trabalhos científicos. Esse sistema foi chamado de Índice de Atividade Histológica (IAH), ou Escore de Knodell, e baseia-se na quantificação (ainda que subjetiva) dos achados morfológicos característicos da hepatite crônica ativa: necrose periportal e em ponte, degeneração intralobular e necrose focal, inflamação portal e fibrose. O escore tem como resultado números inteiros, teoricamente de zero a 22. Ao menos no que concerne às lesões periportais (inflamação e necrose), o escore é tanto maior quanto maior for a atividade inflamatória e o infiltrado celular. No próprio trabalho original, os autores aplicaram o IAH também a pacientes com hepatite crônica persistente e lesões inespecíficas, nos quais obtiveram escores mais baixos (88).

Com a explosão de informações sobre a hepatite C, após a clonagem do vírus por Kuo e Choo, ficou óbvia a necessidade de rever a patologia das hepatites crônicas no novo contexto, bem como verificar a existência de um padrão histológico específico do vírus C. Os marcos nessa avaliação foram os trabalhos de Scheuer e colaboradores (147) e Bach e colaboradores (12), publicados simultaneamente em 1992. Nesses trabalhos, ficou claro que a hepatite crônica pelo vírus C preenche os critérios previamente estabelecidos para classificar as hepatites crônicas. No entanto, possui características próprias, que embora não sendo patognomônicas da doença, estão fortemente associadas à etiologia por esse vírus, auxiliando no diagnóstico

diferencial com outras formas de hepatite crônica, como a auto-imune. Foram citados, naqueles trabalhos: padrão histológico habitual de hepatite crônica leve, folículos linfóides em espaços-portas, lesão de ductos biliares e esteatose.

Certamente, a atividade inflamatória presente no fígado de pacientes com hepatite crônica C é altamente variável, mas verifica-se com regularidade a tendência de concentração de linfócitos no espaço-porta, sob a forma de folículos ou agregados, e presença menos marcada dessas células no espaço acinar.

É importante ressaltar que o diagnóstico de hepatite crônica pelo vírus C só pode ser estabelecido se os critérios histológicos de hepatite crônica estão preenchidos e mediante a *comprovação sorológica ou imuno-histoquímica da presença do vírus C* (147).

Posteriormente agregou-se aos achados previamente descritos como sugestivos de hepatite C a presença periportal de corpúsculos tipo Mallory, e verificou-se que, com a evolução da doença, a atividade histológica pode ser mais intensa do que a originalmente descrita (65). Mais recentemente, Czaja (37) reafirmou que as características histológicas mais sugestivas de hepatite C são a esteatose e os agregados linfóides em espaço-porta, sugerindo que padrões histológicos baseados nas características individuais das hepatites podem ter alta especificidade (81% a 99%), mas baixa sensibilidade (36% a 57%).

Chan e colaboradores (31) desenvolveram uma modificação do sistema de Knodell, de modo a incluir, além do IAH, graduações de "anormalidades da arquitetura" e de "dano em ductos biliares", os quais somados levam a um "escore total". Esse sistema, no entanto, ainda é pouco utilizado na literatura.

Mais recentemente diversos autores, revisados por Czaja (36), apontaram problemas e divergências quanto à classificação das hepatites crônicas. Esses problemas, em parte, referem-se a demonstração, por estudos de longo seguimento, de discordâncias entre o prognóstico e o subtipo histológico da doença necro-inflamatória do fígado, bem como dos resultados da aplicação de novas drogas

terapêuticas, como o interferon (80).

Ao mesmo tempo, em boa parte baseada na experiência com a hepatite C, ganhou corpo uma concepção contrária a que via a hepatite crônica persistente e a crônica ativa como entidades totalmente separadas, passando-se a considerar ambas como distintos graus de severidade de um mesmo processo (39).

Em artigo de 1993, Czaja concluiu pela necessidade de uma nova classificação para as hepatites crônicas, que se baseasse tanto no agente etiológico como no mecanismo patogênico predominante (36).

Em 1994, Desmet e colaboradores (39) definiram a hepatite crônica não como uma simples doença, mas como uma síndrome clínica e patológica, com várias causas e caracterizada por vários graus de inflamação e necrose hepatocelular, sendo o componente inflamatório composto por células predominantemente linfocíticas. Em seu artigo, propõem-se a fornecer elementos para uma classificação das hepatites crônicas baseada primariamente na etiologia, servindo as características histológicas para definir o *grau* e o *estágio evolutivo* das mesmas.

A tarefa de definir a nova nomenclatura foi levada a cabo por um grupo de trabalho internacional, que estabeleceu que "*a designação etiológica deve ser usada sempre que possível*", e que os nomes tradicionais são inaceitáveis, particularmente se utilizados sem a designação etiológica (95). Pela nova classificação, as categorias de doenças crônicas do fígado são as seguintes: hepatite auto-imune, hepatite crônica B, hepatite crônica C, hepatite crônica D, hepatite crônica viral não especificada ou de tipo desconhecido, hepatite crônica não classificada como de origem viral ou auto-imune; hepatite crônica por drogas, cirrose biliar primária, colangite esclerosante primária, doença de Wilson e doença hepática por deficiência de alfa-1-antitripsina. O elemento determinante para classificar uma hepatite crônica como B, C, ou D é a detecção da presença de marcadores virais (antígenos virais ou anticorpos específicos), já que somente os padrões histológicos não são suficientes para estabelecer a etiologia da doença (37).

Como a classificação etiológica, isoladamente, não informa sobre o grau ou o estágio das lesões, são agregados elementos indicativos da atividade inflamatória (o Índice de Atividade Histológica - Escore de Knodell) e da quantidade de fibrose encontrada (39, 65, 80).

Outro problema é a avaliação das características das hepatites virais no paciente imunodeprimido. Não só a evolução anatomopatológica da doença é distinta daquela nos pacientes imunocompetentes, mas também a relação entre padrão morfológico e desenlace clínico pode estar modificada.

A imunossupressão *per se* e o tipo de droga utilizada também têm influência na gravidade da doença e, possivelmente, em sua expressão morfológica (113, 143).

Em receptores de transplante hepático, Ferrel e colaboradores verificaram que a hepatite C produz quadros histológicos leves, por vezes difíceis de distinguir de outros eventos que atingem o fígado desses pacientes, como isquemia, rejeição, obstrução ou infecções por outros agentes (48).

Franceschini e colaboradores(52) verificaram que, em urêmicos em hemodiálise, o dano hepático na co-infecção pelos vírus B e C não é aditivo, e que é possível que somente a hepatite B determine a severidade do dano nesses pacientes. Diferente é o que ocorre nos transplantados, em que a co-infecção pelo HBV e HCV parece provocar doença de maior agressividade (76).

Alguns estudos clinicopatológicos realizados em transplantados renais com hepatite C não evidenciaram diferenças no padrão histológico de expressão das lesões causadas pelo vírus relativamente ao padrão encontrado em outros tipos de pacientes com hepatite C (17, 31).

De qualquer maneira, a morfologia do tecido hepático obtido através de biópsia continua sendo o "padrão-ouro" para o diagnóstico das doenças infecciosas e imunológicas do fígado.

Por outro lado, a PBH não é um procedimento inofensivo. Embora com a utilização do método de Menghini a mortalidade seja pequena (de 0,015% a 0,017%),

existe risco de hemorragia, hematoma, fístula artério-venosa intra-hepática e bacteremia transitória (138, 151).

## **1.2 Citologia aspirativa hepática**

Recente trabalho realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) avaliou o papel da citologia aspirativa hepática obtida mediante punção aspirativa com agulha fina (PAH) no diagnóstico da hepatopatia crônica em pacientes urêmicos HBsAg positivos, concluindo que a PAH é útil no diagnóstico da doença hepática e na discriminação entre pacientes com lesões maiores (hepatite crônica ativa) e menores (lesões mínimas ou hepatite crônica persistente) (51, 53).

A técnica da punção aspirativa com agulha fina foi originalmente descrita por Häyry e von Willebrand para diagnóstico de rejeição em transplantes renais (70). A partir de então, vem sendo utilizada com esta finalidade rotineiramente em vários centros em todo o mundo e inclusive em nosso meio (16, 61, 66, 99, 139, 173).

Em 1982, a PAH foi introduzida por Lautenschlager (autor do mesmo grupo de Helsinque) para avaliação de processos imunológicos (rejeição) também no transplante hepático, no qual tem sido amplamente utilizada, mostrando-se eficiente e segura (69, 72, 92, 93, 119, 148).

Foi verificado, além disso, que a PAH pode demonstrar a presença de infiltrado inflamatório no fígado em situações de infecção viral, ao menos no que se refere à hepatite B (174).

Schlitt e colaboradores(148) utilizaram, com sucesso, a PAH em receptores de transplante de fígado para diferenciar episódios de disfunção do enxerto por rejeição, dano tóxico, isquemia ou infecção viral.

Lautenschlager (94), posteriormente, realizou estudo semelhante, mas já no âmbito da hepatite C. Concluiu que os padrões citológicos da reativação da infecção pelo HCV diferem levemente daqueles da infecção pelo citomegalovírus (CMV), mas

se distinguem claramente da rejeição aguda do enxerto hepático.

O método da citologia aspirativa por aspiração do fígado (ou do rim) por agulha fina baseia-se na contagem das células inflamatórias presentes no interstício do órgão, dando a elas "pesos" diferenciados de acordo com sua importância na resposta inflamatória e / ou imunitária. De forma a "corrigir" a amostra de possível contaminação por células do sangue, é realizada uma punção digital para obtenção de sangue periférico e as células inflamatórias aí encontradas são "descontadas" daquelas obtidas do tecido. Os valores alcançados pelo número de cada um dos tipos celulares, devidamente ponderados, são somados, constituindo um escore numérico chamado de Incremento Corrigido Total (ICT).

O ICT é, pois, uma medida de atividade inflamatória ou imunológica nos tecidos.

Do ponto de vista de riscos para o paciente, a PAH tem-se mostrado segura. Os acidentes descritos na literatura em punções hepáticas com agulha fina referem-se a situações distintas daquelas utilizadas para o cálculo do ICT. Artigo de revisão de Smith (154B) refere que *em pacientes com neoplasia do fígado*, a punção pode semear células malignas no trajeto da agulha, ou pode provocar hemorragia severa pela punção direta do tecido neoplásico mais vascularizado e com menos capacidade de hemostasia do que o tecido hepático normal. Nenhuma desses riscos ocorre em fígados transplantados ou em pacientes com hepatite infecciosa. Além disso, no artigo citado, as agulhas utilizadas foram de calibre 19 a 23, mais grossas, portanto, do que as utilizadas na técnica de Häyry e von Willebrand e Lautenshlager, de calibre 25, também utilizadas em nosso meio (ver Pacientes e Métodos, seção 2.4.3). Desde que o método do ICT passou a ser empregado na monitorização de transplantes renais no HCPA em 1988, não foi verificado nenhum acidente pela punção com a agulha fina. Também não ocorreram acidentes nas punções hepáticas realizadas em nossa unidade em pacientes urêmicos com hepatite B (51, 53).

O presente trabalho propõe-se a avaliar o papel da medida do ICT obtido por

meio da PAH no diagnóstico da doença hepática pelo vírus C em transplantados renais.

### 1.3 Objetivos

1) Verificar a eficácia da punção aspirativa hepática por agulha fina na identificação da presença e do nível de gravidade das lesões hepáticas em transplantados renais portadores de hepatite crônica pelo vírus C.

2) Verificar a frequência e a gravidade das lesões histológicas hepáticas em uma população de transplantados renais HCV-positivos.

3) Identificar fatores associados à maior frequência ou gravidade da hepatite crônica nesses pacientes, examinando-se os seguintes fatores:

- parâmetros demográficos: sexo e idade;
- doença-base (que levou à insuficiência renal);
- alteração e nível das enzimas hepáticas;
- tempo de hemodiálise;
- número de transfusões de sangue;
- tempo de transplante;
- rejeições;
- drogas imunossupressoras;
- drogas hepatotóxicas;
- co-infecção por outros vírus.

## **2. PACIENTES E MÉTODOS**

### **2.1 Caracterização do estudo**

Este estudo foi realizado no período de março de 1993 a junho de 1995 no Serviço de Nefrologia do HCPA, contando com o apoio das demais áreas de diagnóstico e tratamento do hospital.

Trata-se de um estudo com dois componentes, em que foram realizadas punções aspirativas com agulha fina (PAH) e punções biópsias hepáticas (PBH) em transplantados renais que realizam acompanhamento no Serviço de Nefrologia do HCPA e que mostraram-se positivos para o anti-HCV por 6 meses ou mais, independentemente do tempo de transplante.

Seu núcleo principal é um estudo de método diagnóstico, em que comparam-se os resultados da PAH com os da PBH realizada simultaneamente nos mesmos pacientes.

A segunda parte é um estudo transversal em que se avaliam as lesões histológicas encontradas nesses pacientes (conforme a PBH) e a presença de diversos fatores de exposição.

### **2.2 Variáveis em estudo**

O evento principal do estudo é o tipo ou grau de lesão hepática encontrada nos pacientes por meio da PBH. Para expressá-la, utilizou-se: a) a classificação clássica

das hepatites crônicas (79, 153), adaptadas por Scheuer para aplicação às hepatites pelo vírus C (146); b) o escore de atividade histológica, ou Escore de Knodell (88). Pelo primeiro critério, as lesões encontradas foram agrupadas, para efeito de análise, em 4 categorias, em ordem crescente de gravidade: 1) ausência de lesões, lesões mínimas ou inespecíficas e lesões de outro tipo que não hepatite crônica (por exemplo, a hemossiderose); 2) hepatite crônica persistente e hepatite crônica lobular; 3) hepatite crônica ativa em grau leve, moderado e grave ou avançado; 4) cirrose hepática. O Escore de Knodell constitui uma variável numérica discreta, sendo expressa em números inteiros. O protocolo de interpretação da PBH está no Anexo II.

Os resultados da PAH são expressos principalmente através do "Incremento Corrigido Total" e do número de células imunoativadas por lâmina. O protocolo de interpretação da PAH é apresentado no Anexo III.

As variáveis independentes são aquelas de caracterização do paciente e as que poderiam estar associadas ao resultado histológico encontrado. São as seguintes:

- dados demográficos dos pacientes - sexo e idade;
- doença base que levou à perda da função renal;
- tempo de hemodiálise;
- número de transfusões de sangue;
- tipo de doador;
- tempo pós-transplante;
- ter ou não ter tido rejeições agudas;
- número de rejeições;
- imunossupressão: estar utilizando atualmente ou ter utilizado, no passado, prednisona, azatioprina, ciclosporina ou ciclofosfamida; tempo de uso destas drogas; ter ou não ter recebido pulsos de metil-prednisolona; número de pulsos recebidos; ter ou não utilizado OKT3 (profilaticamente ou para resgate de rejeição aguda) e número de cursos recebidos;
- uso, atual ou passado de drogas hepatotóxicas: metil-dopa, cetoconazol,

isoniazida, paracetamol; tempo de uso destas drogas;

- status sorológico para HBsAg, HIV e CMV;
- provas bioquímicas hepáticas: aminotransferases (ALT e AST), gama-GT, fosfatase alcalina e bilirrubinas.

O protocolo de investigação está apresentado no Anexo I.

As drogas não-imunossupressoras hepatotóxicas selecionadas para o estudo obedeceram ao critério da possibilidade de produzir um padrão de lesão hepática que pode ser confundido, histologicamente, com o das hepatites virais, ou influenciar a evolução das mesmas (136, 151).

## **2.3 Pacientes**

### **2.3.1 Imunossupressão**

O protocolo básico de imunossupressão em uso no Serviço de Transplante Renal do HCPA desde 1989, chamado "esquema triplo", consta das seguintes drogas:

- prednisona: 2 mg/kg/dia por via oral (VO) iniciais, reduzindo-se rapidamente para 0,5 mg/kg/dia, e, após o primeiro mês, redução gradual até chegar em 0,15 mg/kg/dia por volta do 6º mês, mantendo-se, então, nessa dose;

- ciclosporina A: 8 mg/kg/dia VO até o 14º dia, reduzindo-se para 6 mg/kg/dia do 15º dia ao final do primeiro mês, depois reduzindo gradualmente até o final do 6º mês, quando se atinge a dose de manutenção de 3 a 4 mg/kg/dia, conforme a função renal e as condições clínicas;

- azatioprina: 2 mg/kg/dia VO no primeiro mês, reduzindo-se gradualmente até chegar a 0,5 mg/kg/dia no final do primeiro ano, mantendo-se nessa dose ou retornando a 2 mg/kg/dia nos pacientes em que seja necessário suspender a ciclosporina.

Receptores de rins de doador vivo HLA-idêntico recebem doses mais baixas de prednisona e azatioprina e não utilizam ciclosporina.

Pacientes de alto risco imunológico recebem o esquema chamado "imunossupressão quádrupla seqüencial". No momento do transplante, recebem um curso "profilático" de anticorpo monoclonal anti-CD3 (ORTHOCLONE-OKT3®), na dose de 5 mg/dia (EV), de 5 a 14 dias. Nesses pacientes, a ciclosporina é iniciada somente 2 dias antes da retirada do OKT3, e já em dose de 6 mg/kg/dia.

O tratamento da rejeição aguda é realizado com "pulsos" de metil-prednisolona na dose de 7 mg/kg/dia, por 3 dias. Caso não haja resposta (rejeição córtico-resistente), o pulso pode ser estendido por 2 dias adicionais ou realizado um curso de OKT3 na dose descrita acima, de 10 a 14 dias.

Pacientes transplantados antes de 1989 receberam esquemas diversos.

### 2.3.2 Tamanho da amostra

Previamente ao início do trabalho foi realizado o cálculo do tamanho ideal da amostra, a fim de servir de referência para a análise e posterior discussão dos resultados. Esse cálculo buscou o tamanho da amostra necessário para encontrar uma sensibilidade de 75% no teste em estudo (a PAH) com uma significância estatística de 5% ( $\alpha = 0,05$ ) e um erro máximo admitido de 10% ( $\varepsilon = 0,10$ ). A sensibilidade de 75% utilizada no cálculo baseou-se na encontrada por Franceschini (51) ao avaliar o mesmo método - a citologia hepática - em urêmicos com hepatite B. A fórmula utilizada foi :

$$n = [ N (Z_{\alpha/2})^2 p (1 - p) ] \div [ N \varepsilon^2 + (Z_{\alpha/2})^2 p (1 - p) ]$$

sendo:  $Z_{\alpha/2} = 1,96$

$\varepsilon = 0,10$

$N = 61$

O “N” por sua vez, foi calculado levando-se em conta que, nos 111 pacientes testados para a presença de anti-HCV, encontrou-se 40,5% de positividade. Aplicando-se essa frequência aos 150 transplantados em acompanhamento no ambulatório do Hospital de Clínicas, chega-se a uma população estimada de transplantados renais HCV+ de 61 pacientes (N = 61).

Aplicando-se a fórmula acima, tem-se como resultado uma amostra ideal estimada em 33 pacientes (n = 33).

### **2.3.3 Seleção dos pacientes**

O Hospital de Clínicas de Porto Alegre iniciou a realização de transplantes renais em janeiro de 1974, tendo, até junho de 1995, realizado 243 transplantes com doadores vivos e cadavéricos. Desses pacientes, 150 encontravam-se em acompanhamento, com enxerto funcionante, no ambulatório de transplantes do hospital no mês de junho de 1995.

A testagem para o anti-HCV pelo ELISA-2 foi introduzida no hospital no final de 1992. A partir daí, passaram a ser testados os candidatos a receptores no momento da avaliação pré-transplante e os já transplantados na medida em que vinham comparecendo ao ambulatório para avaliação periódica. Os pacientes que apresentaram anti-HCV positivo pelo ELISA-2 na primeira testagem repetiram o teste pelo mesmo método após um período mínimo de seis meses. Aqueles que permaneceram positivos foram considerados elegíveis para o estudo.

Em junho de 1995, cento e onze (111) pacientes haviam sido testados, sendo que 45 (40,5%) apresentaram resultado positivo. Trinta e seis (36) pacientes haviam tido oportunidade de repetição do exame 6 meses após o primeiro teste, sendo que em todos eles o anti-HCV permaneceu positivo pelo ELISA-2.

A presença de qualquer das seguintes condições foi considerada critério para a exclusão do estudo:

- alcoolismo recente (há menos de 10 anos), identificado pelo relato do

paciente ou familiares, por registro no prontuário ou pelo teste CAGE (82, 103, 160);

- condição que não permitisse a realização de PBH, como doença hemorrágica, mau estado geral, infecção sistêmica, sepse, etc.;

- infecção aguda (ativa) pelo CMV ou hepatopatia aguda;

- doença hepática focal;

- já ter realizado biópsia / já ter diagnóstico histológico.

Quatro pacientes foram excluídos, dois por já ter biópsia prévia, um por apresentar rins policísticos volumosos, dificultando a biópsia, e outro por apresentar quadro infeccioso no dia do procedimento. Restaram, pois, 32 pacientes, que constituíram a amostra final, número semelhante ao previsto, inicialmente, para o tamanho da amostra (seção 2.3.2). Um desses pacientes havia recebido um retransplante, mas, por constituir-se em um caso isolado, não sofreu análise estatística em separado.

Os pacientes foram informados e orientados sobre os objetivos e os possíveis riscos do estudo. Dois pacientes não aceitaram submeter-se à PBH e em outros dois casos não houve tempo hábil para a marcação das biópsias dentro do prazo do estudo. Esses pacientes foram tratados como "perda" na análise estatística.

Todos os 28 restantes assinaram termo de consentimento informado (Anexo IV) e submeteram-se à biópsia e à punção aspirativa.

## **2.4 Métodos**

### **2.4.1 Marcadores virais**

O teste realizado para a detecção do anti-HCV foi o ELISA de 2ª geração "UBI® HCV EIA 4.0" (United Biomedical, Inc. New York, USA), que emprega peptídeos sintéticos correspondentes aos segmentos NS3, NS4 e NS5 do core do vírus da hepatite C. No momento da primeira testagem, foi realizado também o teste para o HBsAg "Enzygnost® HBsAg monoclonal II" (Behring - Behringwerke AG, Marburg,

Germany) e proteinograma, esse último com a finalidade de identificar hipergamaglobulinemia, fator que pode afetar o resultado do anti-HCV, levando a falsos positivos.

#### **2.4.2 Avaliação clínico-laboratorial**

Previamente à biópsia, os pacientes foram avaliados clínica e laboratorialmente com hemograma, contagem de plaquetas, provas de coagulação (tempo de protrombina e TTPA), ALT, AST, gama-GT, bilirrubinas e fosfatase alcalina. Também foram submetidos à ecografia abdominal para verificar a existência de lesão focal ou outra patologia que contra-indicasse a biópsia. A testagem para o CMV e o HIV é realizada rotineiramente nos pacientes na avaliação pré-transplante e repetida posteriormente em caso de suspeita clínica.

As demais informações contidas no protocolo foram obtidas a partir do prontuário e em entrevista com o paciente .

#### **2.4.3 Punção aspirativa hepática (PAH)**

A PAH foi realizada com agulha de punção lombar pediátrica, 25 G x 3½, conforme a técnica de Hayry e von Willebrand (70), adaptada para fígado por Lautenschlager e outros (69, 72, 93). Por essa técnica, o procedimento é realizado à beira do leito ou em caráter ambulatorial. O paciente é posicionado em decúbito lateral esquerdo, o fígado é demarcado por percussão e é realizada anti-sepsia local com iodoform. Não é necessária a anestesia local cutânea. A agulha é inserida perpendicularmente à pele, é retirado o mandril, adaptada uma seringa de 20 ml e realizada aspiração manual, ao mesmo tempo em que se produz movimento de rotação da seringa. O material obtido é eluído e suspenso em 03 ml de meio de cultura para células RPMI. Todas as punções foram realizadas em duplicata. Imediatamente após a PAH, foi realizada coleta de sangue periférico por punção digital e o material

obtido foi também suspenso em RPMI. As suspensões com o produto das PAH e da punção digital foram processadas por citocentrifugação, e dois citoesfregaços de cada amostra foram fixados em metanol e corados com corante hematológico de May-Grünwald, Giemsa. A listagem do material utilizado consta da tabela 3.

**Tabela 3 . Material Utilizado na PAH**

- Seringas de 20 ml e 5 ml
  
- Agulha de punção lombar pediátrica, 25 G 3½, com mandril
  
- Agulha hipodérmica 21 G
  
- Campo fenestrado
  
- Álcool iodado / Iodofor
  
- Tubos de ensaio para centrífuga
  
- Meio de Cultura para células (RPMI 1640 + heparina 25 U/ml + Hepes 1 ml + albumina bovina 30% 10 ml)

#### **2.4.4 Punção biópsia hepática (PBH)**

As punções biópsias hepáticas (PBH) foram realizadas no Centro Cirúrgico Ambulatorial (CCA) do HCPA, seguindo a técnica convencional, com cuidados de assepsia e anestesia local, utilizando agulha de Menghini de tamanho variável de acordo com o paciente. Os fragmentos obtidos foram fixados em formalina, incluídos em parafina e corados com hematoxilina-eosina, tricrômico de Gomori, reticulina, PAS e picrossírius; as lâminas em que se pesquisou hemossiderose foram coradas com o corante de Pearl.

#### **2.4.5 Avaliação do material e interpretação das leituras das PAH**

Todas as PAH foram interpretadas em duas ocasiões por um único indivíduo

(nefrologista da equipe de transplante renal) com experiência no método do ICT. A primeira leitura foi realizada conforme a ordem da entrada dos casos no serviço. Na segunda leitura foi seguido apenas um código numérico sequencial sem relação com a situação clínica do paciente naquele momento. Em ambas as situações o nefrologista que interpretou as PAH desconhecia o resultado da anatomia patológica.

As lâminas de PAH foram processadas sempre em duplicata, cada uma representando uma das punções, e escolhendo-se o resultado da punção considerada mais representativa.

Foram consideradas adequadas para diagnóstico as lâminas que apresentassem ao menos 7 hepatócitos para cada 100 leucócitos. As lâminas que não cumprissem esse critério não eram consideradas representativas e não foram incluídas nas análises.

Além disso, a leitura das PAH foi realizada duas vezes, em dois momentos diferentes: a primeira durante a rotina do serviço e a segunda em uma revisão específica para o estudo. Os resultados foram comparados estatisticamente, e optou-se, para efeito das análises restantes, por utilizar a segunda série de leituras. Em um dos casos quando da realização da segunda leitura, tinha havido descoloramento da lâmina, inviabilizando sua interpretação; nesse caso utilizou-se para a análise somente o resultado da primeira leitura.

O protocolo de leitura da PAH e de cálculo do Incremento Corrigido Total está no Anexo III. Além da contagem, os hepatócitos foram avaliados quanto a sua integridade morfológica e graduados como 0 (hepatócitos normais), 1 (edema celular), 2 (edema + vacuolização), 3 (presença de inclusões), 4 (necrose). A quantidade de colestase também foi graduada como 0 (sem colestase), 1 (mínima), 2 (leve), 3(severa) e 4 (maciça), com descrição adicional da localização predominante da bile, intracelular (i) ou extracelular (e), conforme descrito por Schlitt (148). Esses escores, além de indicar a presença de processos parenquimatosos de outras etiologias, serviram como "marcadores" auxiliares na comparação entre as duas leituras da

mesma lâmina.

O Incremento Corrigido Total (ICT) foi calculado contando-se o número de células inflamatórias presentes no esfregaço, de acordo com os critérios hematológicos clássicos, contando-se um número mínimo de 100 e máximo de 300 células. Desse valor, subtrai-se o número das mesmas células verificadas no esfregaço de sangue periférico, utilizando-se os mesmos critérios. Quando o resultado é positivo, é multiplicado por um fator de correção que valoriza diferentemente cada tipo de célula de acordo com sua importância na resposta imunológica. Por exemplo: linfoblastos, plasmócitos, monoblastos e macrófagos têm fator de correção igual a 1; linfócitos ativados valem 0,5; linfócitos granulares grandes e monócitos têm correção de 0,2 e os linfócitos comuns valem 0,1. A soma dos valores encontrados é o ICT. (62)

#### **2.4.6 Interpretação das PBH**

Todas as PBH foram interpretadas pelo mesmo patologista, que tinha como informação prévia apenas o fato de o paciente ser transplantado renal HCV-positivo, sem conhecimento do resultado da citologia.

O protocolo de avaliação das PBH pelo patologista está no Anexo II e, como já citado, baseia-se na classificação tradicional das hepatites crônicas (79), acrescida dos critérios de Scheuer (147) para caracterização da hepatite C, ambos descritos na seção 1.4. As categorias diagnósticas utilizadas foram: lesões mínimas ou inespecíficas, hepatite crônica persistente (HCP), hepatite crônica lobular (HCL), hepatite crônica ativa (HCA) e cirrose. Outros diagnósticos que não hepatite crônica foram adotados, quando presentes, de acordo com seus critérios tradicionais.

Para a caracterização dos diagnósticos, buscou-se detectar a presença das seguintes alterações características de hepatite crônica: infiltrado inflamatório lobular ou em espaço-portas; necrose hepatocitária isolada, em saca-bocado ou em ponte; degeneração hepatocitária; fibrose e nódulos regenerativos; esteatose, folículos linfóides em espaços-portas e lesões do epitélio ductal. Essas lesões foram graduadas

como leves, moderadas ou intensas. O protocolo de interpretação das PBH está no Anexo II.

A partir desses achados, a interpretação final era definida como: categoria 1) ausência de lesões ou lesões mínimas: incluiu principalmente esteatose, admitindo a presença de degeneração hepatocitária, mas sem necrose ou lesão ductal; incluiu-se também, nesse grupo, para efeito da análise estatística, outras lesões que não hepatite crônica, como a hemossiderose;

categoria 2) hepatite crônica persistente\* e hepatite crônica lobular;

categoria 3) hepatite crônica ativa, leve, moderada ou severa;

categoria 4) cirrose hepática.

Essas categorias diagnósticas básicas foram agrupadas para a realização da análise estatística, conforme descrito na respectiva seção.

Como todos os pacientes eram portadores crônicos do vírus C, presumiu-se que as lesões encontradas fossem devidas a esse vírus isoladamente ou, no mínimo, tivessem sua participação em associação com outro agente. No entanto, quando presentes, os achados histopatológicos sugestivos de hepatite crônica pelo vírus C (foliculos linfóides em espaços-portas, lesão do epitélio ductal, corpúsculos tipo Mallory em zona I) corroboraram esse diagnóstico; a esteatose, também considerada sugestiva de hepatite crônica pelo vírus C, não foi valorizada como elemento diagnóstico, pois todos os pacientes estavam fazendo ou haviam feito uso de corticoesteróides, que produzem alterações hepáticas semelhantes.

Optou-se por não utilizar a classificação recentemente proposta pelo Grupo de Trabalho Internacional (95), acrescida dos elementos de graduação da atividade inflamatória e da fibrose, conforme proposto por Desmet (39), por considerar-se que: 1) todos os casos têm, por definição, etiologia pelo vírus C; 2) os vários "graus de atividade" da hepatite crônica nas novas classificações não estão suficientemente

---

\* A hepatite crônica persistente e a lobular têm sido aglutinadas, para efeito de análise, em outros estudos, como o de Boletis e colaboradores (17).

consolidados; 3) a nova graduação proposta envolve vários índices, o que dificulta sobremaneira a análise estatística. No entanto, conforme descrito previamente, o Escore de Knodell foi avaliado como variável em separado.

#### **2.4.7 O Escore de Knodell**

Escore de Knodell ou Índice de Atividade Histológica (IAH) é o nome dado ao valor numérico gerado pela soma de escores parciais atribuídos a quatro categorias de achados das biópsias hepáticas: a) necrose hepatocelular periportal com ou sem necrose em pontes; b) degeneração intralobular e necrose hepatocelular focal; c) inflamação portal e d) fibrose. Portanto, o IAH combina aferições de necrose, inflamação e fibrose. A necrose, porém, é ponderada com maior importância que os outros parâmetros por ter mais influência em determinar a atividade e a severidade da hepatite crônica ativa avançada (88). A descrição do cálculo do Escore de Knodell está na tabela 4.

**Tabela 4. Índice de Atividade Histológica em Biópsias de Fígado**

<b>Necrose Periportal e em Pontes</b>	<b>E</b>	<b>Degeneração Intra-lobular e Necrose Focal</b>	<b>E</b>	<b>Inflamação Portal</b>	<b>E</b>	<b>Fibrose</b>	<b>E</b>
A. Ausente	0	A. Ausente	0	A. Ausente	0	A. Ausente	0
B. Necrose em saca-bocado leve	1	B. Leve (corpúsculos acidofílicos, degeneração vacuolar ou focos esparsos de necrose em menos de 1/3 dos lóbulos)	1	B. Leve (presença esparsa de células inflamatórias em menos de 1/3 dos espaços-portas)	1	B. Expansão fibrosa portal	1
C. Necrose em saca-bocado moderada (envolve menos de 50% da circunferência do espaço-porta)	3	C. Moderada (envolve 1/3 a 2/3 dos lóbulos ou nódulos)	3	C. Moderada (células inflamatórias aumentadas em 1/3 a 2/3 dos espaços-portas)	3	C. Fibrose em ponte (porta-porta ou centro-porta)	3
D. Necrose em saca-bocado marcada (envolve mais de 50% da circunferência da maioria dos espaços-portas)	4	D. Marcada (envolvimento de 2/3 dos lóbulos ou nódulos)	4	D. Marcada (agregados densos de células inflamatórias em mais de 2/3 dos tratos-portas)	4	D. Cirrose	4
E. Necrose em saca-bocado moderada <i>mais</i> necrose em ponte	5						
F. Necrose em saca-bocado marcada <i>mais</i> necrose em ponte	6						
G. Necrose multi-lobular	1 0						

Fonte : (88); E = Escore

## 2.5 Análise estatística

### 2.5.1 Distribuição das variáveis

Em uma análise preliminar da distribuição das variáveis numéricas principais (dependentes), os valores encontrados do Incremento Corrigido Total, número de células imunoativadas e Escore de Knodell foram dispostos em histogramas e testados quanto a aderência à curva normal pelo teste de Kolmogorov-Smirnow (Lilliefors). Verificou-se que a distribuição apresentada pelo ICT aproximou-se da distribuição normal ( $p = 0,2000$  ; K-S - Lilliefors), o mesmo não ocorrendo com o número de células imunoativadas nem com o Escore de Knodell.

Conseqüentemente, nas análises subseqüentes realizadas com essas variáveis utilizaram-se testes paramétricos para o ICT e não-paramétricos para as restantes.

### 2.5.2 Reprodutibilidade da interpretação da PAH

A comparação entre as duas leituras das lâminas das PAH foi realizada utilizando-se o cálculo do coeficiente de correlação de Pearson, para o ICT, e o teste de postos de Spearman, para o número de células imunoativadas e para o escore de colestase. Também foi realizada a comparação entre as médias das duas leituras, pelo teste "t" em amostras emparelhadas e pelo teste de Wilcoxon respectivamente para o ICT e para as outras duas variáveis.

### 2.5.3 Diagnóstico histológico

As análises que envolveram o diagnóstico histológico foram realizadas de **três** formas. Na primeira, utilizaram-se as categorias descritas acima. Na segunda, a exemplo de Franceschini (51), reagruparam-se os diagnósticos em dois novos grupos: **lesões leves**, que inclui os grupos originais de "lesões mínimas ou ausência de lesões" e "hepatite crônica persistente ou lobular"; e **lesões avançadas**, que

compreende os grupos originais "hepatite crônica ativa" e "cirrose". Essa divisão fundamenta-se no conceito "clássico" das hepatites crônicas de que somente lesões do tipo hepatite crônica ativa teriam potencial evolutivo, podendo levar à cirrose, o que não aconteceria com as formas "leves" de hepatites crônicas ( a HCP e a HC lobular), que não ofereceriam esse potencial (79). No entanto, com os novos conceitos sobre hepatites crônicas, desencadeados, em parte, pelo surgimento da hepatite C, que resultaram na nova classificação das hepatites, ficou claro que mesmo lesões "leves" podem apresentar potencial evolutivo. Assim, realizou-se as análises de uma terceira forma: reagrupando os diagnósticos em **lesões de hepatite crônica**, por um lado, e **lesões mínimas ou inexistentes**, de outro (36, 65). As variáveis binárias categóricas assim criadas foram submetidas aos mesmos testes estatísticos que as originais.

#### 2.5.4 Escore de Knodell

Examinou-se a existência, em nossa amostra, de concordância entre o Escore de Knodell e o diagnóstico histológico, por meio da comparação dos valores medianos do Escore em cada uma das categorias do diagnóstico pelo teste de Kruskal-Wallis. Subseqüentemente, as variáveis independentes (descritivas e de exposição) foram comparadas com o Escore da mesma forma que ao diagnóstico histológico.

O Escore de Knodell foi analisado, inicialmente, como variável contínua. Entretanto, em seu artigo original, Knodell refere-se a "*altos escores vistos em biópsias cujos diagnósticos convencionais foram HCA, HCA com pontes, e cirrose ativa, enquanto escores baixos foram vistos com diagnósticos de HCP e alterações inespecíficas*" (88). Embora em seu artigo o autor não tenha explicitado o que considerou *altos* escores ou *baixos* escores, é apresentado um gráfico em que os escores correspondentes a HCP têm valor entre 4 e 6 e os correspondentes a lesões mais avançadas (HCA ou maior) têm escore igual ou superior a 6. Conseqüentemente, estabelecemos dois pontos de corte possíveis para o Escore de Knodell, com valor de 4 e 6, respectivamente, os quais geraram dois pares de variáveis binárias que foram

analisadas como tal.

### 2.5.5 Testes estatísticos

Para comparação das variáveis independentes, tanto as demográficas como as de exposição, com os diagnósticos histológicos agrupados, foram utilizados os seguintes testes:

- $\chi^2$  para as variáveis categóricas, quando os "valores esperados" foram suficientes;
- Análise de variância (ANOVA), para a idade - variável quantitativa com distribuição normal;
- Kruskal-Wallis para as demais variáveis quantitativas, que ou não apresentaram distribuição normal ou tiveram um número de casos insuficiente para admitir testes paramétricos.

Para comparação das mesmas variáveis com o diagnóstico histológico dicotomizado utilizaram-se:

- Teste Exato de Fisher para as variáveis categóricas;
- Teste "t" de Student para a idade;
- Mann-Whitney para as demais variáveis quantitativas, que ou não apresentaram distribuição normal ou tiveram um número de casos insuficiente para admitir testes paramétricos.

Para comparação estatística das variáveis independentes com o Escore de Knodell utilizaram-se os testes de:

- Mann-Whitney para as variáveis categóricas;
- Coeficiente de Correlação de Pearson para a idade;
- Spearman (Rank-Test, teste de postos) para as demais variáveis quantitativas.

Em algumas das análises, o número de pacientes foi insuficiente para permitir a utilização de testes estatísticos, mesmo os não-paramétricos. Nesses casos, quando

possível, procedeu-se ao agrupamento de categorias próximas de modo a obter um número maior de pacientes por categoria.

A análise multivariada foi realizada por meio de regressão logística, sendo elaborados vários modelos, tendo como desfecho a presença de "lesões de hepatite crônica" na forma agrupada dicotomizada, conforme descrito acima, ou valores de Escore de Knodell iguais ou maiores que 2.

### **2.5.6 Nível de significância**

Em todas as análises, o nível de significância estatística considerado foi de 5% ( $\alpha=0,05$ ).

### **2.5.7 Programas de computação**

Os testes estatísticos foram realizados por meio dos programas EPI-INFO, versão 5.01 B (julho, 1991), SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versão 4.0 e MULTLR (Ludwig Foundation for Cancer Research).

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Características da amostra

Trinta e dois pacientes preencheram os critérios e foram incluídos na amostra. Desses, 12 eram do sexo masculino (37,5%) e 20 do sexo feminino (62,5%). No entanto, dois pacientes (ambos masculinos) não aceitaram submeter-se à biópsia. Outros dois pacientes (um masculino e um feminino) sofreram demora no processo de marcação dos procedimentos junto aos serviços do Hospital de Clínicas e não puderam submeter-se aos mesmos dentro do prazo hábil do estudo. Esses quatro pacientes foram tratados, estatisticamente, como "perda". Como não passaram pela entrevista de preenchimento do protocolo, todas as outras informações relativas a eles estão "faltando" (*missing*).

Não foi verificada hipergamaglobulinemia em nenhum dos pacientes examinados. Consequentemente, todos os testes anti-HCV positivos foram considerados válidos.

Vinte e oito pacientes, portanto, passaram pela entrevista e submeteram-se aos procedimentos do estudo. Com exceção do sexo, conhecido, também, nos quatro casos "perdidos", todas as informações disponíveis para a análise são provenientes apenas desses casos. A idade, o tempo de hemodiálise, tempo de transplante e número de transfusões de sangue desses pacientes estão na tabela 5.

**Tabela 5. Idade, Tempo de Diálise, Tempo de Transplante e Número de Transfusões de Sangue dos Pacientes Estudados.**

Característica	Limite Inferior	Limite Superior	Mediana	Média	Desvio Padrão
Idade (anos)	23	73	42,5	42,86	12,01
Tempo de Hemodiálise (meses)	3	156	29,5	43,64	39,54
Tempo de Transplante (meses)	6	168	44,5	44,68	31,13
Número de Transfusões	1	50	6,6	11,82	12,30

As patologias que levaram esses pacientes à insuficiência renal estão apresentadas na tabela 6. Na maior parte das vezes (35,7%), o diagnóstico etiológico foi indeterminado. Em outros 28,6% dos casos, a causa presumível da perda da função renal foi hipertensão arterial sistêmica. Houve 4 casos (14,3%) de glomerulonefrite e 3 (10,7%) de nefropatia de refluxo. O único caso classificado como "outras patologias" foi o de uma paciente com diagnóstico de anemia falciforme.

**Tabela 6. Etiologia da Insuficiência Renal.**

Etiologia	Número de Casos	Percentual
Diabete Mérito	1	3,6
Glomerulonefrites	4	17,9
Hipertensão Arterial Sistêmica	8	28,6
Indeterminada	10	35,7
Nefropatia Obstrutiva	1	3,6
Nefropatia de Refluxo	3	10,7
Outras Patologias	1	3,6
<b>Total</b>	<b>28</b>	<b>100,0</b>

Apenas dois dos pacientes examinados foram positivos para o HBsAg. Ambos foram enquadrados, pela biópsia hepática, no grupo das "lesões mínimas". As variáveis principais (dependentes) desses pacientes estão mostradas na tabela 7. Em uma análise preliminar, não houve associação entre positividade para o HBsAg e o diagnóstico histológico na forma agrupada primariamente ( $\chi^2=1,08$ ;  $p=0,58275$ ) nem entre HBsAg e presença de lesões de Hepatite Crônica, na forma dicotomizada de análise ( $p=0,4359$ , Fisher). Assim, optamos por incluir esses casos na análise global.

Os quatro casos "perdidos" eram negativos para o HBsAg.

### 3.2 Punção biópsia hepática

Os resultados das PBH e das PAH, estão descritos na tabela 7. Dos vinte e oito pacientes examinados, não foi obtido material satisfatório em apenas uma das PBH e uma das PAH. Esses casos, constuíram dois pares incompletos e foram tratados estatisticamente como "*missing*".

Dentre as 26 punções consideradas satisfatórias, a média do número de espaços-porta por fragmento foi de 8,27, com desvio padrão de 4,07. A moda foi de 8 espaços-porta por fragmento (verificada em 6 casos). O valor mínimo encontrado foi de 3 e o máximo de 19 espaços-porta por fragmento. Dezenove punções (73%) apresentaram 6 ou mais espaços-porta e apenas 4 casos (15,4%) tiveram menos de 5 espaços-porta.

Não se verificou nenhuma complicação decorrente de qualquer dos procedimentos realizados.

Dezoito pacientes tiveram ausência de lesões ou lesões mínimas, na maior parte das vezes esteatose, mas com três casos de hemossiderose. Houve cinco casos de hepatite crônica persistente, um de hepatite crônica lobular e três de hepatite crônica ativa. Não foi verificado nenhum caso de cirrose hepática ou carcinoma hepatocelular.

A figuras de 1 a 3 mostram as características das principais lesões encontradas nas biópsias: esteatose, necrose focal e necrose em saca-bocado, respectivamente. Na figura 3 aparece, também, a lesão de epitélio ductal característica da hepatite C.

A tabela 8 sumariza os resultados das PBH, com o diagnóstico original conforme a nomenclatura "clássica", e agrupados primariamente conforme descrito na seção "Pacientes e métodos" (seção 2.5.3).

Os valores do Escore de Knodell encontrados nas lâminas das PBH são mostrados na tabela 9.

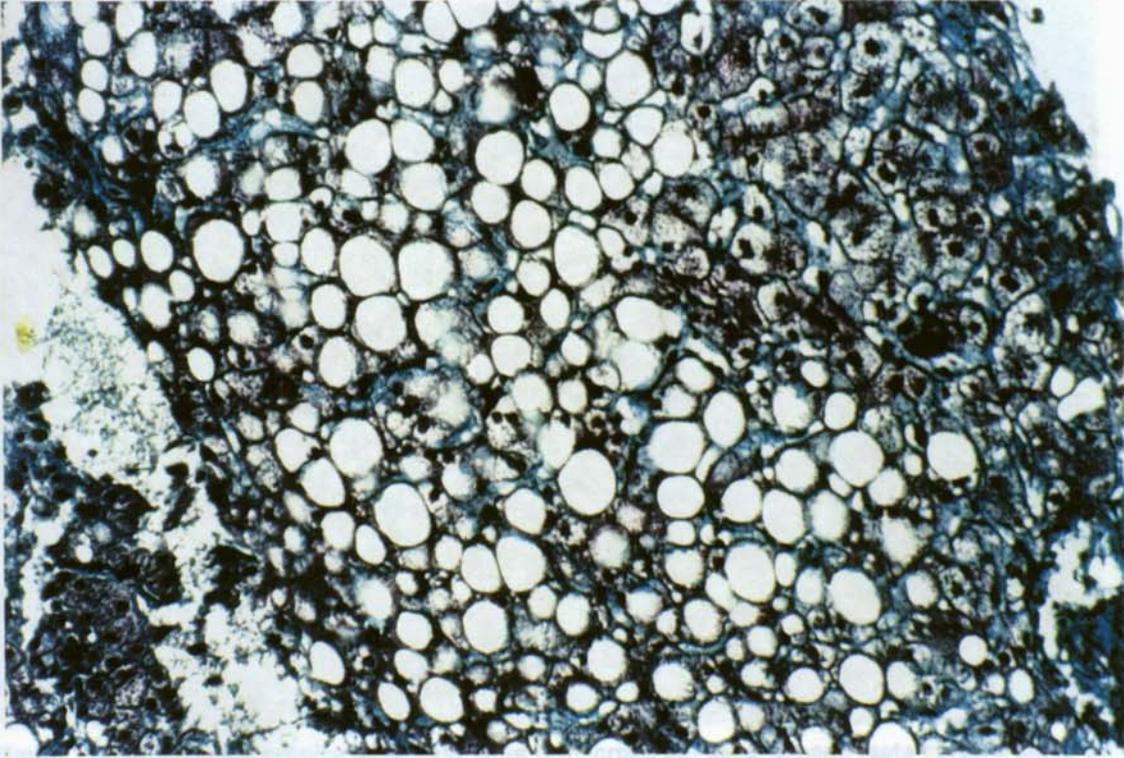


Figura 1. PBH: área de esteatose macrogoticular. (Tricrômico de Gomori, 400x)

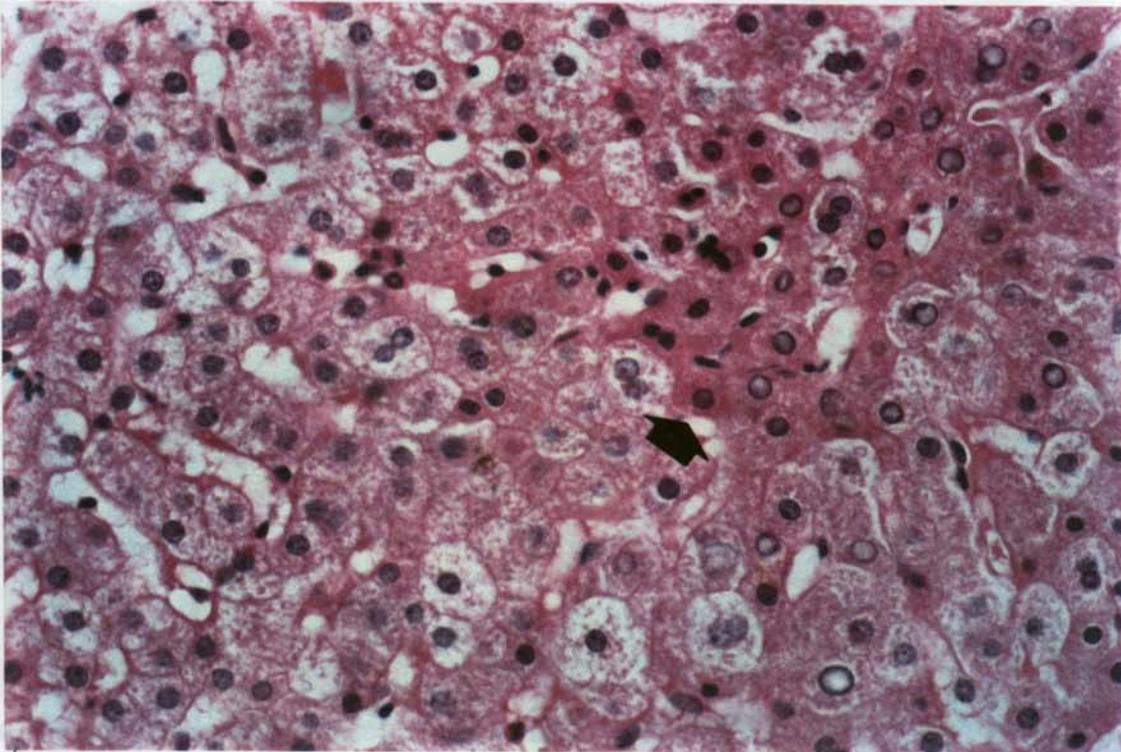


Figura 2. PBH: área de necrose focal (seta). (HE, 400x)

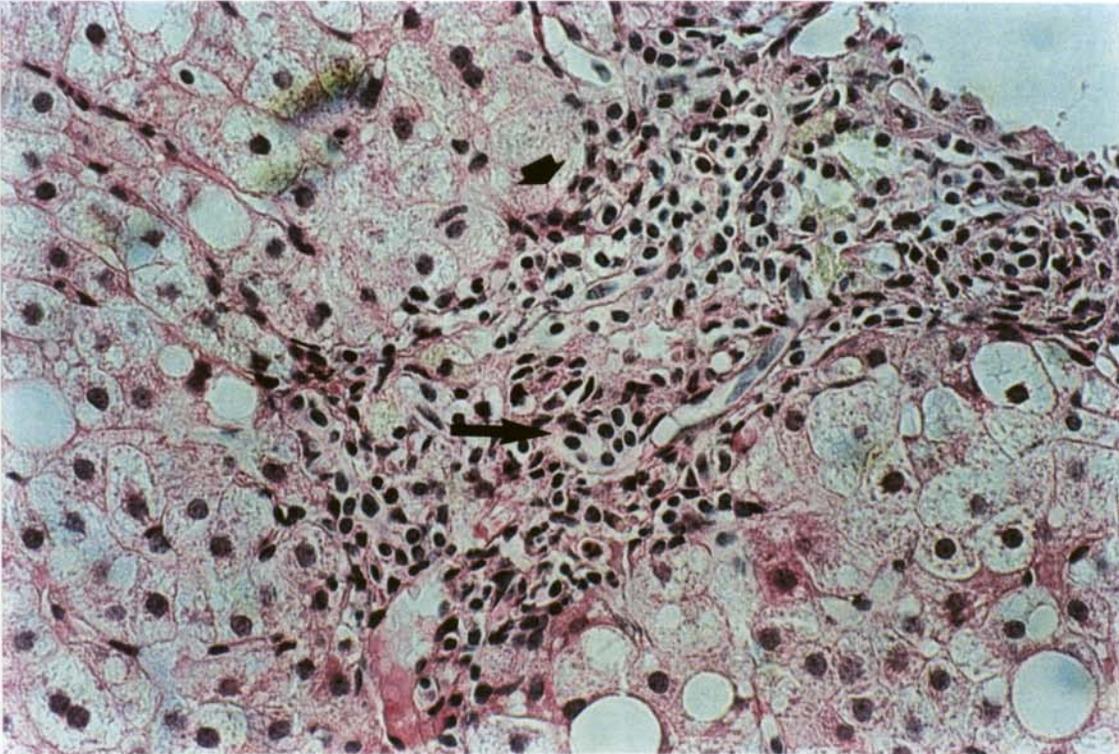


Figura 3. PBH: hepatite crônica ativa pelo vírus C: necrose em saca-bocado (seta curta) e lesão do epitélio ductal (seta longa). (HE, 400x)



Figura 4. PAH: hepatócitos edemaciados com grânulos de bilirrubina, indicando colestase. (MGG, 400x)

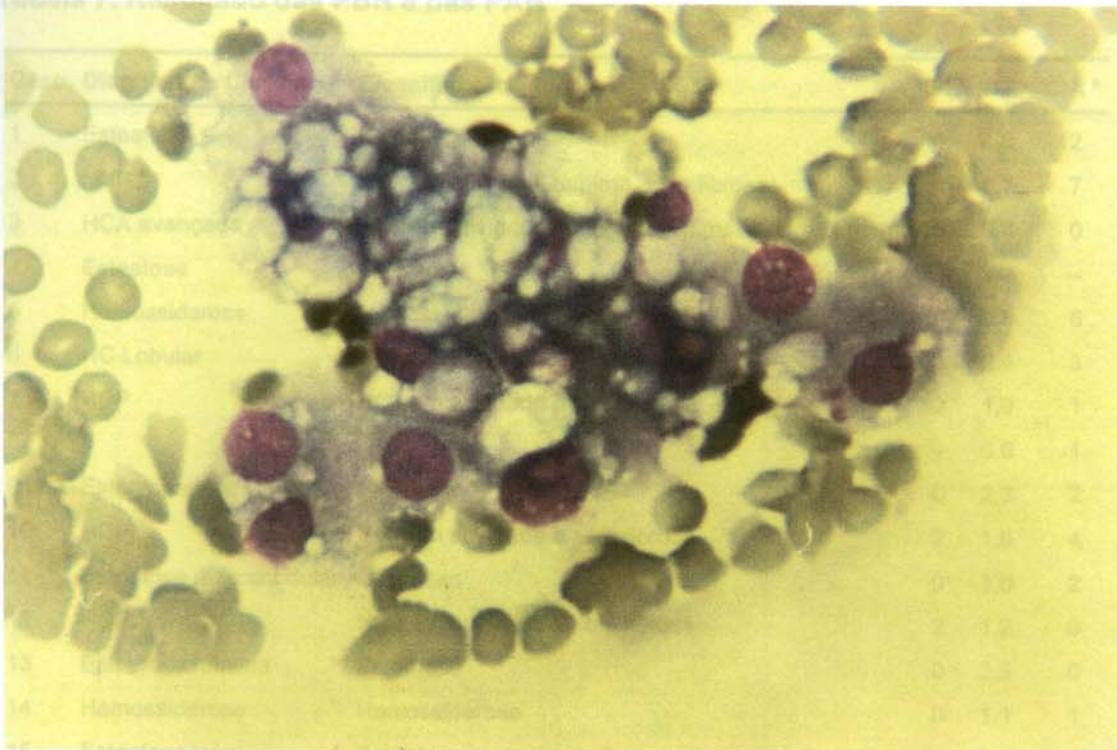


Figura 5. PAH: hepatócitos vacuolisados, indicando dano celular; escore morfológico=2. (MGG, 400x)

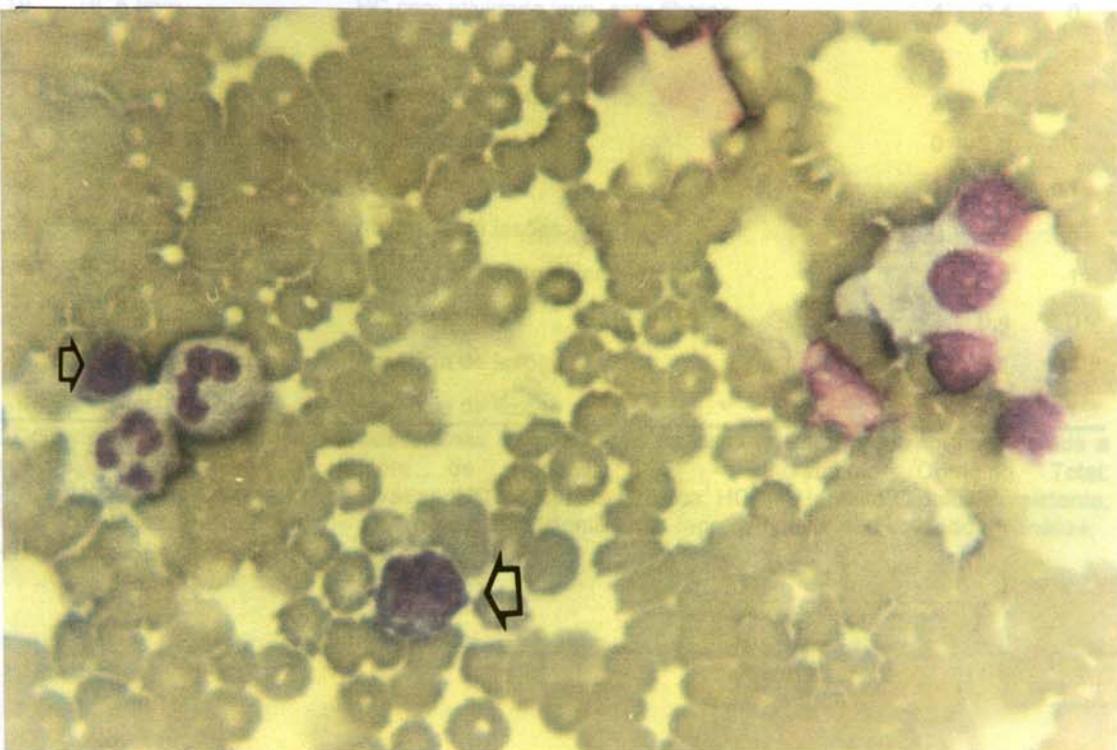


Figura 6. PAH: linfócito ativado (seta grande) ao lado de polimorfonucleares e um linfócito normal (seta pequena). (MGG, 400x)

**Tabela 7. Resultado das PBH e das PAH**

Caso	Diagnóstico Clássico	Classificação Atual	E	K	ICT *	CIA *
1	Esteatose	Esteatose	1	4,0	12	
2	HCP	HC com atividade mínima, sem fibrose	2	1,7	7	
3	HCA avançada	HC com atividade intensa e expansão fibrosa portal	6	3,8	0	
4	Esteatose	Esteatose	0	--	--	
5	Hemossiderose	Hemossiderose	0	2,5	6	
6	HC Lobular	Hepatite mínima	3	2,4	3	
7	HCP	HC sem atividade e sem fibrose	2	1,9	1	
8	--	--	--	0,6	1	
9	Esteatose leve	Esteatose	0	2,3	2	
10	HCP	HC sem atividade e sem fibrose	2	1,6	4	
11	Esteatose macronodular	Esteatose	0	1,0	2	
12	HCP	HC sem atividade e sem fibrose	2	1,2	0	
13	Esteatose mínima	Esteatose	0	2,3	0	
14	Hemossiderose	Hemossiderose	0	1,1	1	
15	Esteatose leve	Esteatose	0	2,4	3	
16	Ausência de lesões	Ausência de lesões	0	1,9	2	
17	HCA leve	HC com atividade leve, sem fibrose	3	1,2	1	
18	Ausência de lesões	Ausência de lesões	0	1,0	1	
19	HCA leve	HC com atividade leve, sem fibrose	4	0,4	0	
20	Ausência de lesões	Ausência de lesões	0	1,8	4	
21	Ausência de lesões	Ausência de lesões	1	1,6	1	
22 +	Ausência de lesões	Ausência de lesões	0	2,6	1	
23	Esteatose moderada	Esteatose	1	2,9	11	
24	Ausência de lesões	Ausência de lesões	0	4,2	8	
25	HCP	HC sem atividade e sem fibrose	1	1,5	1	
26	Hemossiderose	Hemossiderose	2	0,4	0	
27	Ausência de lesões	Ausência de lesões	1	3,1	3	
28+	Ausência de lesões	Ausência de lesões	0	1,5	1	

\*: Considerada a segunda leitura das lâminas, com exceção do caso nº 28, em que foi considerada a primeira leitura. EK = Escore de Knodell; ICT = Incremento Corrigido Total; CIA. = Número de Células Imunoativadas; HC = Hepatite Crônica; HCP = Hepatite Crônica Persistente; HCA = Hepatite Crônica Ativa; ( --- ) = Material insuficiente / não representativo, não utilizado na análise; +: Pacientes HBsAg-positivos

**Tabela 8. Diagnósticos Histológicos Encontrados nas PBH**

Diagnóstico Primário	N	%	Diagnóstico Agrupado	N	%
Ausência de lesões	8	29,6	Lesões Mínimas	18	66,6
Esteatose	7	25,9			
Hemossiderose	3	11,1			
HCP	5	18,5	HCP	6	22,2
HC Lobular	1	3,7			
HCA	3	11,1	HCA	3	11,1
Total	27	100,0		27	100,0

**Tabela 9. Escore de Knodell nos Casos Biopsiados**

Escore	N	%
0 -- 2	23	85,2
3 -- 4	3	11,1
5 -- 6	1	3,7
>= 7	0	0,0
Total	27	100,0

Como sugerem os dados da tabela 9, a distribuição dos valores do Escore de Knodell na amostra não apresentou distribuição normal. No teste de Kolmogorow-Smirnoff (Lilliefors), o valor de "p" encontrado foi de 0,0003, rejeitando a aderência à curva normal.

A fim de verificar a concordância, nessa amostra, entre o Escore de Knodell e o diagnóstico histológico, comparou-se os valores do escore encontrados em cada um dos grupos histológicos. Verificou-se que os valores encontrados foram inferiores aos originalmente descritos por Knodell para os respectivos diagnósticos (88), mas aumentaram significativamente conforme a gravidade da lesão. Esses resultados estão apresentados na tabela 10.

**Tabela 10. Valores do Escore de Knodell conforme o Diagnóstico Histológico**

Diagnóstico Histológico	Escore de Knodell			
	Valor Mínimo	Valor Máximo	Mediana*	Média
Lesões Mínimas ou Inespecíficas	0	2	0	0.353
Hepatite Crônica Persistente ou Lobular	1	3	2	2.000
Hepatite Crônica Ativa	3	6	4	4.333

\*  $p = 0,000142$  (Kruskal-Wallis)

### 3.3 Punção aspirativa hepática (PAH)

As figuras 4 a 6 mostram exemplares das PAH. A figura 4 mostra hepatócitos impregnados com bilirrubina, que é o elemento definidor do escore de colestase. A figura 5 mostra um grupo de hepatócitos vacuolisados, o que indica dano hepatocelular e caracteriza um escore morfológico igual a 2. A figura 6 mostra um típico linfócito ativado, que é computado com peso 0,5 no cálculo do ICT.

Não houve nenhum acidente relacionado às punções com a agulha fina.

#### 3.3.1 Reprodutibilidade da leitura

A concordância entre as duas leituras das lâminas das PAH foi avaliada comparando-se os valores encontrados, em cada uma delas, do Incremento Corrigido Total, do número de células imunoativadas e, também, do escore de colestase, aqui utilizado como "marcador" acessório da reprodutibilidade das leituras.

Os valores médios de Incremento Corrigido Total encontrados nas duas leituras da PAH, com seus respectivos desvios padrões, são mostrados na tabela 11. A comparação dos valores do escore de colestase e do número de células imunoativadas entre as duas leituras está na tabela 12.

#### **Tabela 11. Comparação entre Valores do Incremento Corrigido Total nas Duas Leituras da PAH**

	Média 1	Média 2	S1	S2	Valor de p *
Incremento Corrigido Total	2,40	1,98	1,09	1,04	0,012

Média 1 = média na primeira leitura; Média 2 = média na segunda leitura; S1 = desvio padrão na primeira leitura; S2 = desvio padrão na segunda leitura; \* Teste t para amostras pareadas;

**Tabela 12. Comparação dos Valores do Número de Células Imunoativadas e do Escore de Colestase entre as Duas Leituras da PAH**

Variável	Primeira Leitura				Segunda Leitura				p
	vm	VM	Md	x	vm	VM	Md	x	
Células Imunoativadas	0	12	2	3,52	0	12	1,5	2,88	0,157
Escore de Colestase	0	3	0	0,58	0	3	0	0,50	0,500

vm = valor mínimo; VM = Valor Máximo; Md = Mediana; x = Média; p = Valor de "p" pelo teste de Wilcoxon para amostras pareadas;

Verifica-se que houve uma diferença estatisticamente significativa entre as médias encontradas para o Incremento Corrigido Total, mas não houve diferença significativa entre os outros dois elementos nas duas leituras.

Foram calculados os coeficientes de correlação entre os valores do ICT, número de células imunoativadas e escore de colestase encontrados na primeira e segunda leituras das lâminas. Os valores encontrados e os respectivos intervalos de confiança de 95% são mostrados na tabela 13.

**Tabela 13. Coeficiente de Correlação entre as Duas Leituras das Lâminas das PAH para o Incremento Corrigido Total, o Número de Células Imunoativadas e o Escore de Colestase**

Variável	Coeficiente de Correlação	Intervalo de Confiança (95%)	Valor de p
Incremento Corrigido Total	0,72	0,45 < R < 0,86	p = 0,000 *
Células Imunoativadas	0,54	0,19 < R < 0,77	p = 0,038 **
Escore de Colestase	0,73	0,47 < R < 0,87	p = 0,000 **

\* Pearson; \*\* Spearman

Verificou-se uma correlação estatisticamente significativa entre as duas leituras, embora os dados da tabela 11 sugiram que tenha havido uma superestimação do ICT na primeira leitura.

### 3.3.2 Relação entre o ICT e o diagnóstico histológico

Os valores médios encontrados do ICT, de acordo com os diagnósticos histológicos, são apresentados na tabela 14.

**Tabela 14. Relação entre o ICT e o Diagnóstico Histológico**

Diagnóstico Histológico	ICT		
	N	Média *	Desvio Padrão
Lesões Mínimas ou Ausência de Lesões	17	2,153	1,038
Hepatite Crônica Persistente ou Lobular	6	1,717	0,407
Hepatite Crônica Ativa	3	1,800	1,778

\* p = 0,6364 ; ANOVA

Conforme mostra a tabela 14, os valores médios do ICT não diferiram significativamente entre os três grupos de diagnósticos histológicos.

Os diagnósticos histológicos foram agrupados nas formas dicotomizadas "lesões leves x lesões avançadas" e "lesões de HC x lesões mínimas ou inexistentes", e foi avaliada a sua relação com o ICT. Esses resultados são mostrados na tabela 15.

**Tabela 15. Relação entre o ICT e os Diagnósticos Histológicos Dicotomizados**

Diagnóstico Reagrupado	N	ICT	
		Média	Desvio Padrão
Lesões Leves	23	2,039	0,927
Lesões Avançadas	3	1,800	1,778
Valor de p *		0,7084	
Lesões Mínimas	17	2,153	1,038
Lesões de HC	9	1,744	0,946
Valor de p *		0,6630	

\* "t" de Student; HC = Hepatite Crônica

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores do ICT nas duas formas de agrupamento dos diagnósticos histológicos.

Foi calculada a probabilidade de erro do tipo II ( $\beta$ ) no teste da diferença entre as médias dos valores do ICT dos pacientes com lesões mínimas ou inexistentes e os pacientes com lesões de hepatite crônica (Tabela 15). A probabilidade  $\beta$  encontrada foi igual a 0,82. Conseqüentemente, o poder do teste para rejeitar a hipótese de nulidade (encontrar uma diferença existente entre as médias) foi de apenas 18%.

Foram estabelecidos pontos de corte para o ICT nos valores de 1,5 , 2,0 , 2,5 e 3,0. Para cada um desses pontos de corte foi avaliada a existência de associação entre os valores superiores e inferiores com os diagnósticos histológicos reagrupados (dicotomizados), tanto na forma "lesões leves x lesões avançadas" como na forma "lesões de HC x lesões mínimas ou inexistentes". Os resultados estão na tabela 16.

**Tabela 16. Associação entre os Pontos de Corte do Incremento Corrigido Total (ICT) e o Diagnóstico Histológico Dicotomizado**

ICT	Número de Casos			
	L. Leves	L. Avançadas	L. Mínimas	L. de HC
>= 1,5	18	1	13	6
< 1,5	5	2	4	3
Valor de p *	0,1669		0,4624	
>= 2,0	10	1	9	2
< 2,0	13	2	8	7
Valor de p *	0,6192		0,1375	
>= 2,5	6	1	6	1
< 2,5	17	2	11	8
Valor de p *	0,6273		0,1989	
>= 3,0	3	1	3	1
< 3,0	20	2	14	8
Valor de p *	0,4077		0,5686	

\* Teste exato de Fisher

Verifica-se que não houve associação significativa entre os valores do ICT, categorizados em níveis conforme os vários pontos de corte, e os diagnósticos histológicos dicotomizados. Esses resultados, porém, devem ser vistos com ressalvas devido ao pequeno número de casos em algumas categorias.

Foram avaliados, ainda, a sensibilidade, a especificidade e os valores preditivos positivo e negativo de cada um dos pontos de corte do ICT para detectar os diagnósticos histológicos, na forma reagrupada (dicotomizada). Esses resultados são mostrados nas tabelas 17 e 18.

A sensibilidade do ICT para diferenciar lesões avançadas de lesões mínimas foi muito baixa, qualquer que fosse o ponto de corte utilizado, ficando sempre em 33%. A especificidade chegou a 74% e o valor preditivo negativo a 91% quando o ponto de corte utilizado foi o valor 3, mas o valor preditivo positivo, nesse caso, foi de apenas 25% (tabela 18).

Para diferenciar lesões mínimas de lesões de hepatite crônica, a sensibilidade

máxima chegou a 67%, empregando um valor do ICT maior ou igual a 1,5 , mas a especificidade, nesse caso, foi de apenas 24%. Com o valor 3 como ponto de corte, a especificidade chegou a 82%, mas com sensibilidade de apenas 11% (tabela 18). Aqui, também, o pequeno número de casos em algumas categorias torna pouco consistente a validade da análise.

**Tabela 17. Sensibilidade, Especificidade, Valor Preditivo Positivo e Negativo de Diferentes Pontos de Corte do ICT para Detectar Lesões Avançadas (diagnóstico histológico agrupado na forma lesões leves x lesões avançadas)**

Ponto de Corte do ICT	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
>= 1,5	0,33	0,22	0,05	0,71
>= 2,0	0,33	0,57	0,09	0,87
>= 2,5	0,33	0,74	0,14	0,89
>= 3,0	0,33	0,74	0,25	0,91

VPP = Valor Preditivo Positivo ; VPN = Valor Preditivo Negativo

**Tabela 18. Sensibilidade, Especificidade, Valor Preditivo Positivo e Negativo de Diferentes Pontos de Corte do ICT para Detectar Lesões de Hepatite Crônica (diagnóstico histológico agrupado na forma lesões mínimas x lesões de hepatite crônica)**

Ponto de Corte do ICT	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
>= 1,5	0,67	0,24	0,32	0,57
>= 2,0	0,22	0,47	0,18	0,53
>= 2,5	0,11	0,65	0,14	0,58
>= 3,0	0,11	0,82	0,25	0,64

VPP = Valor Preditivo Positivo ; VPN = Valor Preditivo Negativo

### 3.3.3 Relação entre o ICT e o Escore de Knodell

A correlação entre o ICT e o Escore de Knodell não foi estatisticamente significativa. O coeficiente de correlação  $r$  (de Pearson) foi igual a  $-0,01$ , com um intervalo de confiança de 95% de  $-0,40$  a  $0,38$ .

Conforme descrito em "Pacientes e Métodos" (seção 2.5.4), foram estabelecidos como pontos de corte para o Escore de Knodell os valores 4 e 6, que correspondem aos valores do Escore indicativos de hepatite crônica persistente e hepatite crônica ativa respectivamente, de acordo com a descrição original do autor. Foi avaliada a relação entre esses níveis de corte do Escore de Knodell e o ICT. Os valores do ICT conforme o nível de corte do Escore de Knodell são mostrados na tabela 19.

**Tabela 19. Incremento Corrigido Total Conforme os Níveis de Corte do Escore de Knodell**

Escore de Knodell	Incremento Corrigido Total		
	N	Média *	Desvio Padrão
0 - 3	24	2,004	0,923
4 - 5	1	0,400	0,000
>= 6	1	3,800	0,000

\* Análise estatística não válida. { $p = 0,0495$  (ANOVA)}

Não foi possível realizar análise estatística desses resultados, devido ao pequeno número de casos nas faixas mais elevadas do Escore de Knodell.

Foi realizada nova análise, dessa vez com os níveis do Escore de Knodell divididos em "baixos" (menores que 4) e "altos" (iguais ou maiores que 4). Esses resultados são apresentados na tabela 20.

**Tabela 20. Incremento Corrigido Total Conforme os Níveis Dicotomizados do Escore de Knodell**

Escore de Knodell	Incremento Corrigido Total		
	N	Média *	Desvio Padrão
0 - 3 (baixo)	25	1,948	0,946
>= 4 (alto)	2	2,100	2,404

\* p = 0,8387 ( "t" de Student)

Com os valores do Escore de Knodell categorizados da forma acima, verificou-se a inexistência de relação estatisticamente significativa entre os valores deste Escore e os valores do Incremento Corrigido Total (p=0,8387; "t" de Student).

### 3.3.4 Relação entre o número de células imunoativadas (CIA) e o diagnóstico histológico

A relação entre o número de células imunoativadas e o diagnóstico histológico foi analisada, inicialmente, pela comparação entre os valores medianos do número de células imunoativadas conforme o diagnóstico histológico. Esses resultados são apresentados na tabela 21. A seguir, foram comparados os valores medianos do número de células imunoativadas com os diagnósticos histológicos dicotomizados. Esses resultados são mostrados na tabela 22.

**Tabela 21. Relação entre o Número de CIA e o Diagnóstico Histológico**

Diagnóstico	N	Células Imunoativadas			
		x	vm	VM	Md *
Lesões Mínimas ou Ausência de Lesões	18	3,412	0	12	2
Hepatite Crônica Persistente ou Lobular	6	2,667	0	7	2
Hepatite Crônica Ativa	3	0,333	0	1	0

x = Média; vm = valor mínimo; VM = Valor Máximo; Md = Mediana;

\* p = 0,1193 , Kruskal-Wallis

**Tabela 22. Relação entre o Número de CIA e os Diagnósticos Histológicos Dicotomizados**

Diagnóstico Reagrupado	N	Número de Células Imunoativadas			
		x	vm	VM	Md
Lesões Leves	24	3,217	0	12	2
Lesões Avançadas	3	0,333	0	1	0
Valor de p		0,0407 *			
Lesões Mínimas	18	3,412	0	12	2
Lesões de HC	9	1,889	0	7	1
Valor de p		0,2162 *			

x = Média; vm = valor mínimo; VM = Valor Máximo; Md = Mediana;  
\* Mann-Whitney

O número de células imunoativadas não teve variação estatisticamente significativa entre os três grupos diagnósticos ( $p=0,1193$ , Kruskal-Wallis), como demonstra a tabela 21. A ausência de diferença persistiu na análise "lesões de HC x lesões mínimas ou inexistentes" ( $p=0,2162$ ; Mann-Whitney), embora com uma tendência a um número maior de células imunoativadas nos pacientes com lesões mínimas. No entanto, na comparação entre "lesões leves x lesões avançadas", a média do número de células imunoativadas foi significativamente **maior** no grupo das lesões leves ( $p = 0,0407$ ; Mann-Whitney).

Foi calculada a probabilidade de erro do tipo II ( $\beta$ ) no teste da diferença entre os valores do número de células imunoativadas dos pacientes com lesões mínimas ou inexistentes e os pacientes com lesões de hepatite crônica (Tabela 22). A probabilidade  $\beta$  encontrada foi igual a 0,78. Conseqüentemente, o poder do teste para rejeitar a hipótese de nulidade (encontrar uma diferença existente entre os valores) foi de apenas 22%\*.

\* O cálculo do erro  $\beta$  no teste não-paramétrico para diferença de medianas de Mann-Whitney é realizado *como se fosse* um teste de diferença de médias, produzindo, portanto, um resultado *estimado*.

Foram estabelecidos, aleatoriamente, pontos de corte para o número de células imunoativadas, nos valores de 3, 5 e 7, tendo-se avaliado a existência de associação entre essas faixas de valores de células imunoativadas e o diagnóstico histológico. Esses resultados são apresentados na tabela 23.

**Tabela 23. Distribuição dos Pacientes Conforme o Número de Células Imunoativadas e o Diagnóstico Histológico**

Células Imunoativadas	Número de Pacientes *			
	L. Mínimas	HCP	HCA	Total
0 - 2	10	3	3	16
3 - 4	3	2	0	5
5 - 6	1	0	0	1
>= 7	3	1	0	4
Total	17	6	3	26

\* Não foi possível realizar o teste  $\chi^2$ , pois o número de casos em algumas categorias foi insuficiente

Como mostra a tabela 23, não parece haver associação entre as faixas de valores de número de células imunoativadas e os diagnósticos histológicos. No entanto, o número de casos analisados não permitiu a realização de teste de significância estatística.

Foi realizada nova análise de associação, dessa vez com o número de células imunoativadas dicotomizado em duas faixas (menor ou igual/maior que 3) e o diagnóstico histológico também dicotomizado na forma "lesões mínimas x lesões de hepatite crônica". Esses resultados são apresentados na tabela 24.

**Tabela 24. Relação entre o Número de Células Imunoativadas e o Diagnóstico Histológico Dicotomizado**

Células Imunoativadas	Número de Pacientes *		
	Lesões Mínimas	Lesões de H.C.	Total
< 3	10	6	16
>= 3	7	3	10
Total	17	9	26

\* p = 0,5172 (Fisher)

Não foi verificada a existência de associação significativa entre as faixas de valores do número de células imunoativadas acima e abaixo do valor 3 e o diagnóstico histológico dicotomizado na forma "lesões mínimas x lesões de hepatite crônica".

### 3.3.5 Relação entre o número de células imunoativadas (CIA) e o Escore de Knodell

Ao analisar a correlação entre o número de células imunoativadas e o Escore de Knodell, verificou-se a inexistência de significância estatística. O valor encontrado do coeficiente de correlação (Spearman) foi de -0,25 , com valor de p igual a 0,215 .

Os pontos de corte para o Escore de Knodell nos valores de 4 e 6 foram utilizados para testar a existência de associação entre o mesmo e o número de células imunoativadas. O resultado da comparação entre os valores do número de células imunoativadas, conforme a faixa de valores do Escore de Knodell, está apresentado na tabela 25.

**Tabela 25. Número de Células Imunoativadas Conforme Níveis de Valores do Escore de Knodell**

Escore de Knodell	N	Número de Células Imunoativadas		
		Valor Mínimo	Valor Máximo	Md *
0 - 3	24	0	12	2
4 - 5	1	0	0	0
>= 6	1	0	0	0

\* Análise estatística não-válida {p = 0,1196 (Kruskal-Wallis)} ; Md = mediana

Não foi possível realizar análise estatística desses resultados devido ao pequeno número de casos nas faixas mais elevadas do Escore de Knodell.

A relação entre o número de células imunoativadas e o Escore de Knodell foi reavaliada, dicotomizando-se os valores do Escore de Knodell de forma a considerar "baixos" os valores não associados à hepatite crônica (valores menores que 4), e "altos" os valores associados à hepatite crônica persistente ou ativa (valores iguais ou maiores que 4). Esses resultados são mostrados na tabela 26.

**Tabela 26. Número de Células Imunoativadas Conforme Níveis de Valores do Escore de Knodell Dicotomizados**

Escore de Knodell	N	Número de Células Imunoativadas		
		Valor Mínimo	Valor Máximo	Md*
0 - 3	24	0	12	2
>= 4	2	0	0	0

\*  $p=0,0393$ , Kruskal-Wallis ; Md = mediana

Verificou-se que o valor mediano do número de células imunoativadas foi significativamente *menor* quando o Escore de Knodell foi maior ou igual a 4. Esse resultado deve ser considerado com cautela, devido ao pequeno número de casos com Escore de Knodell na faixa considerada elevada.

### 3.3.6 O escore morfológico e o escore de colestase

As relações do escore morfológico e do escore de colestase com o diagnóstico histológico foram avaliadas por meio da comparação entre os valores medianos de cada um dos respectivos escores nas categorias de diagnóstico histológico, agrupados primariamente ou na forma dicotomizada. Esses resultados são mostrados nas tabelas 27 e 28.

**Tabela 27. Valores do Escore Morfológico e do Escore de Colestase Conforme o Diagnóstico Histológico**

Diagnóstico Histológico	N	Escore Morfológico			Escore de Colestase		
		vm	VM	Md	vm	VM	Md
Lesões Mínimas	17	0	2	2	0	3	1
Hepatite Crônica Persistente	6	0	2	1	0	1	0
Hepatite Crônica Ativa	3	2	3	2	0	2	0
Valor de p *				0,1174			0,3346

\* = Kruskal-Wallis; vm = Valor Mínimo; VM = Valor Máximo; Md = Mediana

**Tabela 28. Valores do Escore Morfológico e do Escore de Colestase Conforme o Diagnóstico Histológico Dicotomizado na Forma "Lesões Mínimas x Lesões de Hepatite Crônica"**

Diagnóstico Histológico Dicotomizado	N	Escore Morfológico			Escore de Colestase		
		vm	VM	Md	vm	VM	Md
Lesões Mínimas	17	0	2	2	0	3	1
Lesões de Hepatite Crônica	9	0	3	2	0	2	0
Valor de p *				0,4654			0,2072

\* = Mann-Whitney; vm = Valor Mínimo; VM = Valor Máximo; Md = Mediana

Não houve relação estatisticamente significativa entre os valores do escore de colestase e do escore morfológico com o diagnóstico histológico, quer agrupado na forma primária, quer dicotomizado.

Foi avaliada, também, a presença de correlação entre o escore morfológico e o escore de colestase com o Escore de Knodell. Esses resultados são mostrados na tabela 29.

**Tabela 29. Correlação entre Escore Morfológico e Escore de Colestase e o Escore de Knodell**

Correlação	Coefficiente de Correlação ( r )	p
Escore Morfológico x EK	0,29	0,150
Escore de colestase x EK	- 0,07	0,740

EK = Escore de Knodell

Verifica-se que não houve correlação significativa entre os escores morfológico e de colestase e o Escore de Knodell.

### 3.4 Avaliação clínico-laboratorial

#### 3.4.1 Provas bioquímicas hepáticas

A tabela 30 sumariza os valores dos testes bioquímicos hepáticos.

**Tabela 30. Valores dos Testes Bioquímicos Hepáticos e Número de Casos Alterados**

	Limite Superior *	Nº de casos alterados (%)	Média	S	vm	VM	Md
ALT	22	8 (29%)	26,5	30,2	4	110	11,5
AST	18	7 (25%)	19,9	20,4	3	83	12,5
GGT	#	8 (29%)	43,8	41,1	8	163	24
FA	170	6 (21%)	143,1	86,2	40	473	130
BibT	1,2	6 (21%)	1,00	0,42	0,5	2,1	0,85
BibD	0,2	7 (25%)	0,21	0,19	0,1	0,5	0,10

\* Valores do laboratório do HCPA: ALT, AST, GGT e FA = valores em UI/l; Bilirrubinas, valor em mg/dl; S = Desvio Padrão; vm = menor valor; VM = maior valor; Md = Mediana: # = limite para homens = 26, limite para mulheres = 48

As enzimas hepáticas apresentaram comportamento irregular entre os casos. Entre os 28 pacientes com resultados disponíveis, sete (25%) tiveram aumento na ALT e na AST, e outro teve aumento apenas na ALT. Oito pacientes (29%) tiveram aumento na GGT, mas apenas seis desses estavam entre os sete com AST e / ou ALT aumentadas, totalizando seis pacientes com as 3 enzimas aumentadas (21%). Esses seis pacientes tiveram diagnóstico histológico de hepatite crônica ativa (2 casos), hepatite crônica persistente (1 caso), lesões mínimas ou ausência de lesões (2 casos) e um deles não teve diagnóstico histológico por ter apresentado material insatisfatório na PBH. Seis pacientes (21%) tiveram aumento da fosfatase alcalina, mas, com

exceção de dois, foram pacientes distintos daqueles com alteração das aminotransferases e da GGT. O paciente que apresentou o valor mais elevado de fosfatase alcalina (473 UI/l) teve diagnóstico histológico de lesões mínimas. Apenas um paciente apresentou alterações em todas as provas hepáticas (incluindo bilirrubinas), e teve diagnóstico de hepatite crônica ativa.

### 3.4.2 Rejeições

Sete pacientes (25%) não tiveram nenhum episódio de rejeição aguda, 11 pacientes (39%) tiveram apenas 1 episódio de rejeição e 9 pacientes (32%) tiveram 2 episódios. A tabela 31 mostra a frequência do número de rejeições conforme o diagnóstico histológico.

**Tabela 31. Número de Rejeições Agudas Conforme o Diagnóstico Histológico**

Número de Rejeições	Número de Pacientes			
	HCA	HCP	Lesões Mínimas	Total
0	2	3	2	7
1	1	3	8	12
2	0	0	8	8
Total	3	6	18	27

### 3.4.3 Drogas imunossupressoras

Todos os 28 pacientes estudados estavam em uso de prednisona desde o momento do transplante. Apenas 1 paciente nunca tinha usado azatioprina, mas, no momento do estudo, somente 14 (50%) ainda estavam usando a droga. O tempo médio de uso da azatioprina foi de 36,2 meses, e a mediana foi de 25 meses. O motivo da suspensão, na maior parte das vezes, foi o diagnóstico da infecção pelo vírus C. Com exceção de 3 pacientes (11%), todos estavam em uso de ciclosporina desde o transplante. Três pacientes (11%) estavam em uso de ciclofosfamida, sendo o tempo médio de uso entre os que estavam usando o medicamento, igual a 11,6

meses. A indicação de ciclofosfamida foi em substituição à azatioprina, em parte dos pacientes nos quais a azatioprina havia sido suspensa devido ao diagnóstico de hepatite C.

Dezoito pacientes (64%) receberam pulsos de metil-prednisolona, e apenas 8 (29%) fizeram uso de OKT3 como indução ou para tratamento de rejeição aguda. O número de pulsos ou cursos dessas drogas recebidos pelos pacientes é mostrado na tabela 32.

**Tabela 32. Número de Pulsos de Metil-prednisolona e Cursos de OKT3 Recebidos pelos Pacientes**

Droga	Número de Pacientes				
	0 Pulso/Curso	1 Pulso/Curso	2 Pulsos/Cursos	3 Pulsos/Cursos	Ign
Metil-prednisolona	8	11	6	1	2
OKT3	18	7	1	0	2

Ign = Ignorado

#### 3.4.4 Drogas hepatotóxicas

Nenhum paciente estava em uso de metil-dopa na época do estudo. Quatorze pacientes (50%) tinham usado essa droga no passado. Nenhum paciente, também, estava em uso de cetoconazol ou de isoniazida no momento do estudo, sendo que apenas 2 pacientes haviam usado cetoconazol no passado e apenas 1 havia utilizado isoniazida.

Quanto ao uso de acetaminofen, apenas 2 pacientes não tinham no prontuário ou não expressaram na entrevista ter utilizado a droga de maneira esporádica. Entretanto, por tratar-se de droga de uso corrente e com diversas apresentações

comerciais, não podemos excluir com certeza seu uso por todos os pacientes.

### 3.4.5 Infecções virais

A presença do HBsAg já foi discutida na seção 3.1. Quanto à presença de anticorpos contra o citomegalovírus (CMV), não foi possível obter essa informação em 10 pacientes (36%). Dos dezoito cuja informação foi obtida, apenas 1 foi negativo para a presença de anti-CMV IgG. Apenas 1 paciente foi positivo para o anti-CMV IgM no momento do estudo, com títulos baixos (1:5), mas sem sintomatologia clínica. Esse paciente teve diagnóstico histológico de ausência de lesões, Escore de Knodell igual a zero ( 0 ), ICT igual a 1,8 e número de células imunoativadas igual a 4.

### 3.4.6 Relação das características descritivas dos pacientes com o diagnóstico histológico e com o Escore de Knodell

As variáveis "demográficas" (descritivas) foram analisadas quanto a suas relações com o diagnóstico histológico agrupado, com o diagnóstico histológico dicotomizado na forma "lesões de hepatite crônica x lesões mínimas ou inexistentes" e com o Escore de Knodell. Não foi realizada análise com o diagnóstico histológico na forma "lesões leves X lesões avançadas", pois o número de casos de hepatite crônica ativa, por ser muito pequeno (apenas 03), inviabilizou os testes estatísticos.

Os resultados das comparações entre idade, sexo, tipo de doador, tempo de hemodiálise, tempo de transplante e número de transfusões de sangue e o diagnóstico histológico estão expostos nas tabelas 33 a 44.

**Tabela 33. Relação entre Idade e Diagnóstico Histológico**

Diagnóstico Histológico	N	Idade	
		Média *	S
Lesões Mínimas	18	37,5	10,1
Hepatite Crônica Persistente	6	51,3	6,2
Hepatite Crônica Ativa	3	58,3	12,7

S = Desvio Padrão ; \* p = 0,0015 (ANOVA)

**Tabela 34. Relação entre Idade e Diagnóstico Histológico Dicotomizado**

Diagnóstico Histológico	N	Idade	
		Média *	S
Lesões Mínimas	18	37,5	10,1
Lesões de Hepatite Crônica	9	53,7	8,7

S = Desvio Padrão ; \* p = 0,0006 ( "t" de Student )

**Tabela 35. Distribuição dos Casos por Sexo e Diagnóstico Histológico**

Sexo	Número de Casos *			
	L. Mínimas	HCP	HCA	Total
Masculino	4	3	1	8
Feminino	14	3	2	19
Total	18	6	3	27

\* p = 0,4301 (  $\chi^2 = 1,69$  )

**Tabela 36. Distribuição dos Casos por Sexo e Diagnóstico Histológico Dicotomizado**

Sexo	Número de Casos *		
	Lesões Mínimas	Lesões de HC	Total
Masculino	4	4	8
Feminino	14	5	19
Total	18	9	27

\* p = 0,2261 (Fisher)

**Tabela 37. Distribuição dos Casos por Tipo de Doador e Diagnóstico Histológico**

Tipo de Doador	Número de Casos *			
	L. Mínimas	HCP	HCA	Total
Vivo Relacionado	10	4	1	15
Cadáver	7	2	2	11
Total	17	6	3	26

\* p = 0,6262 (  $\chi^2 = 0,94$  )

**Tabela 38. Distribuição dos Casos por Tipo de Doador e Diagnóstico Histológico Dicotomizado**

Tipo de Doador	Número de Casos *		
	Lesões Mínimas	Lesões de HC	Total
Vivo Relacionado	10	5	15
Cadáver	7	4	11
<b>Total</b>	<b>17</b>	<b>9</b>	<b>26</b>

\* p = 0,5982 (Fisher)

**Tabela 39. Relação entre o Tempo de Hemodiálise e o Diagnóstico Histológico**

Diagnóstico Histológico	N	Tempo de Diálise (meses)			
		X	vm	VM	Md *
Lesões Mínimas	18	45,72	3	156	36
Hepatite Crônica Persistente	6	25,50	10	54	21,5
Hepatite Crônica Ativa	3	75,00	21	132	72

X = Média ; vm = Valor Mínimo ; VM = Valor Máximo ; Md = Mediana ;

\* p = 0,2120 (Kruskal-Wallis)

**Tabela 40. Relação entre o Tempo de Hemodiálise e o Diagnóstico Histológico Dicotomizado**

Diagnóstico Histológico	N	Tempo de Diálise (meses)			
		X	vm	VM	Md *
Lesões Mínimas	18	45,72	3	156	32
Lesões de Hepatite Crônica	9	42,00	10	132	31

X = Média ; vm = Valor Mínimo ; VM = Valor Máximo ; Md = Mediana ;

\* p = 0,7185 (Mann-Whitney)

**Tabela 41. Relação entre o Tempo de Transplante e o Diagnóstico Histológico**

Diagnóstico Histológico	N	Tempo de Transplante (meses)			
		X	vm	VM	Md *
Lesões Mínimas	18	45,44	8	168	34
Hepatite Crônica Persistente	6	36,50	6	54	42
Hepatite Crônica Ativa	3	52,67	46	61	51

X = Média ; vm = Valor Mínimo ; VM = Valor Máximo ; Md = Mediana ;

\* p = 0,5175 (Kruskal-Wallis)

**Tabela 42. Relação entre o Tempo de Transplante e o Diagnóstico Histológico Dicotomizado**

Diagnóstico Histológico	N	Tempo de Transplante (meses)			
		X	vm	VM	Md *
Lesões Mínimas	18	45,44	8	168	35
Lesões de Hepatite Crônica	9	41,89	6	61	46

X = Média ; vm = Valor Mínimo ; VM = Valor Máximo ; Md = Mediana ;

\* p = 0,8369; (Mann-Whitney)

**Tabela 43. Relação entre o Número de Transfusões de Sangue e o Diagnóstico Histológico**

Diagnóstico Histológico	N	Número de Transfusões			
		X	vm	VM	Md *
Lesões Mínimas	18	14,28	2	50	11,0
Hepatite Crônica Persistente	6	7,50	1	30	3,5
Hepatite Crônica Ativa	3	9,00	3	20	4,0

X = Média ; vm = Valor Mínimo ; VM = Valor Máximo ; Md = Mediana ;

\* p = 0,1822; (Kruskal-Wallis)

**Tabela 44. Relação entre o Número de Transfusões de Sangue e o Diagnóstico Histológico Dicotomizado**

Diagnóstico Histológico	N	Número de Transfusões			
		X	vm	VM	Md *
Lesões Mínimas	18	14,28	2	50	11
Lesões de Hepatite Crônica	9	8,00	1	30	4

X = Média ; vm = Valor Mínimo ; VM = Valor Máximo ; Md = Mediana ;

\* p = 0,0753; (Mann-Whitney)

Foi testada a associação entre valores do Escore de Knodell e sexo ou tipo de doador, tendo sido avaliada, também, a correlação do Escore de Knodell com o tempo de diálise, tempo de transplante e número de transfusões de sangue. Esses resultados são mostrados nas tabelas 45 a 47.

**Tabela 45. Relação entre o Sexo e o Escore de Knodell**

Sexo	N	Escore de Knodell			
		Média	V. mínimo	V. Máximo	Mediana *
Masculino	8	1,75	0	6	1,5
Feminino	19	0,89	0	4	0

\* p = 0,1734; (Mann-Whitney)

**Tabela 46. Relação entre o Tipo de Doador e o Escore de Knodell**

Doador	N	Escore de Knodell			
		Média	V. mínimo	V. Máximo	Mediana *
Vivo Relacionado	15	0,93	0	4	0
Cadáver	11	1,54	0	6	1

\* p = 0,3492; (Mann-Whitney)

**Tabela 47. Correlação entre Idade, Tempo de Hemodiálise, Tempo de Transplante e Número de Transfusões com o Escore de Knodell**

Variável Correlacionada	r	Significância	Teste
Idade	0,63	I.C. = 0,31 a 0,82	Pearson
Tempo de Diálise	-0,01	p = 0,951	Spearman
Tempo de Transplante	0,30	p = 0,134	Spearman
Número de Transfusões	-0,18	p = 0,375	Spearman

r = Coeficiente de Correlação

A única variável descritiva que mostrou relação estatisticamente significativa com o diagnóstico histológico foi a **idade**. A média de idade entre os pacientes com HCA foi de 58,33 anos, com HCP foi de 51,33 anos e com lesões mínimas ou inespecíficas foi de 37,50 anos ( $p=0,0015$ , ANOVA). A relação foi mais clara na análise do diagnóstico na forma dicotomizada. A média de idade entre os pacientes com lesões de Hepatite Crônica foi de 53,7 anos, enquanto que a dos pacientes com lesões mínimas ou inexistentes foi de 37,5 anos ( $p=0,0006$ , "t" de Student). A correlação entre idade e Escore de Knodell demonstrou-se também estatisticamente significativa, com um coeficiente de correlação linear de Pearson igual a 0,63 (intervalo

de confiança de 95% de 0,31 a 0,82 ).

Não houve associação entre sexo e diagnóstico histológico, nem entre tipo de doador e diagnóstico histológico. Não houve associação, também, entre tempo de diálise, tempo de transplante ou número de transfusões de sangue com diagnóstico histológico, nem correlação de qualquer dessas variáveis com o Escore de Knodell.

Buscou-se verificar se um hipotético tempo de exposição à doença traria relação com o diagnóstico histológico ou com o Escore de Knodell. Esse tempo, imaginado como a soma do tempo de diálise com o tempo de transplante, não mostrou relação estatisticamente significativa com o diagnóstico histológico nem com o Escore de Knodell. O resultado dessas análises é mostrado nas tabelas 48 e 49.

**Tabela 48. Relação entre o Tempo de Exposição e o Diagnóstico Histológico**

Diagnóstico Histológico	N	Tempo de Exposição (meses)			
		X	vm	VM	Md *
Lesões Mínimas	18	91,17	36	182	81,5
Hepatite Crônica Persistente	6	62,00	16	108	58,0
Hepatite Crônica Ativa	3	127,67	82	178	123,0

X = Média ; vm = Valor Mínimo ; VM = Valor Máximo ; Md = Mediana ;  
\* p = 0,0915; (kruskal-Wallis)

**Tabela 49. Relação entre o Tempo de Exposição e o Diagnóstico Histológico Dicotomizado**

Diagnóstico Histológico	N	Tempo de Exposição (meses)			
		X	vm	VM	Md *
Lesões Mínimas	18	91,17	36	182	81,5
Lesões de Hepatite Crônica	9	83,89	16	178	77,0

X = Média ; vm = Valor Mínimo ; VM = Valor Máximo ; Md = Mediana ;  
\* p = 0,7772; (Mann-Whitney)

A correlação entre o tempo de exposição e o Escore de Knodell foi avaliada através do coeficiente de correlação de Spearman. O coeficiente encontrado para essa correlação foi de 0,15, sendo o valor de "p" igual a 0,476. Logo, não houve correlação estatisticamente significativa entre o hipotético tempo de exposição e o Escore de Knodell.

A doença-base que levou à perda da função renal não pode ser analisada, mesmo com testes não-paramétricos, devido ao pequeno número de casos em cada categoria.

### 3.4.7 Relação entre as provas bioquímicas hepáticas e o diagnóstico histológico

As provas bioquímicas hepáticas foram avaliadas quanto ao fato de estarem ou não dentro dos limites normais e comparadas com o diagnóstico histológico. A comparação dos resultados das provas hepáticas com o diagnóstico histológico dicotomizado na forma "lesões mínimas ou inexistentes x lesões de hepatite crônica" está exposta na tabela 50.

**Tabela 50. Relação entre o Resultado das Provas Bioquímicas Hepáticas e o Diagnóstico Histológico Dicotomizado na Forma "Lesões Mínimas ou Inexistentes x Lesões de Hepatite Crônica"**

	Número de Pacientes									
	ALT		AST		GGT		FA		Bib T	
	N	A	N	A	N	A	N	A	N	A
Lesões Mínimas	14	4	15	3	15	3	15	3	15	3
Lesões de Hepatite Crônica	5	4	6	3	5	4	6	3	7	2
Total	19	8	21	6	20	7	21	6	22	5
Valor de p (Fisher)	0,2261		0,3046		0,1392		0,3046		0,5527	

ALT = Alanina-aminotransferase; AST = Aspartato-aminotransferase; BibT = Bilirrubina total; GGT = Gama-glutamil-transpeptidase; FA = Fosfatase alcalina; N = Normal; A = Alterado (acima dos valores normais)

Não foi observada associação estatisticamente significativa entre provas hepáticas elevadas (acima de seu limite normal) e diagnóstico histológico dicotomizado.

Os valores das provas bioquímicas hepáticas, independentemente de serem considerados normais ou elevados, foram comparados com o diagnóstico histológico. Os resultados da análise na forma dicotomizada " lesões mínimas ou inexistentes x lesões de Hepatite Crônica" estão demonstrados na tabela 51.

**Tabela 51. Valores Médios dos Testes Bioquímicos Hepáticos Conforme o Diagnóstico Histológico Dicotomizado na Forma "Lesões Mínimas ou Inexistentes x Lesões de Hepatite Crônica"**

Teste	Lesões Mínimas		Lesões de H. C.		Valor de p (Teste "t")
	Média	S	Média	S	
ALT	22,3	25,2	35,7	40,3	0,3077
AST	17,7	19,3	23,7	24,3	0,5063
BibT	0,9	0,4	1,1	0,5	0,1726
BibD	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1492
GGT	40,4	44,7	50,2	40,5	0,6009
FA	142,3	106,6	150,6	36,9	0,8280

ALT = Alanina-aminotransferase; AST = Aspartato-aminotransferase; BibT = Bilirrubina total; BibD = Bilirrubina direta; GGT = Gama-glutamil-transpeptidase; FA = Fosfatase alcalina; H.C. = Hepatite Crônica; S = Desvio-padrão

As provas hepáticas, embora apresentando tendência a valores mais elevados nos pacientes com lesões mais avançadas, não mostraram, na análise estatística, diferenças significativas entre os grupos de pacientes conforme o diagnóstico histológico.

#### **3.4.8 Relação entre as provas bioquímicas hepáticas e o Escore de Knodell**

Foi avaliada a correlação entre as provas bioquímicas hepáticas e o Escore de Knodell. Esses resultados estão expostos na tabela 52.

**Tabela 52. Coeficientes de Correlação entre as Provas Hepáticas e o Escore de Knodell**

Teste	Coeficiente ( Spearman )	Valor de p
ALT	0,43	0,029 *
AST	0,43	0,027 *
BibT	0,34	0,094
BibD	0,51	0,010 *
GGT	0,37	0,079
FA	0,16	0,443

ALT = Alanino-transferase; AST = Aspartatotransferase; BibT = Bilirrubina total; BibD = Bilirrubina direta; GGT = Gama-glutamil-transpeptidase; FA = Fosfatase alcalina; \* = significativo para  $\alpha = 0.05$

Na avaliação da correlação das enzimas hepáticas com o Escore de Knodell, verificou-se significância estatística para a **ALT** ( $p=0,029$ ), a **AST** ( $p=0,027$ ) e a **bilirrubina direta** ( $p=0,010$ ), e valores de "p" próximos da significância para a Gama-GT e para a bilirrubina total.

### 3.4.9 Relação entre a presença de rejeições e o diagnóstico histológico e o Escore de Knodell

Foi avaliada a associação entre presença de rejeições e diagnóstico histológico na forma dicotomizada "lesões mínimas x lesões de hepatite crônica". Os resultados são apresentados na tabela 53.

**Tabela 53. Relação entre Presença de Rejeições e Diagnóstico Histológico Dicotomizado**

Rejeição	Número de Pacientes		
	Lesões Mínimas	Lesões de HC	Total
Sim	14	4	18
Não	2	5	7
Total	16	9	25

\*  $p = 0,0343$  ; (Fisher)

A tabela 54 apresenta os números médio e mediano de rejeições conforme o diagnóstico histológico e a tabela 55 apresenta a comparação com o diagnóstico histológico dicotomizado.

**Tabela 54. Número de Episódios de Rejeição conforme o Diagnóstico Histológico**

Diagnóstico	N	Número de Episódios de Rejeição			
		Valor Mínimo	Valor Máximo	Mediana*	Média
Lesões Mínimas	16	0	2	1,5	1,375
HCP	6	0	1	0,5	0,500
HCA	3	0	1	0	0,333

\*  $p = 0,0174$ ; Kruskal-Wallis

**Tabela 55. Número de Episódios de Rejeição conforme o Diagnóstico Histológico Dicotomizado**

Diagnóstico	N	Número de Episódios de Rejeição			
		Valor Mínimo	Valor Máximo	Mediana*	Média
Lesões Mínimas	16	0	2	1,5	1,375
Lesões de HC	9	0	1	0	0,444

\*  $p = 0,0046$ ; (Mann-Whitney)

O fato de haver tido rejeição aguda mostrou uma associação **inversa** com a gravidade do diagnóstico histológico. Conforme mostra a tabela 53, verificou-se uma associação estatisticamente significativa entre presença de rejeição e apresentar, na análise dicotomizada do diagnóstico, "Lesões mínimas ou inexistentes" ( $p=0,0343$ ; teste exato de Fisher).

Os pacientes que tiveram um número maior de rejeições apresentaram diagnósticos histológicos mais favoráveis, tanto na análise agrupada primariamente como na dicotomizada. A *mediana* do **número de episódios de rejeição** foi zero (0) entre os pacientes com HCA, 0,5 entre os pacientes com HCP e 1,5 entre os pacientes com lesões mínimas ou inespecíficas ( $p=0,0174$ ; Kruskal-Wallis).

Na análise dicotomizada (tabela 55) a *mediana* foi zero (0) entre os pacientes com lesões de hepatite crônica e 1,5 entre os pacientes com lesões mínimas, mantendo-se a significância estatística da diferença ( $p=0,0046$ ; Mann-Whitney).

Foi realizada a avaliação da relação do Escore de Knodell com a presença ou não de rejeições. Esses resultados são mostrados na tabela 56.

**Tabela 56. Escore de Knodell conforme a Presença ou Não de Rejeições**

Pacientes	N	Escore de Knodell		
		Valor Mínimo	Valor Máximo	Mediana *
Com Rejeição	18	0	4	0
Sem Rejeição	7	0	6	2

\*  $p = 0.0041$ , Mann-Whitney

A mediana dos valores do Escore de Knodell foi maior nos pacientes que não apresentaram rejeição ( $Md=2$ ) do que nos pacientes que tiveram ao menos um episódio de rejeição ( $Md=0$ );  $p = 0.0041$  pelo teste de Mann-Whitney.

O número de episódios de rejeição apresentou uma relação **inversa** com o Escore de Knodell. O coeficiente de correlação encontrado foi  $-0,667$  ( $p=0,000$ , Spearman).

#### **3.4.10 Relação da imunossupressão com o diagnóstico histológico e com o Escore de Knodell**

O uso de prednisona, azatioprina, ciclosporina ou ciclofosfamida, tanto atual como no passado, descrito na seção 3.4.3, não mostrou associação estatisticamente significativa com os diagnósticos histológicos, nem com o Escore de Knodell.

Foi avaliada a relação do tempo de uso dessas drogas com o diagnóstico

histológico e com o Escore de Knodell.

Não houve diferenças significativas no tempo de uso dessas drogas relativamente ao diagnóstico histológico.

A correlação entre o tempo de uso das drogas imunossupressoras básicas e o Escore de Knodell, avaliada através do teste de Spearman, é mostrada na tabela 57.

**Tabela 57. Coeficientes de Correlação (Spearman) entre o Tempo de Uso das Drogas Imunossupressoras e o Escore de Knodell**

Droga	Coeficiente ( r )	Valor de p
Prednisona	0,41	0,037
Ciclosporina	0,37	0,059
Azatioprina	0,18	0,398
Ciclofosfamida	0,09	0,672

O tempo de uso de prednisona apresentou uma correlação estatisticamente significativa com o Escore de Knodell ( $r=0,41$ ,  $p=0,037$ ). O tempo de uso de ciclosporina apresentou uma *tendência* à correlação com o Escore de Knodell ( $r=0,37$ ;  $p=0,059$ ), não verificada com os tempos de uso de azatioprina e ciclofosfamida ( $p=0,398$  e  $p=0,672$ , respectivamente).

Foi avaliada a associação entre o fato de ter recebido pulsos de metil-prednisolona ou cursos de OKT3 com o diagnóstico histológico dicotomizado na forma "lesões mínimas x lesões de hepatite crônica". O resultado é mostrado nas tabelas 58 e 59.

**Tabela 58. Relação entre Pulso de Metil-Prednisolona e Diagnóstico Histológico Dicotomizado na Forma "Lesões Mínimas x Lesões de Hepatite Crônica".**

Pulso de MP	Número de Pacientes *		
	Lesões Mínimas	Lesões de Hepatite Crônica	Total
Sim	13	3	16
Não	2	6	8
Total	15	9	24

\*  $p = 0,0127$ ; ( Fisher )

**Tabela 59. Relação entre Curso de OKT3 e Diagnóstico Histológico Dicotomizado na Forma "Lesões Mínimas x Lesões de Hepatite Crônica".**

Curso de OKT3	Número de Pacientes *		
	Lesões Mínimas	Lesões de Hepatite Crônica	Total
Sim	2	5	7
Não	13	4	17
Total	15	9	24

\*  $p = 0,0420$ ; ( Fisher )

O fato de ter recebido pulso de metil-prednisolona apresentou associação estatisticamente significativa com a presença de lesões mínimas ou inexistentes na PBH ( $p=0,0127$ , Fisher). No entanto, o fato de ter recebido pulso de OKT3 evidenciou um **efeito oposto**, ou seja, apresentou associação estatisticamente significativa com a presença de lesões de hepatite crônica ( $p=0,0420$ , Fisher).

Foi avaliada a relação entre o fato de ter recebido pulsos / cursos dessas drogas e o Escore de Knodell. Essa avaliação foi realizada através da comparação entre os valores do Escore para quem recebeu e para quem não recebeu os pulsos / cursos. Os resultados são mostrados na tabela 60.

**Tabela 60. Escore de Knodell conforme Ter ou Não Ter Recebido Pulsos de Metil-Prednisolona ou OKT3**

	Escore de Knodell			
	Valor Mínimo	Valor Máximo	Mediana *	Média
Com pulso de MP	0	4	0	0,62
Sem pulso de MP	1	6	2	2,50
Com curso de OKT3	0	6	2	2,29
Sem curso de OKT3	0	4	0	0,82

MP = Metil-Prednisolona ; \* p = 0,0018 para a MP e 0,0340 para o OKT3 (Mann-Whitney)

A mediana do Escore de Knodell foi significativamente **menor** entre os que receberam pulso (Md=0) do que entre os que não receberam pulso (Md=2) de metil-prednisolona (p=0,0018), enquanto que a mediana do Escore de Knodell foi significativamente **maior** entre os que receberam curso (Md=2) do que entre os que não receberam curso de OKT3 (Md = 0, p=0,0340, Mann-Whitney).

O número de pulsos de metil-prednisolona e de cursos de OKT3 foi comparado com os diagnósticos histológicos dicotomizados. Esses resultados são mostrados na tabela 61.

**Tabela 61. Número de Pulsos de Metil-Prednisolona e de Cursos de OKT3 Conforme o Diagnóstico Histológico Dicotomizado**

Diagnóstico Histológico Dicotomizado	N	Pulsos de Metil-prednisolona			Pulsos de OKT3		
		vm	VM	Md *	vm	VM	Md **
Lesões Mínimas ou Inexistentes	15	0	2	1	0	2	0
Lesões de Hepatite Crônica	9	0	3	0	0	1	1

\* p = 0,0253; \*\* p = 0,0508; (Mann-Whitney);  
vm = valor mínimo; VM = valor máximo; Md = mediana

O número de pulsos de metil-prednisolona foi maior entre os pacientes que apresentaram lesões mínimas ou inexistentes (Md=1) do que entre os que tiveram lesões de hepatite crônica (Md=0, p=0,0253). Inversamente, o número de cursos de OKT3 foi maior entre os pacientes que apresentaram lesões de Hepatite Crônica (Md=1) do que entre os que tiveram lesões mínimas ou inexistentes (Md=0,

p=0.0508).

O número de pulsos de metil-prednisolona e de cursos de OKT3 foram relacionados com o Escore de Knodell utilizando-se o teste de correlação de Spearman. Verificou-se que houve correlação estatisticamente significativa entre o número de cursos de OKT3 e o Escore de Knodell ( $r=0,45$ ,  $p=0,029$ ). O número de pulsos de metil-prednisolona, por outro lado, apresentou **correlação inversa**, estatisticamente significativa com o Escore de Knodell ( $r = -0,58$ ,  $p=0,003$ ).

#### **3.4.11 Relação do uso de drogas hepatotóxicas com o diagnóstico histológico e com o Escore de Knodell**

A utilização atual ou passada das drogas potencialmente hepatotóxicas - metil-dopa, cetoconazol, izoniazida ou acetaminofen - não mostrou relações estatisticamente significativas, quer com o diagnóstico histológico, quer com o Escore de Knodell, em nenhum dos testes utilizados.

#### **3.4.12 Relação entre a sorologia para o citomegalovírus (CMV) e o diagnóstico histológico e o Escore de Knodell**

Conforme descrito acima (seção 3.4.5), apenas um paciente mostrou positividade na sorologia para o CMV - IgM, e em títulos baixos ( 1 : 5 ), e apenas um outro mostrou-se negativo para o CMV-IgG. Essa distribuição das variáveis não permitiu a realização de testes estatísticos e não permite evidenciar nenhuma relação com o diagnóstico histológico nem com o Escore de Knodell.

### 3.5 Análise Multivariada

Foi realizada análise multivariada por regressão logística, na qual foram estabelecidas como variáveis desenhadas, em modelos distintos: a) lesões de hepatite crônica (diagnóstico histológico dicotomizado na forma "lesões mínimas x lesões de hepatite crônica"); b) Escore de Knodell maior que 2.

Foi realizada modelagem, incluindo as variáveis que apresentaram correlação significativa ou próxima da significância na análise univariada, bem como possíveis variáveis de confusão. Foram incluídos, inicialmente, idade, HBsAg, tempo de exposição (tempo de diálise + tempo de transplante), ocorrência de rejeições, número de rejeições, tempo de uso de prednisona, tempo de uso de ciclosporina, pulsos de metil-prednisolona, número de pulsos, cursos de OKT3, número de cursos, ALT e AST. No entanto, o número pequeno de casos não permitiu a inclusão de muitas variáveis no mesmo modelo.

No processo de definição do modelo logístico foram realizadas análises bivariadas entre diferentes variáveis de exposição, bem como análises estratificadas da relação das variáveis de exposição com o desenhado.

As análises bivariadas entre presença de rejeição e curso de OKT3 com a idade são mostradas nas tabelas 62 e 63. O comportamento da "ocorrência de pulsos de metil-prednisolona" foi superponível ao da "ocorrência de rejeições", visto que o pulso de metil-prednisolona é o tratamento inicial de escolha para a rejeição aguda.

**Tabela 62. Relação da Idade Com a Ocorrência de Rejeição**

Rejeição	N	Idade	
		Média *	Desvio padrão
Sim	20	39,2	10,41
Não	7	53,0	11,87

\* p = 0,0073; " t " de Student

**Tabela 63. Relação da Idade Com a Presença de Cursos de OKT3**

Cursos	N	Idade	
		Média *	Desvio padrão
Sim	8	49,7	14,65
Não	18	40,2	10,30

\* p = 0,0635; " t " de Student

Verificou-se que a idade foi significativamente *menor* entre os pacientes que tiveram rejeição, o que explica o efeito da rejeição no diagnóstico histológico, que foi perdido quando controlado para a idade.

Embora não tendo atingido significância estatística (p = 0,0635), a idade dos pacientes que receberam cursos de OKT3 *tendeu* a ser maior do que aqueles que não receberam curso.

Os resultados da análise estratificada da relação da idade com o diagnóstico histológico dicotomizado na forma “lesões mínimas ou inexistentes x lesões de hepatite crônica”, de acordo com a ocorrência de rejeições e uso de OKT3, são mostrados nas tabelas 64 e 65.

**Tabela 64. Relação entre a Idade e o Diagnóstico Histológico Dicotomizado, Estratificada Conforme a Ocorrência de Rejeição.**

Rejeição	N	Média de Idade ± s		p
		L. Mínimas	L. de Hepatite Crônica	
Sim	18	35,3 ± 8,5	53,2 ± 5,6	0,0014
Não	7	50,5 ± 17,7	54,0 ± 11,4	0,7544

s = desvio padrão

**Tabela 65. Relação entre a Idade e o Diagnóstico Histológico Dicotomizado, Estratificada Conforme o Uso de OKT3**

OKT3	N	Média de Idade $\pm$ s		p
		L. Mínimas	L. de Hepatite Crônica	
Sim	7	35,5 $\pm$ 13,4	58,4 $\pm$ 9,0	0,0409
Não	17	37,7 $\pm$ 11,0	47,7 $\pm$ 3,4	0,0948

s = desvio padrão

Verificou-se que, entre os pacientes que tiveram rejeição, a idade foi significativamente maior entre os que tiveram lesões de hepatite crônica (idade média=53,2 anos) do que entre os que tiveram lesões mínimas (idade média=35,2 anos;  $p=0,0014$ ). No entanto, entre os pacientes que não tiveram rejeição, não houve diferença estatisticamente significativa entre as idades dos que tiveram lesões mínimas e dos que tiveram lesões de hepatite crônica ( $p=0,7544$ ). O efeito da ocorrência de rejeição sobre o diagnóstico histológico foi, portanto, confundido pelo efeito da idade.

Entre os pacientes que receberam curso de OKT3, a idade também foi significativamente maior entre os que tiveram lesões de hepatite crônica ( $p=0,0409$ ). Esta diferença não se verificou entre os pacientes que não receberam cursos de OKT3 ( $p=0,0948$ ). Aqui, novamente, verificou-se confusão do efeito do uso de OKT3 sobre o diagnóstico histológico pelo efeito da idade.

O resultado do modelo logístico final que melhor expressou a relação entre as variáveis é mostrado na tabela 66.

**Tabela 66. Modelo Logístico: Relação da Idade, Controlada para Tempo de Exposição, Ocorrência de Rejeição, Número de Pulsos de Metil-Prednisolona, Número de Cursos de OKT3 e Valor da ALT, com a Presença de Lesões de Hepatite Crônica \***

Variável	Razão de Chances (Odds-Ratio)	Intervalo de Confiança	Valor de p
Idade	1,241	1,018 a 1,511	0,0323
Tempo de Exposição	0,979	0,935 a 1,025	0,3657
Rejeição	0,841	0,146 a 4,856	0,8463
Numero de Pulsos de Metil-prednisolona	0,619	0,155 a 2,469	0,4970
Número de Cursos de OKT3	1,862	0,501 a 6,926	0,3536
ALT	1,042	0,985 a 1,102	0,1541

\* Razão de Verossimilhança do Modelo:  $p = 0,0057$

A idade mostrou associação significativa com a presença de lesões de hepatite crônica. A idade manteve associação significativa com o diagnóstico histológico mesmo quando controlada para tempo de exposição, drogas imunossupressoras e rejeições.

A razão de chances (odds-ratio) da idade foi de 1,2. Isso significa que o risco de apresentar lesões de hepatite crônica foi 20% maior, a cada ano de vida, nessa população de transplantados com hepatite C.

O tempo de exposição não apresentou associação significativa com o diagnóstico histológico na análise multivariada, não confundindo o efeito da idade.

A presença e o número de rejeições, a presença e o número de pulsos de metil-prednisolona, a presença e o número de cursos de OKT3, a ALT e a AST, quando incluídas como principal exposição, apresentaram associação ou tendência a associação com o diagnóstico histológico, mas as associações foram perdidas quando controladas para a idade.

Assim sendo, a **idade** mostrou-se, na análise multivariada, o único fator independentemente associado com a presença de lesões de hepatite crônica no diagnóstico histológico.

## 4 DISCUSSÃO

### 4.1 Características da amostra

Conforme descrito na seção 2.3.2, uma amostra de tamanho ideal para o estudo proposto constaria de 33 pacientes. Tal amostra permitiria detectar, com uma confiança de 95%, a existência de uma sensibilidade de 75% na capacidade do exame da PAH em diagnosticar o grau e a evolução das lesões hepáticas nos transplantados renais com hepatite C, tendo como padrão-ouro a biópsia hepática. O número de pacientes efetivamente examinados no presente estudo chegou a 28, sendo que foram obtidos 26 pares válidos com resultados satisfatórios na PAH e na PBH. O número de casos obtido, portanto, ficou abaixo do esperado, certamente constituindo um dos fatores que dificultou o cumprimento dos objetivos propostos, na medida em que houve prejuízo de algumas das análises estatísticas, em especial da análise multivariada.

A seleção dos pacientes tomou como base a presença de anticorpos anti-HCV, detectados pelo método ELISA de segunda geração. Esse teste tem sensibilidade elevada, entre 80% e 100%, com uma janela imunológica de 4 a 8 semanas (5, 43, 107, 169), sendo o teste de triagem mais empregado em clínica e em pesquisas. Pode, porém, apresentar alto índice de falsos positivos entre grupos de baixo risco, e em presença de hipergamaglobulinemia (107).

Em recente dissertação de mestrado, onde foram estudados transplantados renais de outro hospital de Porto Alegre, Zanotelli (175) utilizou 3 testes ELISA de segunda geração (UBI, ABBOT e BEHRING) para detecção do anti-HCV, obtendo

frequências de 27,5%, 25,0% e 22,9%, respectivamente, entre os mesmos pacientes. Entre os positivos pelo teste UBI, apenas 45,45% foram positivos para o HCV-RNA por PCR *double-nested* (dupla incubação). O significado desses resultados é discutível, no sentido de que não se pode afirmar que os restantes 44,55% fossem falsos positivos. O mais correto é reconhecer a variabilidade da acurácia dos testes anti-HCV ELISA de segunda geração, que, embora pequena, existe de fato.

Nossos pacientes foram testados, na primeira vez, a partir de 4 meses após o transplante, e em todos eles o proteinograma não mostrou elevações da gama-globulina. Quando o teste foi positivo, foi realizada nova testagem após 6 meses. Considerando-se que a população estudada é uma população de alto risco para o HCV, tanto do ponto de vista clínico quanto da prevalência efetivamente encontrada (40,5% - ver seção 2.3.2), e que, por se tratar de pacientes imuno-suprimidos é improvável a presença de hepatite crônica auto-imune, pode-se considerar que o procedimento de seleção torna pouco provável a presença de falsos positivos na amostra.

A existência de falsos negativos, isto é, pacientes indevidamente excluídos pelo método de testagem, deve ser considerada, já que pacientes imunossuprimidos podem não desenvolver ou apresentar títulos muito baixos de anticorpos anti-HCV. Poterucha (130) verificou que em receptores de transplante de fígado a magnitude da infecção pelo HCV foi subestimada com o uso dos testes sorológicos para o anti-HCV, sendo necessária a utilização de técnicas de detecção do RNA viral para o diagnóstico da infecção pós-transplante. Em nossa amostra, a exclusão dos pacientes falsos-negativos, caso existam, poderia influenciar a frequência final de lesões hepáticas encontradas, mas não teria influência no objetivo principal do estudo, que é a avaliação da PAH como método diagnóstico.

Dos trinta e dois pacientes originalmente selecionados, quatro foram “perdidos”, conforme descrito na seção 3.1. Não são conhecidas as características clínicas desses pacientes, já que o protocolo de coleta de dados somente era aplicado

imediatamente antes da realização dos procedimentos, caso esses fossem efetivamente realizados. Constatou-se, apenas, que dos quatro “perdidos” 3 foram do sexo masculino, o que provocou uma modificação na proporção entre os sexos na amostra final, que constou de 9 pacientes masculinos (32%) e 19 femininos (68%).

Ao contrário da hepatite B, não parece haver diferença na incidência ou na prevalência da hepatite C em relação ao sexo (8, 152). Não existe, também, indicação de que a progressão da doença seja pior em algum dos sexos. Rao (136) encontrou o sexo feminino como fator associado a progressão histológica em transplantados renais com hepatopatia crônica, mas a etiologia da doença hepática em seus pacientes era variada, incluindo hepatite B, C, e hemossiderose. Em nossa amostra, o sexo não mostrou relação com o diagnóstico histológico (tabelas 35 e 36), nem com o Escore de Knodell (tabela 45). Considera-se, portanto, que a proporção de pacientes masculinos e femininos na amostra não teve influência nos resultados do estudo.

Dois pacientes examinados foram positivos também para o HBsAg. Não existem, ainda, conclusões definitivas a respeito do efeito da co-infecção pelos vírus da hepatite B e C em transplantados renais. Franceschini e o grupo do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (52) concluíram que *em urêmicos* o dano hepático com a co-infecção B e C não é aditivo, sendo que possivelmente a severidade do dano hepático nesses pacientes seja determinada apenas pelo vírus B. No entanto, Huang (76) considera que, em transplantados renais, a co-infecção de HBV e HCV é particularmente agressiva e de pior prognóstico. Em nossa amostra, os dois pacientes HBsAg-positivos apresentaram lesões mínimas à biópsia hepática. A existência de apenas dois casos impossibilitou a verificação de existência de associação estatisticamente significativa entre a presença de HBsAg e o diagnóstico histológico. Em consequência, optou-se por incluir esses pacientes na análise global. Os quatro casos "perdidos" eram negativos para o HBsAg.

A idade, o tempo de hemodiálise e o tempo de transplante dos pacientes da amostra foram descritos na tabela 5, e, embora não tenha sido realizada prova

estatística específica, parecem semelhantes aos de outros trabalhos da literatura (17, 31, 113).

Os pacientes foram selecionados para o estudo tendo como critério básico a positividade para o anti-HCV. Não foram tomados em conta, para fins de inclusão no estudo, características clínicas ou laboratoriais de doença hepática. A tabela 30 mostra os resultados dos testes bioquímicos hepáticos na amostra. Como se vê na tabela, o número de pacientes com enzimas elevadas no momento do exame atingiu no máximo 29% da amostra (no caso da ALT e da GGT). Deve-se, portanto, ao analisar os resultados, considerar que trata-se de uma população em sua maioria sem evidências clínicas ou laboratoriais de hepatopatia crônica.

A tabela 6 mostra a etiologia da insuficiência renal nos pacientes estudados. Stempel (156) não encontrou diferenças na prevalência do anti-HCV em transplantados renais conforme a etiologia da doença renal, mas não se refere às características clínico-patológicas daí decorrentes. Para efeito de comparação, podemos citar a série de Allison, em Glasgow (4), que entre 37 transplantados renais com hepatopatia crônica (de etiologias diversas) encontrou como doença renal subjacente : glomerulonefrites 15 (41%), pielonefrite crônica 5 (14%), nefropatia obstrutiva e/ou de refluxo 5 (14%), doença cística renal 2 (5%), nefropatia diabética 2 (5%) e outras doenças em 8 (22%) pacientes. Essas diferenças provavelmente não têm relação com o desenvolvimento da hepatopatia, mas devem-se a diferenças de prevalência das respectivas doenças aqui e na Escócia. Deve-se salientar a alta proporção de casos com etiologia indeterminada e a razoável frequência de hipertensão arterial em nossa amostra. Em Glasgow, a virtual inexistência de pacientes com etiologia desconhecida reflete-se na alta taxa de glomerulonefrites diagnosticadas. Por outro lado, em um país com um sistema de saúde pública provavelmente mais eficiente, o número de perdas de rins por hipertensão não tratada deixa de ser importante.

## 4.2 A punção biópsia hepática

Conforme descrito na seção 2.4.6, foi utilizada, nesse estudo, uma classificação das lesões histológicas hepáticas baseada na classificação tradicional das hepatites crônicas (79), acrescida dos critérios de Scheuer (147) para caracterização da hepatite C.

Embora Czaja (37) tenha verificado alta especificidade (81% a 99%) e valor preditivo (62% a 91%) das características histológicas para diferenciar a etiologia das hepatites crônicas, no presente estudo a histologia **não** foi utilizada com essa finalidade, já que o critério de seleção partiu do pressuposto que todos os pacientes biopsiados eram portadores crônicos da hepatite C.

A classificação mais recente das hepatites, reivindicada por Czaja (36) e Desmet (39), entre outros, e consolidada por um grupo de trabalho internacional em 1994 (95), agrega ao diagnóstico morfológico e à graduação, a designação etiológica e o estadiamento (65, 80). Diante da necessidade de mensurar de maneira mais precisa a atividade inflamatória, foram sugeridos diversos sistemas de quantificação. O mais empregado é o Escore de Knodell.

Nesse estudo, optou-se pela utilização da classificação tradicional por dois motivos principais: 1) a nova classificação tem uma estrutura “ramificada”, ou seja, parte da etiologia e vai até a caracterização da atividade inflamatória (graduação) e da fibrose (estadiamento); dessa forma, cada caso tem ao menos 3 parâmetros classificatórios, o que, se por um lado torna mais precisa e compreensiva a classificação, por outro dificulta o tratamento estatístico dos dados, mais ainda em amostras relativamente pequenas. A classificação tradicional permitiu a sumarização de distintas características de um espécime em uma mesma categoria diagnóstica,. 2) os casos estudados eram todos, por definição, de hepatite crônica pelo vírus C. Conseqüentemente, o diagnóstico etiológico tornava-se redundante, interessando ao estudo, precipuamente, a evolução e a gravidade das lesões morfológicas, sendo

suficiente a classificação na forma tradicional.

Deve-se ressaltar que grande parte dos autores continuam utilizando a classificação tradicional em suas publicações recentes (17, 31, 42, 52, 102, 113, 118, 125, 136).

A citologia aspirativa hepática, objeto principal do estudo, fundamenta-se na presença de células inflamatórias no tecido. A fim de resgatar a expressão da atividade inflamatória na histologia, agregou-se ao estudo a medida do Escore de Knodell. As análises, portanto, foram realizadas sempre em paralelo com o diagnóstico histológico categórico e com o Escore de Knodell.

Os diagnósticos histológicos foram agrupados, inicialmente, em quatro categorias, descritas nas seções 2.2 e 2.4.6. No citado estudo de Franceschini (51), a demonstração da relação da citologia aspirativa com a histologia só foi possível ao dicotomizar as lesões encontradas em “Lesão Menor” e “Lesão Maior”. Naquele estudo, foram consideradas lesões menores as alterações hepáticas mínimas e a hepatite crônica persistente. No presente trabalho, procedeu-se também à dicotomização dos diagnósticos histológicos encontrados, porém de duas maneiras distintas. A primeira, pelo mesmo critério de Franceschini, agrupou os diagnósticos em “lesões leves” (lesões mínimas + hepatite crônica persistente) e “lesões avançadas” (hepatite crônica ativa + cirrose). A segunda dicotomização levou em conta os conhecimentos atuais sobre as hepatites crônicas, que demonstram que em indivíduos imunossuprimidos, e em especial ao tratar-se de hepatite pelo vírus C, a hepatite crônica persistente também apresenta potencial de progressão a longo prazo (36, 65). Dessa forma, reagruparam-se os diagnósticos histológicos em “lesões mínimas” e “lesões de hepatite crônica” (hepatite crônica persistente e hepatite crônica ativa). As análises com essa classificação apresentaram resultados mais consistentes e significativos.

Em nossa amostra, o material obtido nas 26 punções aproveitadas pode ser considerado satisfatório. Como foi apresentado nos resultados (seção 3.2), 73% dos

casos (19 casos) tiveram 6 ou mais espaços-porta por fragmento, sendo a média da amostra de 8,27 espaços-porta. O número de espaços porta considerado satisfatório pela literatura é de 6 ou mais no fragmento considerado (88).

Conforme mostrado na tabela 8, entre os 27 pacientes biopsiados foram encontrados 18 casos de lesões mínimas ou inexistentes (66%), 6 casos de hepatite crônica persistente (22%) e 3 casos de hepatite crônica ativa (11%). As frequências encontradas de lesões de hepatite crônica (persistente ou ativa), e em especial a de lesões hepáticas avançadas (hepatite crônica ativa ou cirrose), ficaram abaixo das esperadas.

A frequência de lesões histológicas nas biópsias de pacientes HCV-positivos tem apresentado grande variabilidade. Esteban (42), em 77 doadores de sangue HCV-positivos pelo ELISA e pelo RIBA-2, encontrou 18 (23%) de HCP e 46 (60%) de HCA. Naito (118) encontrou 19 casos de HCP entre 22 portadores do HCV **com ALT persistentemente normal**. Marcen (102) biopsiou 10 transplantados renais HCV-positivos pelo RIBA-4 e com alterações das provas hepáticas, encontrando HCA em 6, HCP em 2 e hepatite crônica lobular em 2. Morales (113), em 27 transplantados renais com hepatopatia crônica, encontrou 5 (18,5%) com cirrose, 9 (33,3%) com HCA e 6 (22,2%) com HCP. Chan (31) biopsiou 13 transplantados renais com positividade para o HCV-RNA,  $39,6 \pm 31,2$  meses após o transplante. Desses, 3 pacientes tinham enzimas persistentemente normais e apresentaram alterações mínimas à biópsia. Dos 8 que tinham alterações flutuantes ou persistentes das enzimas, 7 (53,8%) apresentaram, na biópsia, alterações mínimas; 1 mostrou hepatite crônica lobular, 5 (38,5%) mostraram hepatite crônica ativa e 1 teve cirrose. Boletis (17), em estudo extenso e elegante, realizou biópsias hepáticas em 40 transplantados renais HCV-positivos (ELISA-2 e RIBA-2), em média  $27 \pm 26$  (1 a 113) meses após o transplante, encontrando 21 (57%) com ausência de lesões ou alterações mínimas, 6 (17%) com hepatite crônica persistente ou lobular e 2 casos (5%) de cirrose. Rao e colaboradores (136) estudaram 72 transplantados renais **com hepatopatia crônica, independente**

**da etiologia**, encontrando 8 (11%) com esteatose, 9 (12%) com hemossiderose, 20 (28%) com hepatite crônica persistente e 35 (49%) com hepatite crônica ativa.

Em nosso meio, Vasconcellos e colaboradores (164) encontraram a frequência de 37,5% de hepatite crônica e cirrose em doadores de sangue HCV-positivos assintomáticos, mas com enzimas alteradas, e Franceschini (51), em trabalho semelhante ao nosso, porém com pacientes urêmicos HBsAg-positivos, entre 15 pacientes biopsiados encontrou 72,7% de hepatite crônica e 36,4% somente de hepatite crônica ativa. Como nossa estimativa inicial de prevalência de lesões baseou-se nesses dois últimos estudos, o resultado efetivamente encontrado resultou abaixo do esperado. A repercussão das frequências dos diagnósticos histológicos encontradas sobre os demais resultados do estudo será abordada adiante.

Dentre as causas possíveis dessa baixa frequência, deve-se considerar os critérios de exclusão do estudo. Dois pacientes foram excluídos por já terem sido biopsiados (seção 2.3.3). Esses pacientes haviam sido submetidos à biópsia por apresentarem alterações clínicas sugestivas de doença hepática. Dessa forma, a exclusão foi seletiva para casos com lesões histológicas mais avançadas.

Outra causa possível de baixa frequência de lesões seria um tempo de evolução da doença insuficiente para o aparecimento de lesões avançadas.

O tempo transcorrido da infecção é, reconhecidamente, um dos fatores determinantes da progressão clínica e patológica da doença (150, 152, 153). Na maior parte dos casos é impossível saber quando deu-se a infecção pelo HCV. O mais provável é que a infecção dos pacientes estudados tenha se dado através de transfusões sanguíneas durante a hemodiálise, em uma época em que os testes anti-HCV não eram utilizados pelo banco de sangue local. O fato de o número de transfusões de sangue não ter apresentado relação com a gravidade da lesão hepática **não** exclui essa hipótese, já que o fator mais importante é o tempo, e não o número de transfusões. O tempo de transplante é um intervalo que pode ser utilizado como estimativa do tempo de infecção. Conforme discutido acima (seção 4.1) o tempo

de transplante dos pacientes estudados foi, em média, de 44,68 meses, variando de 6 a 168 meses. Na série de Oliveras (121), todos os casos avançados de doença hepática se desenvolveram após 5 ou mais anos após o transplante renal, no entanto o diagnóstico foi feito somente por alterações enzimáticas persistentes, sem realização de biópsia hepática. Embora a literatura não apresente estudos com realização de biópsia hepática com seguimentos muito superiores aos nossos, deve-se considerar a possibilidade de não ter havido tempo suficiente para o aparecimento de lesões histológicas mais avançadas.

Os estudos que apresentaram lesões mais avançadas foram realizados com pacientes que apresentavam positividade para o teste RIBA-2, e/ou HCV-RNA, e/ou apresentavam alterações enzimáticas persistentes (31, 42, 102). A positividade do RIBA-2 correlaciona-se fortemente com infectividade, viremia detectável (HCV-RNA) e doença hepática clínica (43, 49, 163, 169). Os pacientes positivos para o anti-HCV pelo ELISA de segunda geração, mas negativos pelo RIBA e/ou para o HCV-RNA, ainda são objeto de discussões. Em grupos de baixo risco de exposição para a hepatite C, esses pacientes provavelmente sejam falsos-positivos. Porém, em grupos de alto risco de exposição fazem-se necessários novos estudos para determinar a frequência da presença do HCV-RNA nesses pacientes (107,109). É possível que ao menos parte desses resultados **não** sejam falsos-positivos, mas sim pacientes nos quais, naquele momento, não está havendo replicação viral, ou que apresentam níveis muito baixos de viremia. Pode significar, também, cura da doença ou “cicatriz sorológica” em pacientes que eliminaram o vírus.

Em pacientes tratados com interferon, a redução da viremia, medida por técnicas quantitativas de PCR, é interpretada como fator prognóstico de melhora da progressão clínica (55, 169, 176) . Portanto, aqueles pacientes com presença do HCV-RNA ou positivos pelo RIBA-2 poderiam representar o subgrupo com atividade viral mais intensa e, em consequência, com maior probabilidade de lesões hepáticas avançadas (109, 169). No entanto, existem relatos de que, em transplantados

hepáticos com hepatite C, o nível quantitativo da viremia pós-transplante **não** se correlaciona com a severidade do dano histológico (158). Desse modo, o efeito causado nas frequências de lesões histológicas encontrada, pelo fato de termos selecionado os pacientes para o estudo somente a partir do teste ELISA, sem a utilização de RIBA ou técnicas de detecção do RNA viral, permanece incerto.

Por outro lado, conforme discutido acima (seção 4.1), os pacientes do presente estudo apresentaram, em sua maioria, provas bioquímicas hepáticas normais.

Portanto, as diferenças no critério de seleção dos pacientes poderiam ser responsáveis pelas diferenças nas frequências das lesões encontradas nesse e nos estudos citados.

Outra causa possível das diferenças de evolução das lesões histológicas nos pacientes com hepatite C é a existência de múltiplos subtipos genotípicos do vírus. Apesar da nomenclatura dos tipos e subtipos do HCV não ser, ainda, objeto de consenso, já foram descritos 9 grupos principais e pelo menos 30 subgrupos genotípicos, com implicações biológicas e clínicas distintas, inclusive no que concerne à resposta ao tratamento com interferon (21). O genótipo 1b (II), por exemplo, é reconhecidamente associado a doença hepática mais severa e a um efeito citopático mais intenso em pacientes transplantados (129). O subtipo mais frequentemente identificado no Brasil tem sido o grupo 1, o mais comum na maioria dos países (21). No entanto, isso pode apenas refletir o fato desse ter sido o primeiro tipo a ser descrito e o que mais disseminadamente é testado. Não dispomos, até o momento, de dados sobre a tipagem do HCV em Porto Alegre.

O diagnóstico histológico de hepatite crônica em transplantados renais não ofereceu maiores dificuldades. Os critérios utilizados pelo patologista na análise das biópsias hepáticas, expressos no protocolo (Anexo II) e relatados na seção 2.4.6, foram os habitualmente utilizados na clínica e em pesquisas. Em transplantes hepáticos, a infecção pelo vírus C pode ser de difícil diagnóstico, pois os achados histológicos podem assemelhar-se aos da rejeição, isquemia, obstrução ou outras

infecções (48), mas esse risco, evidentemente, não se aplica aos transplantados renais. A ciclosporina não costuma ser responsável por hepatotoxicidade significativa, e o leve aumento das bilirrubinas em transplantados tratados com essa droga possivelmente relaciona-se à interação entre a ciclosporina e a excreção da bilirrubina, sem toxicidade da primeira (71). A azatioprina e outras drogas que podem causar lesões hepáticas semelhantes à hepatite foram analisadas como variáveis independentes.

No presente estudo, além do diagnóstico morfológico, foi utilizado o Escore de Knodell para graduação das lesões histológicas hepáticas. A tabela10 mostra os valores do Escore conforme o diagnóstico histológico. Os escores encontrados foram mais baixos que os originalmente descritos por Knodell para cada categoria de diagnóstico histológico (88). Em seu estudo, Knodell descreveu 14 biópsias obtidas de 5 pacientes, seguidos por períodos de tempo variados, quatro dos quais tinham diagnóstico de hepatite crônica não-A-não-B. O Escore foi concebido para avaliar espécimes com lesões de hepatite crônica. O fato de termos tido, em nossa amostra, um número grande de pacientes com lesões mínimas ou ausência de lesões pode ter sido responsável pela discrepância dos valores encontrados. Outra possibilidade é que em a imunossupressão tenha sido responsável pela diferença nos valores do Escore. No entanto, o fato de a presente série contar com 27 biópsias, quase o dobro da série de Knodell, é relevante, podendo sugerir que os valores do Escore de Knodell devam ser revalidados para populações distintas daquelas originalmente estudadas. Mesmo assim, como demonstra a tabela10, no presente estudo foi mantida uma relação de progressividade do Escore de Knodell com a piora do diagnóstico histológico.

### **4.3 A punção aspirativa hepática**

A PAH é um método amplamente utilizado para avaliação de rejeição em

transplantes de rim e fígado (16, 61, 69, 72, 92, 93, 119, 139, 148, 173). Em nosso meio, Franceschini (51) demonstrou a utilidade da PAH para diagnosticar lesões hepáticas em pacientes em hemodiálise com hepatite B.

Manfro (99) avaliou a reprodutibilidade dos achados da PAH no diagnóstico da rejeição aguda de enxerto. Em seu estudo, a associação de técnicas de imunoperoxidase para avaliação dos antígenos HLA-DR e do ICAM-1 aumentou a sensibilidade e o valor preditivo do método, mas a reprodutibilidade foi considerada satisfatória mesmo com a técnica convencional.

No presente estudo, a reprodutibilidade da interpretação da PAH foi avaliada mediante a comparação dos valores do ICT, do número de células imunoativadas e do escore de colestase das duas leituras realizadas de cada lâmina. Verificou-se pequena discrepância entre os valores médios do ICT, que foram significativamente maiores na primeira leitura do que na segunda. Porém, manteve-se boa correlação entre a primeira e a segunda leitura, como mostra a tabela 13, e não houve diferença significativa entre os valores do número de células imunoativadas e do escore de colestase da primeira para a segunda leitura.

Neste estudo, a primeira leitura das lâminas foi realizada no contexto da rotina habitual de exames do serviço. A segunda leitura foi realizada ao final do estudo com a finalidade específica de “revisão” das lâminas. Nessa ocasião, três lâminas não puderam ser avaliadas devido a problemas de conservação. Em ambas as leituras foi mantido o caráter “cego” em relação ao diagnóstico histológico. Como se trata de técnica que exige atenção para diferenciar os subtipos celulares, presume-se que a leitura realizada com a finalidade específica de revisão deva ser a mais correta. Os resultados do estudo permitem concluir que a técnica apresentou razoável reprodutibilidade, mas que para obter seu máximo potencial necessita de interpretação atenta e cuidadosa do material obtido.

Dessa forma, nas restantes análises, foram utilizados os valores da segunda leitura, a não ser nas lâminas prejudicadas, nas quais utilizou-se os valores da primeira leitura.

O presente trabalho não demonstrou existência de relação entre o Incremento Corrigido Total e o diagnóstico histológico (tabelas 14 e 15). Os valores de corte do ICT testados, embora com números pequenos em algumas categorias, não evidenciaram também associação com os resultados da histologia (tabela 16). A acurácia do ICT para diferenciar a gravidade das lesões hepáticas foi baixa, qualquer que fosse o ponto de corte do ICT utilizado (tabelas 17 e 18).

O número de células imunoativadas não apresentou associação com as categorias do diagnóstico histológico (tabela 21), mas na análise dicotomizada, o número de células imunoativadas foi **maior** nos pacientes com lesões leves (tabela 22). Porém, ao estabelecer pontos de corte para o número de células imunoativadas, não se demonstrou relação entre as faixas de CIA e as categorias de diagnóstico histológico (tabelas 23 e 24).

O escore morfológico e o escore de colestase também não apresentaram relação estatisticamente significativa com o diagnóstico histológico (tabelas 27 e 28).

No entanto, o cálculo da probabilidade de erro  $\beta$  demonstra que o poder dos testes realizados para detectar, com uma confiança de 95%, a existência de uma correlação porventura existente entre o ICT e o número de células imunoativadas com o diagnóstico histológico foi muito pequeno: 18% e 22% respectivamente.

Não foi verificada correlação significativa entre o ICT e o Escore de Knodell (ver seção 3.3.3), nem entre o número de células imunoativadas, escore morfológico e escore de colestase eo Escore de Knodell (seção 3.3.5 e tabela 29, respectivamente). A relação do ICT e do número de células imunoativadas com o Escore de Knodell foi avaliada também comparando seus valores com as faixas do Escore de Knodell

descritas pelo mesmo em seu trabalho original (88), como está mostrado nas tabelas 19, 20, 25 e 26. Não foi verificada relação estatisticamente significativa em nenhum dos casos, embora o pequeno número de pacientes nas faixas superiores do Escore de Knodell tenha prejudicado algumas das análises.

Seria de se esperar que houvesse relação entre a citologia aspirativa e o Escore de Knodell, mesmo na ausência de correlação entre a citologia e o diagnóstico histológico, já que ambos (a citologia aspirativa e o Escore) medem, em teoria, o mesmo fenômeno, que é a atividade inflamatória tecidual. Uma possível explicação para não ter sido evidenciada essa relação no presente estudo é que o Escore de Knodell foi desenhado para medir lesões de hepatite crônica e, em nossa amostra, tivemos um predomínio de casos com lesões mínimas.

Conforme discutido acima, no presente estudo os valores do Escore de Knodell encontrados para cada categoria de diagnóstico histológico foram *inferiores* aos descritos originalmente pelo autor, talvez como reflexo dessa diferença amostral. Com a finalidade de avaliar outras possibilidades de relação entre a citologia e a histologia, realizou-se também o teste da associação entre o ICT e o número de células imunoativadas com as faixas de Escore de Knodell que *nessa amostra* correlacionaram com as categorias de diagnóstico histológico: 0 a 1 (baixo), 2 a 3 (médio) e 4 ou mais (alto). Não foi encontrada associação estatisticamente significativa também na análise realizada dessa forma (dados não mostrados).

Tomados em seu conjunto, os resultados apontam para a inexistência de capacidade da PAH para diagnosticar o grau de lesões hepáticas nos transplantados renais com hepatite crônica pelo vírus C. No entanto, essa conclusão merece algumas considerações.

Franceschini (51) com um número menor de pacientes (apenas 17), conseguiu demonstrar a capacidade da PAH em diferenciar “lesões maiores” (HCA) de “lesões

menores” (alterações mínimas ou HCP) em urêmicos com hepatite crônica pelo vírus B. Porém, no trabalho de Franceschini a frequência de lesões de hepatite crônica foi de 53%, portanto mais elevada do que nesse trabalho.

Zannier (174), também em pacientes com hepatite crônica pelo vírus B, não encontrou diferença significativa entre os valores do ICT nos casos de HCP, HCA, ou cirrose. No entanto, o autor evidenciou, por meio da PAH, diferenças entre os tipos celulares predominantes no infiltrado hepático, conforme o diagnóstico histológico. Na HCP o infiltrado foi moderado, com raros blastos. Na HCA o infiltrado foi mais intenso, com predomínio de linfócitos pequenos, alguns linfócitos ativados, poucos blastos e monócitos. Na cirrose, o componente monocítico foi mais importante do que nas outras categorias. Em todas as categorias Zannier encontrou um predomínio de células T CD8+ e expressão citoplasmática ou na membrana de HLA-DR, que estava sempre ausente nos hepatócitos normais. Recentemente, Ballardini e colaboradores (13) estudaram características imuno-histoquímicas em biópsias hepáticas de pacientes HCV-positivos. Em seu estudo, o autor encontrou uma correlação significativa entre o número de linfócitos T CD8+ no espaço lobular e os níveis de ALT, bem como uma maior expressão de antígenos HLA-A, B e C, principalmente nos pacientes que não responderam ao tratamento com interferon.

Os trabalhos de Franceschini, Zannier e Ballardini sugerem que, de algum modo, a quantidade e o tipo de células que infiltram o fígado de pacientes com hepatites virais têm significado diagnóstico e prognóstico para a evolução da doença.

No presente trabalho, em que não foi realizado estudo imuno-histoquímico de determinantes antigênicos e subtipos celulares, a citologia aspirativa tradicional não foi capaz de diferenciar as lesões histológicas nos transplantados com hepatite C. Esse fato pode ser explicado de várias formas: 1) o ICT e o número de células imunoativadas por si só podem não ser capazes de fazer essa diferenciação, sendo

necessário agregar-lhes uma contagem diferencial dos tipos celulares e/ou técnicas imuno-histoquímicas; 2) em pacientes imunossuprimidos, o comportamento do infiltrado celular pode ser diferente daquele em pacientes imunocompetentes e, nesse caso, os critérios diagnósticos da PAH não se aplicariam ou teriam que ser adaptados para essa situação específica; 3) a metodologia empregada pode ter sido inadequada para demonstrar o objetivo proposto, o que é sugerido pelo elevado erro  $\beta$  encontrado.

A possibilidade de que a imunossupressão modifique a relação agente-hospedeiro na infecção pelo vírus C, alterando o processo patogénico é óbvia, e será discutida adiante. No entanto, de que maneira isso se reflete na expressão citológica do infiltrado que se apresenta à PAH é menos claro. Se por um lado os transplantados renais infectados pelo HCV têm um aumento da replicação viral provavelmente dependente da imunossupressão (56), o estudo de Ballardini (13) sugere um papel proeminente da citotoxicidade mediada por células T na gênese do dano hepatocelular. Nesse caso, o infiltrado celular deveria correlacionar-se com a intensidade da atividade inflamatória hepática, detectável pela PAH. Gonçalves (62), demonstrou uma redução significativa de linfócitos CD3+ intra enxerto e no sangue periférico de transplantados renais com rejeição aguda tratados com anticorpo monoclonal OKT3. Não se sabe de que maneira o uso desses anticorpos afeta o infiltrado inflamatório decorrente da infecção hepática pelo vírus C e seu reflexo na citologia aspirativa.

Conhecimentos recentes sobre a imunologia dos transplantes sugerem a possibilidade de outro fator passível de confundir a relação morfológica entre infiltrado inflamatório hepático e hepatites infecciosas em pacientes transplantados. Trata-se do "microquimerismo", que é a presença de células imunes do doador em tecidos do receptor. Tem sido demonstrada a presença dessas células no receptor até 29 anos após o transplante especialmente nos órgãos linfóides, incluindo-se aí o fígado, que é,

sob certo aspecto, um órgão linfóide (155). Embora não esteja claro, pressupõe-se que a interação entre células imunes do enxerto e do hospedeiro inicie imediatamente após a reperfusão, estando o fenômeno do microquimerismo possivelmente relacionado ao desenvolvimento de tolerância ao enxerto (155). Pode-se supor que, em alguns dos pacientes com diagnóstico histológico de lesões mínimas, mas com ICT e número de células imunoativadas elevados, ao menos parte do infiltrado celular detectado pela PAH seja expressão de microquimerismo, e não de reação imune do hospedeiro contra o vírus C. Essa possibilidade necessitaria de outros métodos para ser avaliada, incluindo a utilização de técnicas específicas de imunocitoquímica.

A tabela 67 sintetiza as possíveis explicações para a ocorrência de divergências entre a citologia e o diagnóstico histológico.

**Tabela 67. Situações de Divergência entre a Citologia e o Diagnóstico Histológico**

Diagnóstico Histológico	Indicadores Citológicos (ICT e Número de CIA)	Explicação
Lesões mínimas ou ausência de lesões	↑	1) Infiltrado por células imunes não direcionadas contra hepatócitos infectados pelo vírus C 2) Células imunes do doador alojadas no tecido (microquimerismo)
Lesões de hepatite crônica	↓	1) Efeito citopático direto do vírus, não mediado por inflamação 2) Redução da inflamação pela imunossupressão

↑ = elevados; ↓ = baixos

Nossos dados sugerem, portanto, que a citologia aspirativa hepática não pode ser excluída como instrumento de avaliação do dano hepático pelo vírus C nos transplantados renais, sendo necessários novos estudos para avaliar esse potencial,

com maior número de pacientes e com emprego de técnicas imuno-citoquímicas.

## **4.4 Avaliação clínico-laboratorial**

### **4.4.1 Sexo**

Conforme discutido na seção 4.1, o sexo não apresentou relação significativa com a gravidade das lesões hepáticas mensuradas quer pelo diagnóstico histológico quer pelo Escore de Knodell (tabelas 35, 36 e 45), o que corresponde ao descrito na literatura (8, 152).

### **4.4.2 Tipo de doador**

Em nossa amostra, o tipo de doador (vivo ou cadavérico) não apresentou relação com o diagnóstico histológico (tabelas 37 e 38), nem com o Escore de Knodell (tabela 46). Na literatura revisada, os trabalhos não fazem menção ao tipo de doador como causa de alguma diferença na evolução da doença hepática. No Hospital de Clínicas de Porto Alegre, desde sua introdução em 1992, o teste anti-HCV passou a ser aplicado aos candidatos a doadores renais vivos relacionados. No entanto, no que se refere a doadores cadavéricos, a testagem para o anti-HCV foi introduzida mais recentemente, somente no contexto de retirada de múltiplos órgãos. A política do serviço de transplante renal tem sido, até agora, não aceitar órgãos HCV-positivos, quando essa informação é conhecida. A organização das rotinas dos transplantes cadavéricos no HCPA permite que o teste anti-HCV seja realizado sem aumentar significativamente o tempo de isquemia do órgão. Com exceção dos casos de doadores relacionados HLA-idênticos, o protocolo de imunossupressão é o mesmo para os receptores de rins de doadores vivos ou cadavéricos (seção 2.3.1). Assim, não se espera, de fato, que o tipo de doador interfira na evolução da doença hepática

subsequente.

#### **4.4.3 Co-infecções virais**

Os aspectos referentes à presença do HBsAg já foram discutidos acima, na seção 4.1. As informações quanto à infecção pelo CMV foram mais difíceis de recuperar. Embora, em tese, todos os receptores sejam testados para o CMV antes do transplante, esse resultado muitas vezes só é disponível após a realização do ato cirúrgico, não influenciando na decisão de receber ou não um órgão de doador cadáver. Dessa forma em 10 (36%) dos 28 pacientes estudados não foi encontrada no prontuário informação sobre o estado sorológico relativo ao CMV. Dos 18 pacientes cuja informação foi obtida, todos menos 1 foram positivos para o anti-CMV IgG (ver seção 3.4.5). Por outro lado, apenas 1 paciente foi positivo para o anti-CMV IgM no momento do estudo, mas com títulos baixos (1:5) e sem sintomatologia clínica.

Lautenschlager (94) avaliou as características citológicas do fígado de receptores de transplantes hepáticos monitorados por citologia aspirativa e concluiu que os padrões celulares de reativação do HCV e do CMV apresentam pequenas diferenças entre si, mas diferem significativamente do padrão encontrado na rejeição aguda do fígado. No presente estudo, que examinou transplantados renais, a presença de infecção aguda ou reativação da infecção pelo CMV poderia ser elemento de confusão para a citologia hepática, mesmo sem causar repercussões no diagnóstico histológico.

As características do único paciente com anti-CMV IgM positivo estão mostradas na tabela 68.

**Tabela 68. Características Clínico-Laboratoriais do Paciente com Anti-CMV IgM Positivo**

Característica	Resultado
ALT	9
AST	8
GGT	9
Bilirrubina Total	0,8
Fosfatase Alcalina	-
Diagnóstico Histológico	Ausência de lesões
Escore de Knodell	0
ICT	1,8
Células Imunoativadas	4

Pelo fato de apenas 1 paciente ser negativo para o anti-CMV IgG e apenas um outro ser positivo para o anti-CMV IgM, fica evidente a impossibilidade de análise estatística da relação da presença de infecção pelo CMV e lesão hepática nessa amostra. No entanto, como mostra a tabela 68, o único paciente com positividade para o anti-CMV IgM não apresentou evidências de lesão hepática. Os títulos baixos apresentados pelo paciente são difíceis de interpretar em face da imunossupressão, mas provavelmente não sejam indicativos de doença ativa.

#### 4.4.4 Provas bioquímicas hepáticas

Talvez um dos aspectos relativos à infecção pelo HCV mais extensamente avaliados e debatidos na literatura seja a relação da infecção com as provas bioquímicas hepáticas, imprópria mas habitualmente chamadas de “enzimas”.

Estudos com diferentes desenhos abordaram a associação de valores elevados das provas hepáticas quer com a presença da infecção, quer com a gravidade da evolução clínica ou histopatológica. Frequentemente, os estudos definem a disfunção hepática crônica como alterações ocasionais ou persistentes das provas hepáticas, o que, *a priori*, acarreta um problema metodológico para o estudo dessa relação. Alguns dos estudos representativos sobre o assunto são comentados a seguir.

Kubo (89) encontrou 57 (89,1%) pacientes anti-HCV positivos entre 64 transplantados renais com hepatopatia crônica, definida como aumento da ALT ou AST mantido por 6 meses.

Naito (118) biopsiou 22 portadores “sadios” (não transplantados) HCV-RNA positivos, **com ALT persistentemente normal**, encontrando 19 casos de hepatite crônica.

Da mesma forma, Bruno (19) acompanhou por 14 meses 8 pacientes com anti-HCV (ELISA-2) e HCV-RNA (PCR) positivos. As aminotransferases mantiveram-se sempre dentro dos limites normais. Ao final do seguimento, quando foi realizada biópsia hepática, 7 dentre os 8 apresentaram lesões de hepatite crônica.

Rao (136) realizou estudo prospectivo em transplantados renais com hepatopatia crônica pós transplante, definida como anormalidade nas provas hepáticas persistindo por 6 meses ou mais, independente da etiologia. Na população selecionada por esse critério, o nível das “enzimas” no momento da biópsia correlacionou-se com o diagnóstico histológico e com o prognóstico da doença.

Chan (31) avaliou as características histológicas de 13 transplantados renais positivos para o HCV-RNA, concluindo que a histologia correlacionou-se com os níveis médios de ALT e da fosfatase alcalina e as lesões hepáticas foram mais severas nos pacientes com anormalidades bioquímicas persistentes.

Goffin (59) verificou que, embora 10 entre 13 transplantados renais HBsAg-negativos com ALT elevada fossem anti-HCV positivos, apenas 10 entre os 20 transplantados que tinham HCV-RNA detectável por PCR apresentavam elevação daquela enzima.

Marcen (102) encontrou 46 (19,9%) pacientes positivos para o HCV pelo RIBA-4 entre 231 transplantados renais testados. Desses, 21 (45,7%) tinham anormalidades persistentes ou intermitentes das provas hepáticas. Dez pacientes foram biopsiados, evidenciando hepatite crônica ativa em 6, crônica persistente em 2 e crônica lobular em 2. Outros 23 transplantados RIBA-4 positivos mantiveram a ALT normal apesar de

seguimento de  $66,2 \pm 32,2$  meses, não sendo submetidos à biópsia.

Boletis (17), biopsiando 40 transplantados renais anti-HCV positivos, concluiu que as provas bioquímicas hepáticas em geral e as transaminases em particular relacionam-se pobremente com a histologia hepática.

Allison (4), estudando pacientes selecionados a partir da anormalidade das provas bioquímicas, demonstrou claramente que o diagnóstico histológico foi variável e que a ALT flutuou ao longo dos 48 meses do estudo, embora em um dos casos tenha apresentado aumento logo após os períodos de intensificação da imunossupressão e tenha regredido após a perda do enxerto e retirada da imunossupressão, sugerindo correlação com atividade de replicação viral.

Em Porto Alegre, diversos trabalhos tratam do assunto, como descrito abaixo.

No HCPA, Vasconcellos (164) biopsiou 16 doadores de sangue anti-HCV positivos assintomáticos mas com dois ou mais testes bioquímicos alterados, encontrando 4 casos (25%) de hepatite crônica e 1 de cirrose, em que pese a elevada taxa de consumo de álcool na amostra.

No Serviço de Nefrologia e Transplante Renal do HCPA, com a mesma população de transplantados que serviu de base para o presente estudo, Manfro e colaboradores (100) encontraram diferenças estatisticamente significativas entre os valores da ALT, AST e GGT entre os pacientes positivos e os negativos para o anti-HCV (ELISA-2). No entanto, em estudo realizado com os transplantados renais da Santa Casa de Misericórdia, Zanotelli (175) não encontrou diferenças significativas nas dosagens de ALT e AST entre os receptores anti-HCV negativos e positivos aos 6 meses e 1 ano pós transplante.

O conjunto de informações da literatura permite inferir que: 1) as alterações nas provas bioquímicas não são consistentes, tendem a ser de moderada magnitude, e é frequente a existência de pacientes com infecção pelo HCV de longa duração com provas normais, o mesmo ocorrendo em pacientes com diagnóstico histológico de lesões avançadas; 2) quando persistentemente elevadas, as provas hepáticas

parecem indicar maior gravidade da doença hepática e pior prognóstico.

No presente estudo, em que o critério de seleção foi a presença do anti-HCV (ELISA-2) por no mínimo 6 meses, a proporção de pacientes com alterações nas provas bioquímicas hepáticas variou entre 21%, para a fosfatase alcalina e a bilirrubina, e 29% para a ALT e a GGT (tabela 30). Não foi encontrada associação significativa entre a presença de alterações (acima do valor normal de nosso laboratório) das provas hepáticas com o diagnóstico histológico (tabela 50). Da mesma forma, como mostra a tabela 51, os valores das provas hepáticas, embora tendendo a ser mais elevados nos pacientes com lesões mais avançadas, não mostraram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de pacientes. Na avaliação da correlação das enzimas hepáticas com o Escore de Knodell, verificou-se significância estatística para a **ALT** ( $p=0,029$ ), a **AST** ( $p=0,027$ ) e a **Bilirrubina direta** ( $p=0,010$ ), e valores de "p" próximos da significância para a Gama-GT e para as bilirrubinas.

Em seu conjunto, os achados do presente estudo referentes à relação da hepatite C com as provas bioquímicas hepáticas estão de acordo com os descritos na literatura, isso é, as “enzimas” hepáticas não se mostraram um bom marcador da gravidade das lesões histológicas nos transplantados renais, mas verificou-se uma tendência a um pior prognóstico nos pacientes com provas hepáticas elevadas.

#### **4.4.5 O tempo de diálise, o tempo de transplante e o número de transfusões**

No presente estudo, não foi verificada relação estatisticamente significativa entre o tempo de hemodiálise, tempo de transplante ou o número de transfusões de sangue e o diagnóstico histológico ou o Escore de Knodell (tabelas 39, 40, 41, 42, 43, 44 e 47).

Como mostra a tabela 5, o tempo de diálise médio dos pacientes estudados foi de 43,64 meses, com mediana de 29,5 meses. É um tempo condizente com o habitualmente verificado nas unidades de diálise em nosso meio.

O número mediano de transfusões de sangue recebidas pelos pacientes foi de 6,6 , mas chegou a 50 em uma paciente com anemia falciforme (tabela 5).

A maior parte dos trabalhos publicados sobre o assunto demonstra associação entre tempo de hemodiálise e número de transfusões de sangue e **prevalência** do HCV (29, 59, 102, 113, 156), embora alguns autores tenham encontrado resultados discordantes (112, 175). Poucos estudos, no entanto, avaliaram a relação desses fatores de risco com os achados histológicos em transplantados renais.

Chan (31) encontrou associação, em transplantados renais, entre o tempo de hemodiálise e alterações persistentes das provas hepáticas e dessas, por sua vez, com maior gravidade das lesões histológicas.

Morales (113), no entanto, não evidenciou relação direta entre o tempo de diálise ou o número de transfusões de sangue e o desenvolvimento de hepatite crônica (como um todo) à biópsia.

Aparentemente, embora a literatura não seja conclusiva a respeito, os resultados do presente estudo corroboram a constatação de que, embora o tempo de diálise e o número de transfusões seja importante fator de risco para o contágio pelo HCV, após adquirida a infecção esses dois fatores deixam de ser preditivos da evolução das lesões histológicas.

O tempo médio de transplante foi de 44,68 meses, e o mediano de 44,5 , variando entre 6 e 168 meses (tabela 5).

Conforme assinalado anteriormente, é difícil identificar o momento de contágio dos pacientes estudados pelo vírus C, já que boa parte deles contraíram a doença antes que se tivesse disponível o teste do anti-HCV. Também contribui para essa dificuldade o fato de a fase aguda da hepatite C ser, na maior parte dos casos, de curso discreto ou subclínico. No entanto, pode-se considerar que o *último* momento de alto risco para o contágio tenha sido o transplante, já que após o mesmo os pacientes deixaram de se submeter à diálise e receber transfusões de sangue. Portanto, o tempo *mínimo* de evolução da hepatite nos paciente estudados pode ser

considerado igual ao tempo de transplante. O período em torno de 4 anos é relativamente curto para o surgimento de consequências clínicas ou histológicas da hepatite C, embora poucos estudos tenham seguimentos maiores.

Nos estudos iniciais publicados sobre hepatite C no contexto do transplante renal (87, 112, 140, 156, 162), a constatação dos autores de que o HCV não trazia consequências clínicas importantes nem alterava a sobrevida do paciente ou do enxerto, talvez se devesse, em parte, ao curto tempo de seguimento (158).

Embora existam relatos de que aproximadamente 12% dos pacientes urêmicos já apresentam positividade para o anti-HCV ao entrarem em diálise (Silveira, Roseméri, estudo em curso no HCPA, comunicação pessoal), é sabido que a hemodiálise - juntamente com as transfusões de sangue que acompanham o tratamento dialítico - é o principal fator de risco para o contágio pelo HCV nesses pacientes (56, 58, 154, 157). Portanto, para efeitos de análise, constituímos um hipotético **tempo de exposição**, composto pela soma do tempo de diálise (tempo em que o paciente estaria exposto a contrair a doença) com o tempo de transplante (tempo mínimo de evolução da doença nesses pacientes). O tempo de exposição, assim constituído, buscou representar o possível tempo real de evolução da doença. No entanto, a análise estatística não demonstrou relação significativa do tempo de exposição com o diagnóstico histológico nem com o Escore de Knodell.

Como o tempo de evolução da doença comprovadamente leva a uma piora nas lesões histológicas, pode-se levantar duas hipóteses para a inexistência da relação entre tempo de transplante ou tempo de exposição e diagnóstico histológico. A primeira, já comentada acima, é a de que o tempo de evolução na amostra estudada (sob imunossupressão) tenha sido insuficiente para o desenvolvimento de lesões avançadas, de modo que essa relação pudesse ser demonstrada estatisticamente. A segunda possibilidade é a de que nem o tempo de transplante nem o tempo de exposição (hipotético) tenham sido indicadores do tempo de evolução real da doença. Nesse aspecto, a idade, que demonstrou forte associação com o diagnóstico

histológico, mantida na análise multivariada, pode ter sido um indicador melhor do tempo de doença. A relação da idade com as demais variáveis do estudo será discutida a seguir.

#### 4.4.6 A análise multivariada: a idade, o processo imunológico e a imunossupressão

Na análise univariada foram encontradas as seguintes associações e correlações entre as variáveis de exposição (fatores de risco) e o desenlace:

- idade mais avançada com hepatite crônica ativa ( $p=0,0015$ , tabela 33), com lesões de hepatite crônica ( $p=0,0006$ , tabela 34) e com **maior** Escore de Knodell ( $r=0,63$ , tabela 47);

- ocorrência de rejeição com **melhor** diagnóstico histológico dicotomizado (lesões mínimas;  $p=0,0343$ , tabela 53) e com **menor** Escore de Knodell ( $p=0,0041$ , tabela 56);

- número maior de rejeições com lesões mínimas ou inexistentes na análise primária ( $p=0,0174$ , tabela 54) ou dicotomizada ( $p=0,0046$ , tabela 55), e **menor** Escore de Knodell ( $r = -0,667$ ,  $p = 0,000$ );

- tempo de uso de prednisona com Escore de Knodell ( $r=0,41$ ,  $p=0,037$ , tabela 57);

- tempo de uso de ciclosporina e Escore de Knodell (*tendência* a associação, próximo ao limite de significância,  $r=0,37$ ,  $p=0,059$ , tabela 57);- ter recebido pulso de metil-prednisolona com lesões mínimas ( $p=0,0127$ , tabela 58) e **menor** Escore de Knodell ( $p=0,0018$ , tabela 60);

- número maior de pulsos de metil-prednisolona com lesões mínimas ( $p=0,0253$ , tabela 61) e **menor** Escore de Knodell ( $r = -0,58$ ,  $p=0,003$ );

- ter recebido pulso de OKT3 com lesões de hepatite crônica ( $p = 0,0420$ , tabela 59) e **maior** Escore de Knodell ( $p=0,0340$ , tabela 60);

- número maior de cursos de OKT3 com lesões de hepatite crônica ( $p=0,0508$ ,

tabela 61) e **maior** Escore de Knodell ( $r=0,45$ ,  $p=0,029$ ).

As análises que envolveram diagnóstico histológico na forma agrupada primariamente (lesões mínimas x HCP x HCA) têm valor estatístico questionável, já que o número de casos de hepatite crônica ativa foi de apenas 3 pacientes. Os resultados das análises restantes são metodologicamente consistentes.

Na literatura, a situação imunológica e a imunossupressão têm sido freqüentemente relacionadas com a evolução da hepatite C.

Aparentemente, o tipo de imunossupressão utilizado não se associa ao risco de contrair a hepatite C ou apresentar positividade para o anti-HCV (89), mas sim ao desenvolvimento da doença após o contágio.

Já em 1981, La Quaglia (citado em editorial de Druwé, 1994) verificou marcado aumento dos linfócitos T supressores/citotóxicos e concomitante redução dos linfócitos auxiliares/indutores em transplantados renais com hepatite não-A-não-B.

Chan (31) comparou os achados histológicos de transplantados renais com hepatite C com os de outros doentes de hepatite C não imunossuprimidos, e concluiu que os escores utilizados para indicar dano tecidual foram *mais baixos* entre os transplantados. No mesmo artigo, o autor verificou associação entre o tempo de diálise e pior resultado histológico. Dessa forma, o autor sugere que, se por um lado o estado de imunossupressão resultante da uremia e da diálise predisponha à replicação viral precoce e ao desenvolvimento de hepatopatia severa após o transplante, por outro lado a medicação imunossupresora poderia beneficiar a evolução da doença nesses pacientes, por meio da diminuição da resposta inflamatória. No entanto, o autor não analisou, separadamente, o efeito diferenciado de cada uma das drogas imunossupressoras.

Na mesma linha de pensamento, Boletis (17), ao verificar a dissociação entre achados histológicos e provas bioquímicas hepáticas em transplantados renais anti-HCV positivos, atribuiu essa dissociação ao estado de imunossupressão desses pacientes.

No que concerne ao uso específico de corticosteróides, os trabalhos de Fong (50) e de McHutchinson (108) demonstram que, em pacientes com hepatite C mas com imunidade normal, o uso de “pulso” de prednisona/prednisolona diminui os níveis de ALT, porém aumenta a replicação viral. Em transplantados renais tratados com corticóides, Lau (91) verificou a ocorrência do mesmo fenômeno.

Morales (112, 113) verificou que, entre 22 renais crônicos HCV positivos que já apresentavam hepatite crônica antes do transplante, 5 pacientes apresentaram melhora clínica da hepatite, com normalização das provas hepáticas após o transplante. Todos os 5 estavam em uso de cicloporina como droga isolada. Em contraste, 2 pacientes que desenvolveram hepatopatia severa estavam em uso de azatioprina.

Roth (143), em 109 transplantados estudados, verificou que a dose cumulativa de globulina antilinfocítica (GAL) utilizada como terapia de indução da imunossupressão foi um preditor independente da gravidade da doença hepática pós-transplante, com uma relação dose-resposta.

Em interessante trabalho prospectivo, Allison (4) descreveu a variação dos níveis de ALT em um paciente transplantado renal infectado pelo vírus C. Os níveis da enzima elevaram-se significativamente após períodos de intensificação da imunossupressão, mas em seguida à perda do enxerto e a suspensão da imunossupressão verificou-se remissão bioquímica prolongada.

Por outro lado, Fan (45), em receptores de transplante de medula óssea, e Gruber (67), em um paciente com púrpura trombocitopênica idiopática, verificaram que à suspensão da imunossupressão levou à reativação da hepatite C. A interpretação de ambos os autores foi de que a imunossupressão desencadeou um aumento da replicação viral, que se manteve clinicamente silente devido aos efeitos “antiinflamatórios” da imunossupressão, mas que levaram a dano hepático severo após a suspensão da mesma e retomada da competência imunológica dos pacientes.

A título de dissipação de dúvidas quanto a outros efeitos dos

imunossupressores, cabe citar o trabalho de Horina (73), que verificou que os transplantados renais com hepatite C crônica foram mais suscetíveis à hepatotoxicidade induzida pela ciclosporina, mas o padrão histológico do dano tóxico foi claramente diferenciável do dano pela hepatite. A suscetibilidade aumentada provavelmente decorra da interferência do vírus C no metabolismo e na excreção biliar da droga.

Conforme comentado na seção 1.3, o dano hepático provocado pelo vírus C parece possuir duplo mecanismo: a) diretamente citopático e b) imunomediado, particularmente por citotoxicidade por células T. O efeito predominante em cada caso dependerá da relação do vírus com o estado imunológico do paciente em cada situação clínica particular. A literatura oferece evidências de ambos os mecanismos.

O mecanismo de dano ao hepatócito na hepatite C mais evidenciado é a ação citopática direta do vírus. Os trabalhos acima citados reforçam essa hipótese. Por outro lado, existem evidências bastante fortes de dano mediado por mecanismos imunológicos.

A infiltração intra-hepática de células na hepatite C se dá predominantemente por linfócitos T CD8, do mesmo subtipo que aparece no fígado na hepatite B, sugerindo que existe ação citotóxica das células T em ambas as doenças. Os agregados linfóides intraportais, que caracterizam a hepatite C e indicam maior gravidade da doença, são constituídos por um centro germinativo com linfócitos B ativados, uma estrutura de células dendríticas e uma zona externa de linfócitos T contendo populações de CD4, CD8 e linfócitos ativados. Linfócitos CD8 isolados do tecido hepático de pacientes com infecção crônica pelo vírus C evidenciaram múltiplos epítomos do core do HCV (HLA Classe I-restritos), constituindo mais uma forte evidência do papel dos linfócitos T citotóxicos na patogênese do dano celular na hepatite C. Os linfócitos T auxiliares/indutores (CD4) também parecem modular o dano hepatocelular na hepatite C. Foi demonstrada resposta proliferativa de células CD4+ (HLA Classe II-restritas) à presença de proteínas virais. A resposta linfoproliferativa foi

maior em “portadores sadios”, sugerindo que as células CD4 poderiam controlar ou limitar o dano imunológico, e não mediá-lo (64).

Os mecanismos de ação das drogas imunossupressoras estão, até agora, apenas parcialmente desvendados.

O principal efeito imunossupressor dos corticosteróides parece ser o bloqueio da transcrição e da secreção da interleucina-1 (IL-1) e da interleucina-6 (IL-6) pelas células apresentadoras de antígenos, com conseqüente redução da ativação dos linfócitos CD4 e, em menor escala, também os CD8. Os corticóides bloqueiam, também, a expressão dessas citocinas e da IL-2, IL3, TNF- $\alpha$  e interferon- $\gamma$ , bem como de receptores de citocinas, pelas células apresentadoras de antígenos e pelos linfócitos T. Outros efeitos imunossupressores dessas drogas seriam a produção de linfopenia, monocitopenia e eosinopenia (por seqüestração dessas células, especialmente os linfócitos T auxiliares), bem como redução na ligação dos anticorpos às células alogênicas. Além disso, os esteróides exercem ações anti-inflamatórias, com estabilização da parede vascular, bloqueio da liberação das enzimas dos lisossomas e diminuição na resposta dos neutrófilos e monócitos aos estímulos quimiotáticos (74, 98).

A ciclosporina A age principalmente bloqueando a produção e liberação da interleucina-2 (IL-2) e outras linfocinas, como o interferon- $\gamma$  e a IL-4, pelos linfócitos T CD4 (auxiliares). A ciclosporina também determina a inibição da ativação dos linfócitos T auxiliares e citotóxicos, permitindo a ativação dos T-supressores, a inibição da apresentação de antígenos pelas células apresentadoras de antígenos e a inibição da produção de anticorpos por algumas subpopulações de linfócitos B. A ciclosporina reduz marcadamente a presença de linfócitos T citotóxicos em sangue periférico, em comparação com a azatioprina e a prednisolona. Finalmente, a droga pode inibir a indução da expressão dos antígenos Classe II do MHC, reduzindo, assim, a antigenicidade do órgão alvo (98, 115).

As imunoglobulinas e anticorpos antilinfocitários agem por mecanismos

múltiplos, dependentes da ação desses anticorpos sobre epítomos e receptores da parede das células sanguíneas. Os anticorpos policlonais, como a globulina antilinfocítica (GAL), têm efeito mais difuso em diversos tipos celulares (linfócitos, monócitos, macrófagos), enquanto que o único monoclonal em uso comercial, atualmente (o OKT3), é direcionado especificamente contra o complexo CD-3 da superfície dos linfócitos T (98).

A GAL provoca linfopenia imediata e profunda após a administração, provavelmente por destruição das células T circulantes. A imunossupressão seria mantida através da inibição da resposta proliferativa por geração de células supressoras inespecíficas (98, 131).

O OKT3 provoca uma profunda depleção dos linfócitos CD3+ no sangue periférico. Três a cinco dias após o início do tratamento, os linfócitos T reaparecem gradualmente em circulação, mas sem expressar o antígeno CD3 (somente outros marcadores como o CD4 e CD8). Esse processo, chamado “modulação antigênica”, torna as células destituídas de CD3 imunologicamente incompetentes (98, 131).

Portanto, pode-se concluir que as drogas imunossupressoras exercem efeitos distintos nos diversos mecanismos imunológicos, acarretando resultados diferentes e não completamente conhecidos na resposta imune ao enxerto e também nas defesas orgânicas contra a infecção viral e na conseqüente reação inflamatória.

As informações disponíveis sobre a hepatite C, como foi visto, não somente são insuficientes e inconclusivas, como em alguns aspectos parecem conflitantes. No entanto, vistas em conjunto, permitem levantar algumas suposições:

- 1) A patogenia do vírus da hepatite C ocorre, entre diversos mecanismos, por dano celular direto (citopático). No entanto, ocorreria somente com um acúmulo viral acima de determinado nível, nível esse que não seria atingido na maioria dos hepatócitos dos pacientes com hepatite crônica (64). A intensificação da imunossupressão nos transplantados provocaria um aumento da replicação viral acima do limiar de dano direto, levando a um subseqüente agravamento das lesões histológicas;

- 2) A imunossupressão facilita, portanto, a multiplicação viral (56). Em transplantados renais, existe um aumento da replicação viral, que é mais intensa nos períodos de intensificação da imunossupressão;
- 3) O dano celular, medido pelo aumento das aminotransferases, não acompanha, necessariamente, o período de imunossupressão, parecendo ser mais intenso após a suspensão da mesma. A explicação mais provável é que a imunossupressão, ao mesmo tempo que facilita a replicação viral, bloqueia a resposta imunológica e a “inflamação”, que são os outros fatores envolvidos no dano celular. Suspensa a imunossupressão, a carga viral aumentada no período anterior desencadearia um processo intenso de dano direto e mediado por resposta imunológica. É necessário ressaltar, porém, que o trabalho de Allison (4) apresenta conclusões opostas;
- 4) A maneira como cada uma das drogas supressoras interfere na relação agente-hospedeiro não está totalmente clara, e provavelmente seja variável conforme as doses empregadas, o tempo de uso, interrelações entre as diferentes drogas bem como características imponderáveis do vírus e do paciente;
- 5) A ciclosporina parece, no entanto, ter, de modo geral, efeito benéfico na evolução das lesões histológicas, provavelmente exercendo efeito antiinflamatório proporcionalmente mais importante que seu efeito supressor da imunidade antiviral;
- 6) Os anticorpos antilinfocíticos, policlonais (imunoglobulina antilinfocítica) ou monoclonais (OKT3), pela magnitude de seu efeito imunossupressor, são particularmente maléficos à hepatite C, levando a piora significativa das lesões histológicas. O efeito dos anticorpos antilinfocíticos ficou claramente demonstrado no estudo de Roth (143), e coincide com o conhecido efeito colateral desse tipo de medicação, que favorece infecções por diversos outros vírus, como o herpes e o CMV.

No presente estudo, em que a imunossupressão aplicada aos pacientes seguiu um protocolo uniforme, todos os pacientes estavam usando prednisona e apenas 3 não usavam ciclosporina (seção 3.4.3). O tempo de uso de prednisona e o tempo de uso de ciclosporina tenderam a ser iguais ao tempo de transplante, a não ser para os

pacientes mais antigos, cujo transplante foi anterior à introdução da ciclosporina. Dessa forma, ficou inviabilizada a detecção de relação entre o uso das drogas com qualquer outra variável, pela inexistência de grupo de pacientes que não as utilizaram. A inexistência de associação significativa entre o tempo de uso dessas drogas e o diagnóstico histológico, bem como a correlação limítrofe encontrada entre esses tempos e o Escore de Knodell, são coerentes com o mesmo achado relativo ao tempo de transplante, conforme discutido acima. Evidentemente, o uso dessas drogas influencia a evolução da hepatite C. No entanto, nesse estudo, essa influência se deu, para todos os pacientes, de modo paralelo ao tempo de transplante e com intensidade insuficiente para sobrepujar os outros fatores de associação presentes.

Entretanto, neste estudo, embora a prednisona não tenha mostrado efeito sobre o resultado histológico, pelos motivos discutidos acima, o achado do efeito da metil-prednisolona sobre a histologia, associando-se a uma menor gravidade das lesões, contraria os achados da literatura. Não existe explicação clara, atualmente, para o fenômeno verificado. Seria de se esperar que as doses utilizadas no “pulso”, bastante mais elevadas que as usuais, determinassem o aumento do dano induzido pelo vírus, ainda mais levando-se em conta que nenhum paciente foi biopsiado durante a administração de pulsos, mas, somente vários meses após o término da medicação.

O uso de OKT3 correlacionou com evidências de pior evolução da hepatite C. Nesse aspecto, o presente estudo concorda com os achados da literatura. Pelo protocolo do HCPA, tendo ocorrido rejeição, o uso de OKT3 é indicado na dependência da não-resposta à metil-prednisolona, cujos determinantes não estão suficientemente estabelecidos. Por outro lado, não foi realizada análise em separado dos pacientes que utilizaram OKT3 como terapia de indução no esquema quádruplo-sequencial e os que utilizaram a droga como terapia de resgate da rejeição aguda (ver seção 2.3.1).

O fato da ocorrência de rejeição ter-se associado a melhor diagnóstico

histológico sugere que pacientes com atividade imunológica mais intensa (e que, portanto, rejeitaram o enxerto) estejam protegidos do dano causado pelo vírus, o que corrobora a hipótese de efeito citopático direto do vírus C.

No entanto, no atual estudo, quando realizada análise multivariada por regressão logística, apenas a **idade** manteve significância estatística como preditor independente de maior gravidade das lesões histológicas (tabela 66). O tempo de exposição, que na análise simples não havia mostrado relação com o diagnóstico histológico, foi reintroduzido na análise multivariada com a finalidade de identificar alguma possível confusão com a idade, mas persistiu sem apresentar relevância como fator de risco.

A ocorrência de rejeição pareceu ser um indicador de evolução benigna da hepatite crônica. No entanto, conforme mostra a tabela 62, os pacientes que tiveram rejeição foram significativamente **mais jovens** do que aqueles que não rejeitaram (idades médias iguais a 39,2 e 53 anos, respectivamente,  $p=0,0073$ ). O comportamento do uso da metil-prednisolona foi paralelo ao da ocorrência de rejeição, pelo evidente motivo de que o pulso de metil-prednisolona é o primeiro e obrigatório tratamento para as crises de rejeição aguda no protocolo utilizado no HCPA (seção 2.3.1).

Como mostra a tabela 64, mesmo o conjunto dos pacientes que rejeitaram tendo sido mais jovem do que os que não rejeitaram, entre os pacientes que rejeitaram, a idade média foi **menor** entre os que apresentaram lesões mínimas (35,3 anos) do que entre os que tiveram lesões de hepatite crônica (53,2 anos,  $p=0,0014$ ). Entre os que não rejeitaram, não houve diferenças significativas de idade conforme o diagnóstico histológico. Isso explica o efeito estatístico da ocorrência de rejeição sobre o diagnóstico histológico, que desapareceu quando controlado para a idade.

Não houve diferença significativa entre a idade dos pacientes que utilizaram ou não utilizaram OKT3 (tabela 63). Na análise estratificada (tabela 65) houve diferença entre as idades dos pacientes que receberam OKT3, conforme o diagnóstico

histológico, embora a significância tenha sido limítrofe ( $p=0,0409$ ). Entre os que não receberam OKT3, a idade não mostrou relação com o diagnóstico histológico. Mesmo assim, na análise multivariada, a influência do uso de OKT3 sobre o diagnóstico histológico desapareceu ao ser controlada para a idade.

O efeito da idade sobre a evolução das lesões histológicas da hepatite C no presente estudo, foi, portanto, marcado e persistente. Esse fenômeno pode ser interpretado de duas maneiras, como veremos a seguir.

Sabe-se que o sistema imunológico sofre mudanças importantes com o envelhecimento. Apesar dessas alterações serem grandemente variáveis, de modo geral existe diminuição da resposta imune a aloantígenos e aumento da resposta a antígenos autólogos, às custas de alterações funcionais dos linfócitos B, e modificações quantitativas e funcionais nas subpopulações de células T (38, 168). No presente trabalho, em concordância com o descrito por diversos autores, a ocorrência de rejeição associou-se à menor idade dos pacientes (tabela 62), o que corrobora a teoria de uma imunossupressão causada pela idade. Desse modo, os pacientes mais idosos, apesar de rejeitar menos, teriam maior suscetibilidade ao dano citopático direto causado pelo vírus C, e conseqüentemente piora das lesões histológicas da hepatite.

A outra possibilidade, não excludente da primeira, é de que a idade seja um marcador mais fidedigno do tempo de evolução da doença do que os tempos de diálise, de transplante ou “de exposição” (da forma aqui considerada). Não dispomos de elementos que comprovem ou contestem essa hipótese, já que a epidemiologia e os modos de transmissão do vírus C não são totalmente conhecidos. Fazem-se necessários estudos específicos para avaliar essa possibilidade.

Por último, deve ser salientado que os métodos de análise multivariada, de modo geral, tem poder estatístico menor do que métodos de análise bivariada simples. No presente estudo, mesmo com a seleção de apenas algumas das variáveis para entrada na regressão logística, o tamanho da amostra foi relativamente pequeno para este tipo de método. Conseqüentemente, o fato de algumas associações estatísticas

presentes na análise bivariada terem desaparecido na análise multivariada pode dever-se ao menor poder estatístico desta última, e não à inexistência de associação entre as variáveis, ou efeito de confusão entre elas. A única maneira de verificar com mais precisão o efeito real da ocorrência de rejeições e das drogas imunossupressoras (em especial a metil-prednisolona e o OKT3) sobre a evolução das lesões hepáticas, no presente estudo, seria através de um aumento no tamanho da amostra.

## 5 CONCLUSÕES

**5.1** A citologia aspirativa hepática é um método diagnóstico que, nesse estudo, apresentou boa reprodutibilidade, mas não se mostrou capaz de diagnosticar e diferenciar as lesões histológicas e seu nível de gravidade nos transplantados renais com o vírus C.

**5.2** A punção biópsia hepática com obtenção de fragmentos de tecido para estudo histológico continua sendo indispensável para o diagnóstico da gravidade e da evolução das lesões decorrentes da hepatite C nos transplantados renais.

**5.3** Tanto a punção aspirativa com agulha fina (PAH) como a punção biópsia hepática por via percutânea (PBH) mostraram-se seguras na população estudada.

**5.4** A frequência dos achados histológicos encontrados entre os transplantados renais HCV-positivos foi: lesões mínimas = 66,6%, hepatite crônica persistente = 22,2%; hepatite crônica ativa = 11,1%.

**5.5** Confirmou-se, na população e nas condições estudadas, a relação descrita na literatura entre o Escore de Knodell e o diagnóstico histológico hepático.

**5.6** As enzimas hepáticas ALT e AST e a bilirrubina total correlacionaram-se significativamente com o Escore de Knodell, mas não com o diagnóstico histológico hepático não se mostrando, portanto, um bom indicador da gravidade das lesões de

hepatite crônica nesses pacientes.

**5.7** Não houve associação estatisticamente significativa entre tempo de hemodiálise, tempo de transplante, número de transfusões de sangue, doença renal de base, ocorrência de rejeições ou uso de drogas imunossupressoras e a gravidade das lesões da hepatite crônica expressas pelo diagnóstico histológico ou pelo Escore de Knodell.

**5.8** O único fator estudado que mostrou associação constante e independente com maior gravidade no diagnóstico histológico foi a idade do paciente no momento do exame.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALBERÚ, J.; MADRIGAL-FERNANDEZ, E. et alli. Prevalence of hepatitis C virus in a group of kidney transplant patients in Mexico. *Transplant Proc* 24 (5): 1917-1918, 1992.
2. AL-DHAHRY, S.H.S. ; AGHANASHINIKAR, P.N. et alli. Antibodies to hepatitis C virus in omani patients with renal disease. *Transplant Proc* 24 (5): 1938-1939, 1992.
3. ALIVANIS, P.; DERVENIOTIS, V. et alli. Hepatitis C virus antibodies in hemodialysed and in renal transplant patients: correlation with chronic liver disease. *Transplant Proc* 23 (5): 2662-2663, 1991.
4. ALLISON, M. C.; MOWAT, A. et alli. The spectrum of chronic liver disease in renal transplant recipients. *Q J Med* 83 (301): 355-367, 1992.
5. ALTER, H. J. The hepatitis C virus and its relationship to the clinical spectrum of NANB hepatitis. *J. Gastroenterol Hepatol (Suppl 1)*: 78-94, 1990 (Resumo).
6. ALTER, H. J. Descartes before the horse: I clone, therefore I am: the hepatitis C virus in current perspective. *Ann Intern Med* 115 (8): 644-649, 1991.
7. ALTER, H. J. New Kit on the Block: Evaluation of second-generation assays for detection of antibody to the hepatitis C virus (editorial). *Hepatology* 15 (2): 350-353, 1992.
8. ALTER, M. J. Epidemiology of hepatitis C in the west. *Semin Liver Dis* 15 (1): 5-14, 1995.
9. ALVES, D. M.; SOARES, M. C. P. C. et alli. Surto de hepatite C em uma unidade de hemodiálise no estado do Pará, Brasil - resultados preliminares - XVI Congresso Brasileiro de Nefrologia - Livro de Resumo 1: 3 (Resumo).
10. ASWAD, S.; MENDEZ, R. et alli. Expanding organ availability by using hepatitis C antibody positive donors. *Transplant Proc* 25 (3): 2270-2271, 1993.
11. ASWAD, S.; OBISPO, E. et alli. HCV+ donors: should they be used for organ transplantation? *Transplant Proc* 25 (6): 3072-3074, 1993.
12. BACH, N.; THUNG, S. N.; SCHAFFNER, F. The histological feature of chronic hepatitis C and autoimmune chronic hepatitis: a comparative analysis. *Hepatology* 15 (4): 572-577, 1992.

13. BALLARDINI, G.; GROFF, P. et alli. Hepatitis C virus (HCV) genotype, tissue HCV antigens, hepatocellular expression of HLA-A,B,C, and intercellular adhesion-1 molecules. *J Clin Invest* 95: 2067-2075, 1995.
14. BANG, B. K. ; YANG, C. W. et alli. Prevalence and clinical course of hepatitis B and hepatitis C liver disease in ciclosporin-treated renal allograft recipients. *Nephron* 70 : 397-401, 1995.
15. BILGIN, N. ; SIMSEK, H. ; HABERAL, M. Prevalence of anti-HCV positivity in hemodialysis and renal transplant patients at our center. *Transplant Proc* 25 (6): 3261-3262, 1993.
16. BOHMAN, S. O.; WILCZEK H. E. et alli. Immunopathological patterns in long-term renal allografts. *Transplantation* 51 (3): 610-613, 1991.
17. BOLETIS, J.; DELLADETSIMA, J. et alli. Liver biopsy is essential in anti-HCV (+) renal transplant patients irrespective of liver function tests and serology for HCV. *Transplant Proc* 27 (1): 945-947, 1995.
18. BRACCHI, O.; ORAZI, E. et alli. Hepatitis C: reality of a renal unit. *Nephron* 61 (3): 369-370, 1992.
19. BRUNO, S.; ROSSI, S. et alli. Normal aminotransferase concentrations in patients with antibodies to hepatitis C virus. *BMJ* 308: 697, 1994.
20. BUKH, J.; WANTZIN, P. et alli. HCV viremia in anti-HCV positive dialysis patients; poor correlation of RIBA test results with the presence of HCV RNA. *Hepatology* 14 (4): 81A, 1991 (Resumo).
21. BUKH, J.; MILLER, R. H.; PURCELL, R. H. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. *Semin Liver Dis* 15 (1): 41-63, 1995.
22. CANDINAS, D.; SCHULUMPF H. I. et alli. Hepatitis C RNA prevalence in a western european donor pool and virus transmission by organ transplantation. *J Med Microbiol* 41: 220-223, 1991.
23. CECÍLIO, A.M. ; PATRÍCIO JR. , J. A. ; LUGON, J. R. Frequência de hepatite C (HCV) no CD/HUAP. *JBN* 16 (2) Supl 1, S93, 1994 (Resumo).
24. CENDOROGLO NETO, M. ; TEDESCO JR. H. S. et alli. Viral hepatitis B and HCV infection among renal transplant patients in Brazil. *Transplant Proc* 24 (6): 30877-3088, 1992.
- 25A. CENDOROGLO NETO, M. ; DALBONI, M. A. et alli. Evolução dos níveis de transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) em pacientes dialisados seguidos prospectivamente para os vírus da hepatite B (HBV) e da hepatite C (HCV). *JBN* 16 (2) Supl 1, S94, 1994 (Resumo).
- 25B. CENDOROGLO NETO, M. ; DRAIBE, S. A. et alli. Incidence of and risk factors for

- hepatitis B virus and hepatitis C virus infection among haemodialysis and CAPD patients: evidence for environmental transmission. *Nephrol Dial Transplant* 10 (2): 240-246, 1995.
26. CHAN, L.; KAM, I.; SPEES, E. K. Outcome and complications of renal transplantations. In: *Diseases of the Kidney*. 5<sup>a</sup> ed. Boston: Little Brown, 1993. Cap. 105, p. 2911-2967.
  27. CHAN, P. C. K.; LOK, A. S. F. et alli. The impact of donor and recipient hepatitis B surface antigen status on liver disease and survival in renal transplantation recipients. *Transplantation* 53 (1): 128-131, 1992.
  28. CHAN, T. M.; LOK, A. S. F.; CHENG, I. K. P. Hepatitis C in renal transplant recipients. *Transplantation* 52 (5): 810-813, 1991.
  29. CHAN, T. M.; LOK, A. S. F. et alli. A prospective study of hepatitis C virus among renal transplant recipients. *Gastroenterology* 104 (3): 862-868, 1993.
  30. CHAN, T. M.; LOK, A. S. F. et alli. Prevalence of hepatitis C virus infection in hemodialysis patients: a longitudinal study comparing the results of RNA and antibody assays. *Hepatology* 17 (1): 5-8, 1993.
  31. CHAN, T. M.; WU, P. C. et alli. Clinicopathologic features of hepatitis C virus infection in renal allograft recipients. *Transplantation* 58 (9): 996-1000, 1994.
  32. CHIZOULLERES, O.; KIM, M.; FERREL, L. et alli. Quantitative study of hepatitis C virus in live transplant recipients (abstract). *Hepatology* 16: 45A, 1992 (Resumo).
  33. CHOO, Q. L.; KUO, G. et alli. Isolation of a DNA clone derived from a blood-borne non-A, non B viral hepatitis genome. *Science* 244: 359-362, 1989.
  34. CONE, J.; HOPKIN, J.; KURTZ, J. Infectious complications after renal transplantation. In: MORRIS, P. *Kidney Transplantation, Principles and Practices*. 4<sup>a</sup> ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1994. Cap. 27, p. 364-386.
  35. CUNHA, S. M.; CINTRA, S. A. et alli. Prevalência de hepatite C em pacientes dialisados. *XVI Congresso Brasileiro de Nefrologia - Livro de Resumo* 1: 4 (Resumo).
  36. CZAJA, A. J. Chronic active hepatitis: the challenge for a new nomenclature. *Ann Intern Med* 119 (6): 510-517, 1993.
  37. CZAJA, A. J. & CARPENTER, H. A. Sensitivity, specificity, and predictability of biopsy interpretations in chronic hepatitis. *Gastroenterology* 105 (6): 1824-1832, 1993.
  38. DELAFUENTE, J. C. Immunosenescence - clinical and pharmacologic consideration. *Med Clin North Am* 69 (3): 475-486, 1985.

39. DESMET, V. J.; GERBER, M. et alli. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 19 (6): 1513-1520, 1994.
40. DRUWÉ, P. M.; MICHELSEN, P. P. et alli. Hepatitis C and nephrology. *Nephrol Dial Transplant* 9: 230-237, 1994.
41. ESTEBAN, J. I.; LOPEZ-TALAVERA, J. C. et alli. High rate of infectivity and liver disease in blood donors with antibodies to hepatitis C virus. *Ann Intern Med* 115 (6): 443-449, 1991.
42. ESTEBAN, J. I.; LOPEZ-TALAVERA, J. C. et alli. High rate of liver damage among confirmed anti-HCV positive blood donors. *Hepatology* 14 (4) Pt 2: 66A, 1991 (Resumo).
43. ESTEBAN, J. I.; GENESCA, J.; ALTER, H. J. Hepatitis C: molecular biology, pathogenesis, epidemiology, clinical features and prevention. *Progr Liver Dis* 10: 253-282, 1992.
44. FAIRLEY, C. K.; MIJCH, A. et alli. The increased risk of fatal liver disease in renal transplant patients who are hepatitis be antigen and/or HBV DNA positive. *Transplantation* 52 (3): 497-500, 1991.
45. FAN, F. S.; TZENG, C. H. et alli. Withdrawal of immunosuppressive therapy in allogeneic bone marrow transplantation reactivates chronic viral hepatitis C. *Bone Marrow Transplant* 8: 417-420, 1991.
46. FARCI, P.; ALTER, H. J. et alli. A long-term study of hepatitis C virus replication in non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med* 325 (2): 98-104, 1991.
47. FERNANDEZ; J. A. ROTH, D. et alli. Detection of antibody to hepatitis C virus in renal transplant recipients. *Transplant Proc* 23 (1): 444-445, 1991.
48. FERRELL, L. D.; WRIGHT, T. L. et alli. Hepatitis C viral infection in liver transplant recipients. *Hepatology* 16 (4): 865-876, 1992.
49. FOLLETT, E. A. C.; DOW, B. C. et alli. HCV Confirmatory testing of blood donors. *Lancet* 338: 1024, 1991.
50. FONG, T. L.; VALINLUCK, B. et alli. Effect of short-term prednisone administration on aminotransferase levels and HCV RNA in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 18: 87A, 1993 (Resumo).
51. FRANCESCHINI, N. *Citologia hepática em urêmicos portadores crônicos do vírus da hepatite B*. (Tese de mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, 1992.
52. FRANCESCHINI, N.; GONÇALVES, L. F. et alli. Liver histology in hepatitis B and C co-infection on hemodialysis patients. *Nephron* 68: 515-516, 1994.

53. FRANCESCHINI, N.; GONÇALVES, L. F. et alli. Fine needle aspirative biopsy of the liver in HBsAG-positive patients with end-stage renal failure. *Ren Fail* 16 (4): 491-499, 1994.
54. FRANCO, M. H. C. ; MIORIN, L. A. et alli. Prevalência da hepatite C em pacientes dialisados. *JBN* 16 (2) Supl 1, S95, 1994 (Resumo).
55. FRIED, M. W. & HOOFNAGLE, J. H. Therapy of hepatitis C. *Semin Liver Dis* 15 (1): 82-91, 1995.
56. GARCIA, G.; TERRAULT, N.; WRIGHT, T. L. Hepatitis C virus infection in the immunocompromised patient. *Semin Gastrointest Dis* 6 (1): 35-45, 1995.
57. GARCIA, V. D.; HOEFELMANN, N. et alli. Coordenadoria de transplantes do Rio Grande do Sul (RS): análise de seis anos de atividades. *J Bras Nefrol* 16 (3): 170-178, 1994.
58. GILLI, P.; SOFFRITTI, S. et alli. Prevention of hepatitis C virus in dialysis units. *Nephron* 70: 301-306, 1995.
59. GOFFIN, E.; PIRSON, Y. et alli. Outcome of HCV infection after renal transplantation. *Kidney Int* 45: 551-555, 1995.
60. GOLDANI, J. C.; MESSIAS, A. A. et alli. Prevalência de anticorpos contra o vírus C da hepatite (anti-HCV) em uma unidade de hemodiálise. *XVI Congresso Brasileiro de Nefrologia - Livro de Resumo* 1: 3 (Resumo).
61. GONÇALVES, L. F.; MANFRO, R. et alli. Evaluation of fine-needle aspiration biopsy in the diagnosis of acute renal transplant dysfunction. *Transplant Proc* 24 (6): 3081-3082, 1992.
62. GONÇALVES, L. F. S. *Efeito do anticorpo monoclonal anti-CD3 no infiltrado inflamatório intra-enxerto em transplantados renais*. (Tese de doutorado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, 1994.
63. GONÇALVES, M. R. T. ; GOUVEA, M. S. S. G. et alli. Prevalência do anti-HCV em uma unidade de diálise. *JBN* 16 (2) Supl 1, S96, 1994 (Resumo).
64. GONZÁLEZ-PERALTA, R. P. & LAU, J. Y. N. Pathogenesis of hepatocellular damage in chronic hepatitis C virus infection. *Semin Gastrointest Dis* 6 (1): 28-34, 1995.
65. GOODMAN, Z. D. & ISHAK, K. G. Histopathology of hepatitis C virus infection. *Semin Liver Dis* 15 (1): 70-81, 1995.
66. GRION, C. M. C.; MOCELIN, A. J. et alli. Citologia aspirativa renal com método diagnóstico de rejeição aguda no pós-operatório de transplante. *J Bras de Nefrol* 16 (2): S142, 1994 (Resumo).

67. GRUBER, A.; LUNDBERG, L. -G.; BJÖRKHOLM, M. Reactivation of chronic hepatitis C after withdrawal of immunosuppressive therapy (case report). *J Intern Med* 234: 223-225, 1993.
68. GUBERTINI, G.; SCORZA, D. et alli. Prevalence of hepatitis C virus antibodies in hemodialysis patients in the area of Milan. *Nephron* 61 (3): 271-272, 1992.
69. HAMMERER, P.; KRAMER-HANSEN, H. et alli. Aspiration cytology of liver transplants. *Transplant Proc* 20 (4): 640-641, 1988.
70. HAYRY, P. & VON WILLEBRAND, E. Practical guidelines for fine needle aspiration biopsy of human renal allografts. *Ann Clin Res* 13: 288-306, 1981.
71. HILLEBRAND, G. ; CASTRO, L. A. et alli. Chronic cyclosporine hepatotoxicity after renal transplantation. *Transplant Proc* 18 (5): 1020-1022, 1986.
72. HÖCKERSTEDT, K. & LAUTENSCHLAGER, I. Fine Needle aspiration biopsy in liver transplants. *Transplant Proc* 21 (4): 3625-3626, 1989.
73. HORINA, J. H.; WIRNSBERGER, G. H. et alli. Increased susceptibility for CsA-induced hepatotoxicity in kidney graft recipients with chronic viral hepatitis C. *Transplantation* 56 (5): 1091-1094, 1993.
74. HRICIK, D. E.; ALMAWI, W. Y.; STROM, T. B. Trends in the use of glucocorticoids in renal transplantation (overview). *Transplantation* 57 (7): 979-989, 1994.
75. HSEIN-HONG, L.; CHIU-CHING, H. et alli. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in the hemodialysis unit. *Am J Nephrol* 11: 192-194, 1991.
76. HUANG, C.; LIAW, Y. et alli. The clinical outcome of hepatitis C virus antibody-positive renal allograft recipients. *Transplantation* 53 (4): 763-765, 1992.
77. HUANG, C. C.; LAI, M. K. et alli. Transmission of hepatitis C virus by renal transplantation. *Transplant Proc* 25 (1): 1474-1475, 1993.
78. HYRAILLES, I. V.; LARREY D. et alli. Evidences for the existence of healthy carriers of hepatitis C virus correlation with HCV genotype I. *Gastroenterology* 106: A907, 1994 (Resumo).
79. INTERNATIONAL GROUP. Acute and chronic hepatitis revisited. *Lancet*. 914-919, 1977.
80. ISHAK, K. G. Chronic hepatitis: morphology and nomenclature. *Mod Pathol* 7 (6): 690-713, 1994.
81. JEFFERS, L. J.; PEREZ, G. O. et alli. Hepatitis C infection in two urban hemodialysis units. *Kidney Int* 38: 320-322, 1990.

82. JORGE, M. R. O diagnóstico do alcoolismo: entrevistas estruturadas, questionários e exames de laboratório. In: PAULA RAMOS, S. (Org.) *Alcoolismo Hoje*. Porto Alegre: Artes Médicas, 1987, Cap. 5, p. 50-59.
83. KALLINOWSKI, B.; THEILMANN, L. et alli. Prevalence of antibodies to hepatitis C Virus in Hemodialysis Patients. *Nephron* 59: 236-238, 1991.
84. KAROHL, C.; MANFRO, R. C. et alli. Prevalência de anticorpos anti-vírus da hepatite C em pacientes em hemodiálise crônica de Porto Alegre. *J Bras Nefrol* 17 (1): 40-46, 1995.
85. KAZI, S.; PRASAD, S. et alli. Hepatitis C infection in potential recipients with normal liver biochemistry does not preclude renal transplantation. *Dig Dis Sci* 39 (5): 961-964, 1994.
86. KIBERD, B. A. Should hepatitis C-infected kidneys be transplanted in the United States? *Transplantation* 57 (7): 1068-1072, 1994.
87. KLAUSER, R.; FRANZ, M. et alli. Hepatitis C antibody in renal transplant patients. *Transplant Proc* 24 (1): 286-288, 1992.
88. KNODELL, R. G.; ISHAK, K. G. et alli. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1 (5): 431-435, 1981.
89. KUBO, M.; FUJIMOTO, N. et alli. Prevalence and clinical significance of hepatitis C in kidney transplantation. *Transplant Proc* 26 (4): 2121-2122, 1994.
90. KUO, G.; CHOO, Q. L. et alli. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non B hepatitis. *Science* 244: 362-364, 1989.
91. LAU, J. Y. N.; DAVIS, G. L. et alli. Hepatitis C virus infection in kidney transplant recipients. *Hepatology* 18: 1027-1031, 1993.
92. LAUTENSCHLAGER, I.; HÖCKERSTEDT, K. et alli. Fine-needle aspiration biopsy in the monitoring of liver allografts. *Transplantation* 46 (1): 41-46, 1988.
93. LAUTENSCHLAGER, I. Fine needle aspiration biopsy in liver transplants. *Transplant Proc* 21 (4): 3618-3620, 1989.
94. LAUTENSCHLAGER, I.; NASHAN, B. et alli. Different cellular patterns associated with hepatitis C virus reactivation, cytomegalovirus infection, and acute rejection in liver transplant patients monitored with transplant aspiration cytology. *Transplantation* 58 (12): 1339-1345, 1994.
95. LUDWIG, J. et alli. Terminology of chronic hepatitis, hepatitis allograft rejection, and nodular lesions of the liver: summary of recommendations developed by an

international working party, supported by the world congresses of gastroenterology, Los Angeles, 1994. *Am J Gastroenterol* 89 (89): S177-S181, 1994 (Resumo).

96. MACCARIELLO, E. R. ; MENDES, L. H. M. et alli. Prevalência de infecção pelo vírus C da hepatite em hemodiálise. *JBN* 16 (2) Supl 1, S184, 1994 (Resumo).
97. MAHONY, J. F. Long term results and complications of transplantation: the kidney. *Transplant Proc* 21 (1): 1433-1434, 1989.
98. MANFRO, R. C.; GONÇALVES, L. F. Mecanismos de ação das drogas imunossupressoras em transplante de órgãos. *Rev Ass Med Brasil* 38 (2): 111-116, 1992.
99. MANFRO, R. C. *Punção aspirativa no diagnóstico da rejeição aguda em transplantes renais: reprodutibilidade e expressão de HLA-DR e ICAM-1.* (Tese de doutorado). Escola Paulista de Medicina. São Paulo, SP, 1994.
100. MANFRO, R. C.; KAROHL, C. et alli. Liver function tests in hepatitis C virus infected kidney transplant recipients. *Transplant Proc* 27 (2): 1821-1822, 1995.
101. MARCEN, R. ; PASCUAL, J. et alli. Hepatitis C virus infection in kidney transplant patients. *Transplant Proc* 24 (1): 87-88, 1992.
102. MARCEN, R.; GAMEZ, C. et alli. Hepatitis C antibody after kidney transplantation: clinical significance. *Am J Nephrol* 13: 184-189, 1993.
103. MASUR, J. & MONTEIRO, M. G. Validation of the CAGE alcoholism screening test in a brazilian psychiatric inpatient hospital setting. *Braz J Med Biol Res*, 16: 215-218, 1983.
104. McDONNELL, W. M. & LUCEY, M. R. Hepatitis C virus transmission during organ transplantation (hepatology elsewhere). *Hepatology* 17 (1): 162-164, 1993.
105. McFARLANE, I. G. ; SMITH, H. M. et alli. Hepatitis C virus antibodies in chronic active hepatitis: pathogenetic factor or false-positive result? *Lancet* 335, 754-757, 1990.
106. McHUTCHISON, J. G.; CHUNG, R. T. et alli. Loss of serologic markers and viral RNA does not reliably predict eradication of chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 14 (4): 79A, 1991.
107. McHUTCHISON, J. G.; PERSON, J. L. et alli. Improved detection of hepatitis C virus antibodies in high-risk populations. *Hepatology* 15 (1): 19-25, 1992.
108. McHUTCHINSON, J. G.; WILKES, L. B. et alli. Pulse corticosteroid therapy

- increases viremia (HCV RNA) in patients with chronic HCV infection. *Hepatology* 18: 87A, 1993 (Resumo).
109. MEDINA, M. de & SCHIFF, E. R. Hepatitis C: diagnostic assays. *Semin Liver Dis* 15 (1): 33-40, 1995.
  110. MENDEZ, R.; ASWAD, S. et alli. Donor hepatitis C antibody virus testing in renal transplantation. *Transplant Proc* 25 (1): 1487-1490, 1993.
  111. MITWALLI, A.; AL-MOHAYA, S. et alli. Hepatitis C in chronic renal failure patients. *Am J Nephrol* 12: 288-291, 1992.
  112. MORALES, J. M.; CAMPO C. et alli. Clinical implications of the presence of antibodies to hepatitis C after renal transplantation. *Transplant Proc* 24 (1): 78-80, 1992.
  113. MORALES, J. M.; MUNOZ, M. A. et alli. Impact of hepatitis C in long-functioning renal transplants: a clinicopathological follow-up. *Transplant Proc* 25 (1): 1450-1453, 1993.
  114. MORALES, J. M.; CAMPISTOL, J. M. et alli. Transplantation of kidneys from donors with hepatitis C antibody into recipients with pre-transplantation anti-HCV. *Kidney Int* 47: 236-240, 1995.
  115. MORRIS, P. J. Cyclosporine. In: \_\_\_\_\_. *Kidney Transplantation: Principles and Practice*. 4<sup>a</sup> ed. Philadelphia: W. B. Saunders, Philadelphia, 1994. Cap. 13, p. 179-201.
  116. MORRIS, P. J. Results of renal transplantation. In: \_\_\_\_\_. *Kidney Transplantation: Principles and Practice*, 4<sup>a</sup> ed. W. B. Saunders, Philadelphia, 1994. Cap 33, p. 504-523.
  117. NAGHETTINI, A. V. ; DAHER, R. R. et alli. Prevalência do anti-HCV em unidades de diálise de Goiânia. *JBN* 16 (2) Supl 1, S186, 1994 (Resumo).
  118. NAITO, M. ; HAYASHI, N. et alli. Serum hepatitis C virus RNA quantity and histological features of hepatitis C virus carriers with persistently normal ALT levels. *Hepatology* 19 (4): 871-875, 1994.
  119. NASHAN, B.; SCHLITT, H. J. et alli. Patterns of immune activation during the first four weeks in liver transplant patients. *Transplant Proc* 21 (4): 3623-3624, 1989.
  120. NOGUEIRA PAES, F. J. V. ; RAMON FILHO, R. et alli. Prevalência de hepatite C em pacientes submetidos a tratamento dialítico. *JBN* 16 (2) Supl 1, S183, 1994 (Resumo).

121. OLIVERAS, A. ; LLOVERAS, J. et alli. Hepatitis C virus in renal transplantation. *Transplant Proc* 23 (5): 2636-2637, 1991.
122. OTERO, J.; RODRIGUEZ, M. et alli. Kidney transplants with positive anti-hepatitis C virus donors. *Transplantation* 50 (6): 1086-1087, 1990.
123. PEREIRA, B. J. G.; MILFORD, E. L. et alli. Transmission of hepatitis C virus by organ transplantation. *N Engl J Med* 325 (7): 454-60, 1991.
124. PEREIRA, B. J. G.; MILFORD, E. L. et alli. Prevalence of hepatitis C virus RNA in organ donors positive for hepatitis C antibody and in the recipients of their organs. *N Engl J Med* 327 (13): 910-915, 1992.
125. PEREIRA, B. J. G.; MILFORD, R. L. et alli. Liver disease and HCV infection after transplantation of organs from hepatitis C antibody positive donors. *Transplant Proc* 25 (1): 1458-1459, 1993.
126. PINTO, L. V.; ARAÚJO, M. A. F. et alli. Mercadores virais da hepatite e hemodiálise. *XVI Congresso Brasileiro de Nefrologia - Livro de Resumo 1: 3* (Resumo).
127. POL, S.; LEGENDRE, C. et alli. Hepatitis C virus in kidney recipients: epidemiology and impact on renal transplantation. *J Hepatol* 15: 202-206, 1992.
128. POL, S. Hepatitis C virus infection in hemodialyzed patients and kidney allograft recipients. *Adv Nephrol* 24: 315-330, 1995.
129. POL, S. ; THIERS, V. et alli. The changing relative prevalence of hepatitis C virus genotypes: evidence in hemodialyzed patients and kidney recipients. *Gastroenterology* 108 (2): 581-583, 1995.
130. POTERUCHA, J. J.; RAKELA, J. et alli. Diagnosis of chronic hepatitis C after liver transplantation by the detection of viral sequences with polymerase chain reaction. *Hepatology* 15 (1): 42-45, 1992.
131. POWELSON, J. A. & COSIMI, A. B. Antilymphocyte globulin and monoclonal antibodies. In: MORRIS, P. *Kidney Transplantation, Principles and Practices*. 4<sup>a</sup> ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1994. Cap. 15, p. 215-232.
132. PRADOS, M. C.; FRANCO, A. et alli. Transmission of hepatitis C virus by kidney transplantation. *Transplant Proc* 24 (6): 2650-2651, 1992.
133. QUER, J.; LOPEZ-TALAVERA, J. C. et alli. Serum HCV-RNA in anti-HCV reactive donors according to RIBA-2, liver histology and infectivity. *J. Hepatol* 13 (Supl. 2): 62, 1991.
134. RANJAN, D.; BURKE, G. et alli. Factors affecting the ten-year outcome of human renal allografts. *Transplantation* 51 (1): 113-117, 1991.

135. RAO, K. V. & ANDERSON, W. R. The morphology and natural history of chronic liver disease in renal transplant recipients. *Transplant Proc* 24 (1): 165-167, 1985.
136. RAO, K. V.; ANDERSON, W. R. et alli. Value of liver biopsy in the evaluation and management of chronic disease in renal transplant recipients. *Am J Med* 94: 241-250, 1993.
137. RAO, K. V.; KASISKE, B. L.; ANDERSON, W. R. Variability in the morphological spectrum and clinical outcome of chronic liver disease in hepatitis B-positive and B-negative renal transplant recipients. *Transplantation* 51 (2): 391-396, 1991.
138. REBELLO, C. P. & LIMA, J. E. P. Biópsia hepática: seleção e preparo do paciente adulto, técnicas, complicações. *Rev Médica Sta Casa* 4 (8): 823-825, 1993.
139. REINHOLT, F. P.; BOHMAN, S. et alli. Fine-needle aspiration cytology and conventional histology in 200 renal allografts. *Transplantation* 49 (4): 910-912, 1990.
140. ROTH, D.; FERNANDEZ, J. A. et alli. Detection of antibody to hepatitis C virus in renal transplant recipients. *Transplantation* 51 (2): 396-400, 1991.
141. ROTH, D.; FERNANDEZ, J. A. et alli. Detection of hepatitis C virus infection among cadaver organ donors: evidence for low transmission of disease. *Ann Intern Med* 117 (6): 470-475, 1992.
142. ROTH, D.; FERNANDEZ, J. A. et alli. Transmission of hepatitis C virus with solid organ transplantation: incidence and clinical significance. *Transplant Proc* 25 (1): 1476-1477, 1993.
143. ROTH, D.; ZUCKER, K. et alli. The impact of hepatitis C virus infection on renal allograft recipients. *Kidney Int* 45: 238-244, 1994.
144. SANCHEZ-TAPIAS, J. M.; BARRERA, J. M. et alli. Hepatitis C virus infection in patients with nonalcoholic chronic liver disease. *Ann Intern Med* 112 (12): 921-924, 1990.
145. SANTANA, G. ; COTRIM, H. et alli. Hepatite C em pacientes de hemodiálise crônica. *JBN* 16 (2) Supl 1, S97, 1994 (Resumo).
146. SCHEUER, P. J. Chronic Hepatitis. In: \_\_\_\_\_. *Liver Biopsy Interpretation*. 4 ed., London: Balliere Tindall, 1988. Cap. 9, p. 113-130.
147. SCHEUER, P. J.; ASHRAFZADEH, P. SHERLOCK, S. et alli. The pathology of hepatitis C. *Hepatology* 15 (4): 567-571, 1992.
148. SCHLITT, H. J.; NASHAN, B. et alli. Clinical usefulness of a semiquantitative scoring system for liver transplant aspiration cytology. *Transplant Proc* 21 (4):

3621-3622, 1989.

149. SEEFF, L. B. Hepatitis C: foreword. *Semin Liver Dis* 15 (1): 1-4, 1995.
150. SEEFF, L. B. Natural history of viral hepatitis, type C. *Semin Gastrointest Dis* 6 (1): 20-27, 1995.
151. SHERLOCK, S. *Doenças do fígado e do sistema biliar*. 7ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1988. Cap. 3, p. 26-34 e Cap 17, p. 280-308.
152. SHERLOCK, S. & DOOLEY, J. *Diseases of the liver and biliary system*. 9ª ed. Blackwell Scientific Publications, 1993. Oxford. Cap. 16, p. 260-292.
153. SHERLOCK, S. & DOOLEY, J. *Diseases of the liver and biliary system*. 9ª ed. Blackwell Scientific Publications, 1993. Oxford. Cap. 17, p. 293-321.
154. SIMON, N.; COUROUCÉ, A. M. et alli. A twelve year natural history of hepatitis C virus infection in hemodialyzed patients. *Kidney Int* 46: 504-511, 1994.
- 154B. SMITH, E. H. Complications of percutaneous abdominal fine-needle biopsy. *Radiology* 178 (1): 253-258, 1991.
155. STARZL, T. E. Cell migration and chimerism - a unifying concept in transplantation - with particular reference to HLA matching and tolerance induction. *Transplant Proc* 25 (1): 8-12, 1993.
156. STEMPEL, C. A.; LAKE, J. et alli. Hepatitis C - its prevalence in end-stage renal failure patients and clinical course after kidney transplantation. *Transplantation* 55 (2): 273-276, 1993.
157. TAKAHASHI, C. O Problema da hepatite C e a sua prevenção. *Rio-Rim News* 1 (2), 1995.
158. TERRAULT, N. A. & WRIGHT, T. L. Hepatitis C virus in the setting of transplantation. *Seminars in Liver Disease* 15 (1): 92-100, 1995.
159. TESI, R. J.; WALLER, K. et alli. Transmission of hepatitis C by kidney transplantation - the risks. *Transplantation* 57 (6): 826-831, 1994.
160. THE AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION DEPARTMENT OF SUBSTANCE ABUSE. The busy physician's five-minute guide to the management of alcohol problems. Kinney, J. (editor), 1989.
161. TOMIKAWA, S.; UCHIDA, H. et alli. Clinical implications of the presence of hepatitis C virus antibodies after kidney transplantation: results of a study using second-generation assays for anti-HCV. *Transplant Proc* 26 (4): 2023-2025, 1994.
162. TRIOLO, G.; SQUICCIMARRO, G. et alli. Antibodies to hepatitis C virus in kidney

- transplantation. *Nephron* 61: 276-277, 1992.
163. VAN DER POEL, C. L.; CUYPERS, H. T. M. confirmation of hepatitis C virus infection by new four-antigen recombinant immunoblot assay. *Lancet* 337: 317-319, 1991.
  164. VASCONCELLOS, M. R. ; CERSKI, C.T. Z. et alli. Chronic hepatitis and cirrhosis in assymptomatic blood donors with positive antibodies against hepatitis C virus in Brazil. *Hepatology* 19 (4): 1361, 1994 (Resumo).
  165. VINCENTI, F.; LAKE, J. et alli. Nontransmission of hepatitis C from cadaver kidney donors to transplant recipients. *Transplantation* 55 (3): 674-675, 1993.
  166. WEINER, A. J.; KUO, G. Detection of hepatitis C viral sequences in non-A, non-B hepatitis. *Lancet* 335: 1-3, 1990.
  167. WEIR, M. R.; KIRMAN, R. L.; STROM, T. B. The long-term effects of hepatitis B virus in renal transplant recipients: analysis of morbidity and mortality. *Transplant Proc* 17 (1): 163-164, 1993.
  168. WEKSLER, M. E. Senescence of the immune system. *Med Clin North Am* 67 (2): 263-272, 1983.
  169. WILBER, J. C. & POLITO, A. Serological and virological diagnostic tests for hepatitis C virus infection. *Semin Gastrointest Dis* 6 (1): 13-19, 1995.
  170. WINEARLS, C. G. & GRAY, D. Chronical renal failure - renal replacement therapy. In: MORRIS, P. *Kidney Transplantation, Principles and Practices*. 4<sup>a</sup> ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1994. Cap. 3, p. 26-42.
  171. WREGHITT, T. G.; GRAY, J. J. et alli. Transmission of hepatitis C virus by organ transplantation in the United Kingdom. *J Hepatol* 20: 768-772, 1994.
  172. YNARES, C.; JOHNSON, H. K. et alli. Impact of pretransplant hepatitis C antibody status upon long-term patient and renal allograft survival - a 5- and 10-year follow-up. *Transplant Proc* 25 (1): 1466-1468, 1993.
  173. ZANNIER, A.; MUTIN, M.; TRAEGER, J. Fine-needle aspiration biopsy in the follow-up of renal allografts during the first month posttransplantation. *Transplant Proc* 18 (5): 1036-1037, 1986.
  174. ZANNIER, A.; PUJOL, B. BERGER, F.; PALIARD, P. Characterization of cellular infiltrate and HLA-DR expression patterns using fine-needle aspiration cytology. *Transplant Proc* 20 (4): 652-653, 1988.
  175. ZANOTELLI, M. L. *Estudo da prevalência do anti-VHC nos pacientes transplantados renais e seus respectivos doadores*. (Tese de mestrado).

Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, 1994.

176. ZEIN, N. N. & RAKELA, J. Interferon therapy in hepatitis C. *Semin Gastrointest Dis* 6 (1): 46-53, 1995.

## ANEXOS

ANEXO I

HCPA - CITOLOGIA HEPÁTICA EM TRANSPLANTADOS RENAIIS COM  
 INFECÇÃO CRÔNICA PELO VÍRUS DA HEPATITE C  
 FICHA DE PACIENTE

- 1) N° no estudo: \_\_\_\_\_ 2) N° registro: \_\_\_\_\_  
 3) Nome: \_\_\_\_\_  
 4) Idade: \_\_\_\_\_ 5) D.nasc.: \_\_\_\_\_ 6) Sexo: \_\_\_\_\_  
 7) Doença básica: (1)D.mélito (2)HAS  
 (3)GNF  
 (4)R.policístico (5)Obstrutiva  
 (6)PNC  
 (7)Refluxo (8)Outra  
 (9)Indet.  
 8) Tempo de HD \_\_\_\_ (meses) 9) Tempo de CAPD \_\_\_\_ (meses)  
 10) Transfusões: sim não não sabe  
 11) N° transfusões \_\_\_\_ 12) Última transf. há \_\_\_\_ (meses)  
 13) N° TX renais: DVR \_\_\_\_ DC \_\_\_\_ Total \_\_\_\_  
 14) Tempo TX atual: \_\_\_\_\_ (meses até a PBH/PAH)  
 15) No de rejeições: \_\_\_\_\_  
 16) IMUNOSSUPRESSÃO:  

Droga:	nunca	passado	atual	meses de uso
Prednisona	( )	( )	( )	_____
Azatioprina	( )	( )	( )	_____
Ciclosporina	( )	( )	( )	_____
Ciclofosfamida	( )	( )	( )	_____
Metil-prednisolona	( )	( )	n° de pulsos	_____
OKT3	( )	( )	n° de pulsos	_____

  
 17) Outras drogas:

	nunca	passado	atual	meses de uso
Metil-Dopa	( )	( )	( )	_____
Cetoconazol	( )	( )	( )	_____
Isoniazida	( )	( )	( )	_____
Acetaminofen	( )	( )	( )	_____

- 18) Alcoolismo: relatado pelo paciente Sim\_\_\_\_\_ Não\_\_\_\_\_
- relatado pela família Sim\_\_\_\_\_ Não\_\_\_\_\_
- referido no prontuário Sim\_\_\_\_\_ Não\_\_\_\_\_
- CAGE: C - Já pensou em parar de beber?\_\_\_\_\_
- A - Se aborrece quando criticado?\_\_\_\_\_
- G - Sentiu-se culpado por beber?\_\_\_\_\_
- E - Bebe ao acordar?\_\_\_\_\_
- 19) Data do HCV+ | 1º \_\_\_\_\_ método:\_\_\_\_\_
- 2º \_\_\_\_\_ método:\_\_\_\_\_
- 20) HBsAg: positivo ( ) negativo ( )
- 21) HIV: positivo ( ) negativo ( )
- 22) CMV: positivo IgG( ) título\_\_\_\_\_; IgM( ) título\_\_\_\_\_  
negativo ( )
- 23) Hematóc: \_\_\_\_\_ Hemoglob: \_\_\_\_\_ Leucóc: \_\_\_\_\_
- Plaq: \_\_\_\_\_ TC: \_\_\_\_\_ TP: \_\_\_\_\_ KTTTP: \_\_\_\_\_
- 24) ALT: \_\_\_\_\_ AST: \_\_\_\_\_ Gama-GT: \_\_\_\_\_
- Bib.Tot.: \_\_\_\_\_ Dir: \_\_\_\_\_ Ind: \_\_\_\_\_ F.Alc: \_\_\_\_\_
- 25) ECOGRAFIA: \_\_\_\_\_
- \_\_\_\_\_
- 26) Data dos procedimentos: PAH/PBH: \_\_\_\_\_



**ANEXO III**

HCPA - CITOLOGIA HEPÁTICA EM TRANSPLANTADOS RENAIIS COM  
 INFECÇÃO CRÔNICA PELO VÍRUS DA HEPATITE C  
 CITOLOGIA / INTERPRETAÇÃO DA PAH

- 1) N° no estudo:\_\_\_\_\_ 2) N° registro:\_\_\_\_\_
- 3) Nome:\_\_\_\_\_
- 4) N° do exame de Citologia:\_\_\_\_\_

**RESULTADO:**

Células (x100)	PAH	SANGUE	INC	FC	INCcor
Linfoblastos:				1,0	
Plasmablastos:				1,0	
Linfócitos Ativados:				0,5	
Linfóc. Gran. Grandes:				0,2	
Linfócitos - outros:				0,1	
PMN Formas Jovens:					
Neutrófilos:					
Basófilos:					
Eosinófilos:					
Monoblastos:				1,0	
Monócitos:				0,2	
Macrófagos:				1,0	
Outros:					
INCREMENTO TOTAL CORRIGIDO:					

Número de Hepatócitos:\_\_\_\_\_ EM:\_\_\_\_\_ EC:\_\_\_\_\_

ESCORE MORFOLÓGICO (EM): 0 = sem alteração; 1 = edema; 2 = edema+vacuolizaç|o; 3 = edema+vac.+inclus\_es; 4 = necrose:  
 ESCORE DE COLESTASE (EC): 0 = sem colestase; 1 = mínima; 2 = leve; 3 = severa; 4 = maciça; i = intracelular; e = extracelular

COMENTÁRIOS:\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**ANEXO IV**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
CURSO DE PÓS GRADUAÇÃO EM MEDICINA/NEFROLOGIA  
HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE

PESQUISA/DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

CITOLOGIA HEPÁTICA EM TRANSPLANTADOS RENAIIS COM INFECÇÃO  
CRÔNICA PELO VÍRUS DA HEPATITE C

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

**1. Justificativa:**

A hepatite do tipo C foi descoberta há pouco tempo, em 1989, e é muito freqüente em pessoas que fazem hemodiálise e em transplantados renais.

A hepatite C pode levar a doença crônica e à cirrose do fígado. Por isto, os transplantados renais com hepatite C precisam ser acompanhados para se saber como a doença está evoluindo, identificar as complicações que podem surgir, e a necessidade de alguma modificação no tratamento.

Até agora, o método utilizado para avaliar com certeza o estado do fígado destes pacientes tem sido a biópsia hepática, mas a biópsia é um procedimento de alguma dificuldade e com alguns riscos, o que limita a sua utilização.

O objetivo desta pesquisa é avaliar a possibilidade de utilizar a citologia hepática por punção com agulha fina para avaliar os transplantados com hepatite C. A punção com agulha fina é um procedimento muito mais simples e seguro (a maioria dos transplantados renais já fez repetidas punções do rim enxertado nos primeiros dias após o transplante) e, se for comprovado que nos dá as mesmas informações que a biópsia, poderá ser usada como rotina, facilitando muito o acompanhamento dos pacientes.

**2. Procedimentos:**

Os pacientes serão submetidos, no mesmo dia, a biópsia e a punção hepática com agulha fina. Antes dos procedimentos, os pacientes serão avaliados quanto às condições de coagulação, e realizarão ecografia do fígado para marcar com segurança o local mais apropriado para a biópsia. A biópsia será realizada com anestesia local. A punção com agulha fina pode ser feita sem anestesia, pois é praticamente indolor. Após a biópsia, o paciente permanecerá por algumas horas em observação, mas não necessitará permanecer hospitalizado.

### 3.Desconforto e Riscos:

A biópsia hepática traz alguma dor, mesmo sendo realizada com anestesia local. Seus principais perigos são: hemorragia, hematoma e infecção. Como em qualquer procedimento, existe uma pequena possibilidade de algum problema mais grave e até de morte (0,015%). Para diminuir estes riscos são tomadas todas as precauções, especialmente a marcação do local da biópsia pela ecografia, e a manutenção de um período de observação após o procedimento. A punção com agulha fina, afora a dor comparável a de uma injeção não apresenta maiores riscos. Na nossa experiência e na de outros hospitais em outros países, nunca houve nenhum acidente grave com o uso da punção com agulha fina.

### 4.Benefícios:

Para os pacientes que participarem da pesquisa, o maior benefício será o de saber o nível de gravidade da sua hepatite C, de modo a ter um prognóstico mais claro e, eventualmente, possibilitar alguma mudança no tratamento. Caso se comprove os bons resultados da citologia, futuros pacientes não necessitarão ser biopsiados, realizando somente a punção aspirava.

### 5.Alternativas:

Nenhum paciente está obrigado a participar da pesquisa.

Os pacientes que não aceitarem ou que por algum motivo tiverem que ser excluídos do estudo continuarão sendo atendidos normalmente em nosso serviço. A alguns destes pacientes poderá vir a ser solicitada a realização de biópsia hepática independente da participação na pesquisa.

### 6.Responsável:

O pesquisador responsável por esta pesquisa é o Dr. Marcelo Generali da Costa, tendo este projeto sido aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre em 03/11/1994.

CONSENTIMENTO

Pelo presente Consentimento Pós-Informação, declaro que fui informado, de forma clara e detalhada, dos objetivos, da justificativa dos procedimentos a que serei submetido, dos riscos, desconfortos e benefícios da presente pesquisa, assim como dos procedimentos alternativos aos quais poderia ser submetido, conforme exposto acima.

fui, igualmente informado:

- da garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa;
- da liberdade de retirar meu consentimento, a qualquer momento, e deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuação do meu cuidado e tratamento;
- da segurança de que não serei identificado e que se manterá o caráter confidencial das informações relacionadas com a minha privacidade;
- do compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar minha vontade de continuar participando;
- da disponibilidade de tratamento médico caso existam complicações causados por esta pesquisa;
- de que não terei despesas por participar do estudo, e de que se existirem gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

Porto Alegre, \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

---

Nome e assinatura do paciente

---

Assinatura do pesquisador responsável