

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO: CIÊNCIAS EM GASTROENTEROLOGIA
MESTRADO**

DÉCIO PASSOS SAMPAIO PÉRES

**GRAU DE RESISTÊNCIA À INSULINA EM PACIENTES COM HEPATITE
CRÔNICA C, INFECTADOS PELO GENÓTIPO 1 VERSUS GENÓTIPO 3**

Porto Alegre

2006

DÉCIO PASSOS SAMPAIO PÉRES

**GRAU DE RESISTÊNCIA À INSULINA EM PACIENTES COM HEPATITE
CRÔNICA C, INFECTADOS PELO GENÓTIPO 1 VERSUS GENÓTIPO 3**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências em Gastroenterologia, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Hugo Cheinquer

Porto Alegre

2006

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO: CIÊNCIAS EM GASTROENTEROLOGIA
MESTRADO**

DÉCIO PASSOS SAMPAIO PÉRES

**GRAU DE RESISTÊNCIA À INSULINA EM PACIENTES COM HEPATITE
CRÔNICA C, INFECTADOS PELO GENÓTIPO 1 VERSUS GENÓTIPO 3**

Porto Alegre

2006

DÉCIO PASSOS SAMPAIO PÉRES

**GRAU DE RESISTÊNCIA À INSULINA EM PACIENTES COM HEPATITE
CRÔNICA C, INFECTADOS PELO GENÓTIPO 1 VERSUS GENÓTIPO 3**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências em Gastroenterologia, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Hugo Cheinquer

Porto Alegre

2006

DÉCIO PASSOS SAMPAIO PÉRES

**GRAU DE RESISTÊNCIA À INSULINA EM PACIENTES COM HEPATITE
CRÔNICA C, INFECTADOS PELO GENÓTIPO 1 VERSUS GENÓTIPO 3**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências em Gastroenterologia, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre e submetida à avaliação da Banca Examinadora em:

22 de dezembro de 2006

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Hugo Cheinquer
Orientador

Prof. Dr. Júlio Pereira Lima

Prof. Dra. Sirlei Ditrich

Prof. Dr. Renato Fagundes

Porto Alegre

2006

Dedicatória

Doutor Hugo Cheinquer!

Ao contrário da minha tese sobre "Genótipos Resistentes", não poderia ficar imune às iluminadas injeções de sua dedicação e conhecimento, sem as quais, ficaria contaminado por um genes de febril ostracismo. Declaro também que até os "Efeitos Colaterais de ternura, profissionalismo e exemplar conduta" muito contribuíram para o preciso exercício de um médico do interior.

*Um grande abraço e muito obrigado.
Décio Passos Sampaio Peres*

AGRADECIMENTOS

Primeiro, a Deus que, pela sua imensa bondade e sabedoria, proporcionou-me caminhar por este belo caminho do conhecimento.

À minha esposa Cristina e minhas filhas Luciana e Larissa, pela compreensão dos meus longos períodos de afastamento de seus convívios.

Ao meu amigo, colega e, hoje, Mestre, Dr. Nelson Cheinquer, pela sua amizade e desprendimentos durante estes três anos de trabalho conjunto.

Ao Professor Doutor Sérgio Barros, pela acolhida junto a este tão seletivo grupo de Mestres e Doutores da equipe da Gastroenterologia da UFRGS.

Ao Professor Thadeu Cerski, pela ajuda incansável nas análises de nosso material.

Ao aluno da graduação Maicon Falavigna, pela sua dedicação e amizade durante todo o desenvolvimento do nosso trabalho.

À funcionária do nosso PPG, Moema, pela ajuda incansável e o carinho na lida com nossos problemas administrativos e funcionais.

A todos os funcionários do ambulatório de Hepatites do Hospital de Clínicas da UFRGS, pela ajuda, paciência e amizade.

Finalmente, ao meu Orientador, Professor Doutor Hugo Cheinquer, pela paciência, carinho, amizade e, acima de tudo, pela incessante ajuda na construção dos meus conhecimentos. Sem sua mão de Mestre e amigo, este trabalho não seria possível. Meus sinceros agradecimentos, Prof. Hugo!

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi verificar o grau de resistência insulínica (RI) em pacientes infectados com o vírus da hepatite C (VHC) genótipo 1 versus genótipo 3.

Foi incluído um total de 44 pacientes com hepatite crônica C, sendo 23 pacientes infectados com genótipo 1 e 21 pacientes infectados com genótipo 3. Nenhum paciente incluído tinha fatores de risco para Síndrome Metabólica e não foram submetidos a tratamento antiviral prévio. Trinta pacientes eram homens (68%). A média de idade em anos na amostra global foi de $47,5 \pm 9,1$. Quanto ao genótipo do VHC, 23 pacientes (52%) tinham genótipo 1 e 21 (48%) genótipo 3.

O grau de esteatose hepática (EH) entre 5% e 66% foi encontrado em 35 dos 44 pacientes. Não houve diferença significativa entre os genótipos 1 e 3 do VHC. Quanto aos níveis de colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL e as transaminases, não houve diferenças significativas entre os genótipos em estudo. A média do Índice de Massa Corporal (IMC) na amostra global foi de $25 \pm 1,8$. A prevalência de resistência insulínica, medida pelo teste de HOMA (Modelo de avaliação de homeostase), foi verificada em 27 pacientes (61%). A média do HOMA entre os genótipos não atingiu diferença significativa.

Fibrose moderada e severa foi encontrada em 14 (38%) dos 37 pacientes com esteatose hepática e em apenas 2 (27%) dos 7 sem esteatose hepática. A correlação entre resistência insulínica e fibrose hepática na população estudada foi estatisticamente significativa ($P < 0,001$).

Na análise de nossos dados, portanto, encontramos Resistência Insulínica em 61% dos 44 pacientes com hepatite crônica C sem fatores de risco para Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (DHGNA). O grau de RI em pacientes, infectados com genótipo 1 versus genótipo 3 do VHC não foi estatisticamente diferente, tanto no que diz respeito à prevalência (65% versus 57%, respectivamente) quanto à magnitude (2,6 versus 2,8, respectivamente). Quanto à relação entre RI e EH nesses

pacientes, verificou-se correlação positiva, havendo RI em 68% dos pacientes com EH versus 29% dos sem EH, sem atingir, no entanto, diferença estatisticamente significativa. Ao analisar a relação entre RI e fibrose hepática, houve diferença estatisticamente significativa em nossa casuística, sendo encontrada maior prevalência de fibrose intensa (F2 e F3 na classificação Metavir) nos 27 pacientes com RI em comparação com os 17 pacientes sem RI (56% versus 6%, respectivamente; $P < 0,01$).

Palavras-chave: Esteatose hepática. Hepatite C. Resistência à insulina.

ABSTRACT

The main goal of this research was to verify the insulin resistance (IR) in patients infected with HCV genotype 1 versus genotype 3.

A total of 44 patients with chronic hepatitis C were included in the study, 23 patients infected with genotype 1 and 21 patients infected with genotype 3. None of the patients had any risk for the Metabolic Syndrome and had not been submitted to any antiviral therapy before. 30 patients were males (68%). The age average was $47,5 \pm 9,1$. About the VHC genotype, 23 (52%) had the genotype 1 and 21 (48%) had genotype 3.

Liver steatosis grade (LS) was found in the range of 5% and 66% in 35 patients. There was no significant difference between the genotypes. About the total cholesterol levels, HDL-C and LDL-C, as well as the serum transaminases, there was no significant difference between the genotypes. The average of the body mass was $25 \pm 1,8$. The prevalence of insulin resistance (IR), measured by HOMA-IR test was verified in 27 patients (61%). The average of the HOMA-IR test between the genotypes was not statistically significant.

Moderate and severe liver fibrosis was found in 14 patients (38%) out of the 37 patients with liver steatosis and only in 2 patients (29%) out of the 7 patients without steatosis. The relationship between insulin resistance and liver fibrosis in our sample was statistically significant ($p < 0,001$).

Analyzing our data, we found insulin resistance in 61% out of 44 patients with chronic hepatitis C without risks factors for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). The amount of the insulin resistance between patients infected with genotype 1 versus genotype 3 of HCV was not statistically different both in the prevalence (65% versus 57% respectively) and in the magnitude (2,6 versus 2,8, respectively). About the relationship between IR and LS in our patients, there was a positive relationship, with IR in 68% of the patients with LS versus 29% of the patients without LS, but without a statistically significant difference. However, the relationship between IR and

hepatic fibrosis showed a statistically significant difference, with a greater prevalence of intense fibrosis (F2 and F3 in METAVIR classification) in the 27 patients with IR compared to the 17 patients without IR (56% versus 6%, respectively - $p < 0,01$).

Keywords: Hepatitis C. Insulin resistance. Liver steatosis grade.

LISTA DE ABREVIATURAS

ALT	– ALANINA AMINOTRANSFERASE (TGP)
AST	– ASPARTATO AMINOTRANSFERASE (TGO)
CHC	– CARCINOMA HEPATOCELULAR
DHA	– DOENÇA HEPÁTICA ALCOÓLICA
DHGNA	– DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO-ALCOÓLICA
DM	– DIABETES MELLITUS
EH	– ESTEATOSE HEPÁTICA
EHNA	– ESTEATOHEPATITE NÃO-ALCOÓLICA
FH	– FIBROSE HEPÁTICA
GGT	– GAMA GLUTAMIL TRANSFERASE
HDL	– LIPOPROTEINA DE ALTA DENSIDADE
HOMA	– MODELO DE ANÁLISE DA HOMEOSTASE
IMC	– ÍNDICE DE MASSA CORPÓREA
LDL	– LIPOPROTEÍNA DE BAIXA DENSIDADE
RI	– RESISTÊNCIA INSULÍNICA
RNA-VHC	– ÁCIDO RIBONUCLÉICO DO VÍRUS DA HEPTITE C
RVS	– RESPOSTA VIROLÓGICA SUSTENTADA
VHB	– VÍRUS DA HEPATITE B
VHC	– VÍRUS DA HEPATITE C

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Efeito da esteatose hepática <i>versus</i> genótipo do VHC no percentual de resposta sustentada ao tratamento antiviral em pacientes com hepatite crônica C (Poynard e cols. Ref. 13).....	20
Figura 2 - Equação do teste HOMA-IR.....	21
Figura 3 - Prevalência de RI nos pacientes com VHC	33
Figura 4 - Distribuição do grau de RI em pacientes com genótipo 1 <i>versus</i> 3 do VHC.....	34
Figura 5 - Ocorrência de RI de acordo com o genótipo do VHC	35
Figura 6 - Prevalência de EH nos pacientes com VHC	36
Figura 7 - Prevalência de EH de acordo com o genótipo do VHC.....	37
Figura 8 - Prevalência de EH de acordo com a RI. .. Erro! Indicador não definido.	38
Figura 9 - Presença de EH em RI	39
Figura 10 - Presença de FH em RI.....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Incidência e fatores associados com esteatose hepática em pacientes com VHC (adaptado da referência 34).....	17
Tabela 2 - Prevalência de RI e teste HOMA em pacientes com infecção crônica pelo VHC.....	24
Tabela 3 - Características demográficas, laboratoriais e histológicas em pacientes com hepatite crônica C, infectados pelo genótipo 1 ou 3 do VHC.....	32
Tabela 4 - Graus de esteatose na amostra global e de acordo com o genótipo do VHC.....	36
Tabela 5 - Graus de esteatose na amostra global e de acordo com a RI.	38
Tabela 6 - Características demográficas, laboratoriais e histológicas em 44 pacientes portadores de hepatopatia crônica pelo vírus C, com e sem RI.	41

SUMÁRIO

RESUMO	5
ABSTRACT	7
LISTA DE ABREVIATURAS	9
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE TABELAS	11
1 INTRODUÇÃO	14
1.1 ESTEATOSE HEPÁTICA	15
1.2 ESTEATOSE HEPÁTICA E HEPATITE C	16
1.3 ESTEATOSE HEPÁTICA E GENÓTIPO DO VÍRUS DA HEPATITE C	17
1.4 IMPORTÂNCIA DA ESTEATOSE HEPÁTICA NA HEPATITE CRÔNICA C	18
1.5 ESTEATOSE HEPÁTICA E RESISTÊNCIA À INSULINA	20
1.6 RESISTÊNCIA À INSULINA E HEPATITE C.....	22
2 JUSTIFICATIVA	25
3 OBJETIVOS	26
3.1 OBJETIVO GERAL.....	26
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
4 PACIENTES E MÉTODOS	27
4.1 PACIENTES.....	27
4.1.1 Critérios de inclusão.....	27
4.1.2 Critérios de exclusão.....	28
4.2 DETECÇÃO DO RNA-VHC	28
4.3 GENOTIPAGEM DO VHC	28
4.4 QUANTIFICAÇÃO DO VHC.....	29
4.5 TESTE HOMA-IR.....	29
4.6 CÁLCULO DO ÍNDICE DE MASSA CORPORAL.....	29
4.7 ROTINA DE AVALIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL	30
4.8 BIÓPSIA HEPÁTICA E ANÁLISE HISTOLÓGICA.....	30
4.9 CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA	30
4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	31
5 RESULTADOS	32
5.1 CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO ESTUDADA.....	32
5.2 GRAU E PREVALÊNCIA DE RI NA POPULAÇÃO ESTUDADA.....	33
5.3 GRAU E PREVALÊNCIA DE RI DE ACORDO COM O GENÓTIPO DO VHC	33
5.4 RELAÇÃO ENTRE RI E EH NA POPULAÇÃO ESTUDADA	35
5.4.1 Prevalência de EH de acordo com o genótipo do VHC.....	36
5.4.2 Prevalência de EH de acordo com a RI.	37
5.5 RELAÇÃO ENTRE RI E DADOS DEMOGRÁFICOS, LABORATORIAIS E HISTOLÓGICOS NA POPULAÇÃO ESTUDADA.....	41

6	DISCUSSÃO.....	42
7	CONCLUSÕES.....	48
	REFERÊNCIAS.....	49
	APÊNDICES	58

1 INTRODUÇÃO

Estima-se que cerca de 150 milhões de pessoas (aproximadamente 2,2% da população mundial) estejam cronicamente infectados pelo vírus da hepatite C (VHC) (1). Atualmente, a infecção pelo VHC constitui a principal causa de hepatite crônica, cirrose, carcinoma hepatocelular e transplante hepático em adultos na maioria dos países ocidentais (2).

Embora sua história natural ainda não tenha sido completamente elucidada, sabe-se que a hepatite C não apresenta evolução uniforme. A taxa de cronificação varia entre 55% e 90%, sendo que alguns indivíduos progridem para cirrose e carcinoma hepatocelular em 20-30 anos; enquanto outros permanecem com hepatite leve e fibrose mínima ou ausente por mais de 50 anos (3,4,5).

Não se sabe exatamente porque alguns indivíduos com hepatite crônica C evoluem para cirrose mais rapidamente, no entanto, estudos recentes mostram correlação entre esteatose hepática (EH) e maior progressão da fibrose (6,7,8, 9,10). Além disso, pacientes com EH parecem alcançar menor resposta virológica sustentada (RVS) quando tratados com interferon e ribavirina, independente do consumo de álcool (11,12,13).

A patogênese da EH na hepatite C ainda é desconhecida, porém parece estar relacionada ao mecanismo citopático direto do VHC em pacientes com genótipo 3 e a fatores metabólicos do hospedeiro em pacientes com genótipo 1 (13,14,15,16,17).

Recentemente, alguns autores encontraram associação significativa entre resistência à insulina (RI) e EH em pacientes com infecção crônica pelo VHC (18,19,20,21). Apesar dos mecanismos que envolvem a conexão entre RI e EH não serem ainda totalmente conhecidos, parecem não ocorrer da mesma forma em pacientes infectados com genótipo 1 ou 3 do VHC(22).

1.1 ESTEATOSE HEPÁTICA

O fígado exerce papel central no metabolismo dos lipídios, facilitando sua digestão e absorção por meio da produção de bile, além de realizar a síntese e/ou oxidação de diversas lipoproteínas (23).

Denomina-se doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA) o acúmulo de gordura no fígado não relacionado ao uso excessivo de álcool, considerado pela maioria dos especialistas como acima de 20 a 40g/dia, em média, para mulheres e homens, respectivamente (24).

A DHGNA compreende tanto a EH quanto a esteato-hepatite não-alcoólica (EHNA). A EH não evolui diretamente para cirrose (25). A história natural da EHNA, por outro lado, apesar de ainda não ser bem conhecida, demonstra índices variáveis de progressão para cirrose, insuficiência hepática e carcinoma hepatocelular (25).

Estima-se que entre 10% e 20% dos indivíduos não selecionados, provenientes da população geral, sejam portadores de DHGNA, porém não se conhece exatamente o percentual deste grupo que teria EH ou EHNA (25).

Histologicamente, a EH pode ser encontrada tanto sob a forma de pequenas gotículas de gordura no citoplasma do hepatócito (esteatose microvesicular) quanto sob a forma de grandes vacúolos com núcleo comprimido e desviado para a periferia (esteatose macrovesicular) (26).

A esteatose microvesicular tem patogênese distinta, associada com distúrbios mitocondriais que envolvem a respiração celular. Costuma ser mais grave e pode ser causada por uso de tetraciclina, podendo também ser encontrada no fígado gorduroso da gravidez (27).

A esteatose macrovesicular, por sua vez, está relacionada ao distúrbio do metabolismo dos ácidos graxos, decorrente da alteração de pelo menos um dos quatro processos básicos existentes no ciclo de lipídios entre tecido adiposo e fígado: a) aumento na quantidade de ácidos graxos liberados para o fígado; b) aumento na síntese de ácidos graxos no fígado; c) redução na beta oxidação de ácidos graxos no fígado, e/ou d) redução na síntese ou secreção de lipoproteínas de densidade muito baixa (28,29).

1.2 ESTEATOSE HEPÁTICA E HEPATITE C

Esteatose é achado comum em pacientes com hepatite C. A maioria dos trabalhos mostra prevalência de EH da ordem de 30% a 70% em pacientes com infecção crônica pelo VHC, sendo considerada mais alta do que em qualquer outra hepatopatia, com exceção da doença hepática alcoólica (DHA) e da EHNA (13,14,30).

Mesmo em pacientes com VHC que não apresentam consumo excessivo de álcool ou fatores de risco clássicos para DHGNA (obesidade, uso de medicamentos potencialmente hepatotóxicos, diabetes mellitus (DM) e/ou dislipidemia), pode-se encontrar percentuais variados de acúmulo de gordura intra-hepatocitária, sugerindo provável componente viral responsável pela gênese da EH (31).

Curiosamente, verificou-se que a EH associada ao VHC é diferente daquela verificada na DHA e EHNA. De fato, pacientes com VHC tendem a apresentar gotas de gordura de vários tamanhos com deposição focal em áreas periportais (zona 1 do ácino de Rappaport). Por outro lado, pacientes com DHA ou EHNA apresentam gotas de gordura de tamanho mais uniforme com deposição em áreas centrolobulares (zona 3 do ácino de Rappaport) (8). No entanto, deve-se ressaltar que a distribuição da esteatose nem sempre é uniforme, tornando difícil distinguir a existência de infiltração gordurosa associada ao VHC daquela associada à esteatohepatite alcoólica ou não-alcoólica (14,26,30).

Vários autores (7,9,13,14,15,16,32,33) têm procurado identificar fatores associados à presença e ao grau da EH na infecção pelo VHC, sendo que os achados mais significativos em análise multivariada incluem: a) índice de massa corporal (IMC); b) genótipo 3 do VHC, c) maior deposição de fibrose hepática, d) níveis altos de triglicerídios; e) níveis altos de glicemia e f) carga viral do VHC nos pacientes com genótipo 3 (Tabela 1).

Tabela 1 - Incidência e fatores associados com esteatose hepática em pacientes com VHC (adaptado da referência 34).

Estudo (referência)	Fatores Associados com Esteatose Hepática							
	N	EH (%)	IMC	Álcool	DM	Gen 3	Viremia	Fibrose
Fiore	121	60	Sim	Não	Não	NA	NA	Sim
Wong	200	38	NA	NA	NA	NA	NA	Sim
Czaja	60	52	Sim	NA	Sim	NA	NA	NA
Giannini	172	70	NA	NA	NA	Não	NA	Sim
Hourigan	148	61	Sim	Não	Não	Sim	Não	Sim
Rubbia-Brandt	254	43	NA	NA	NA	Sim	Sim	Sim
Hwang	106	52	Sim	NA	NA	Não	Não	Sim
Ong	170	53	Sim	Não	Não	Não	NA	Sim
Adinolfi	180	48	Sim	NA	NA	Sim	Sim	Sim
Sanyal	1536	7	Sim	Sim	Sim	Sim	NA	Sim
Monto	297	57	Sim	Sim	Sim	Sim	NA	Sim
Sharma	293	90	Sim	Sim	Sim	Sim	NA	Sim
Adinolfi	221	48	Sim	Sim	NA	Sim	Sim	Sim
Westin	98	42	Sim	Sim	NA	Sim	Sim	Sim
Castera	96	54	NA	Sim	NA	Sim	Sim	Sim

Atualmente, existem várias teorias sobre os possíveis mecanismos relacionados ao surgimento de EH em pacientes com infecção crônica pelo VHC (34,35,36,37). Em primeiro lugar, existem evidências de que a EH poderia estar relacionada ao efeito direto da replicação do VHC no interior do hepatócito, a qual seria capaz de produzir alterações na membrana mitocondrial e peroxidação lipídica, com interferência na formação de diversas lipoproteínas. Em segundo lugar, a EH poderia estar relacionada à liberação de fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa), como conseqüência da inflamação hepática. Estudos em animais de experimentação têm demonstrado que o TNF-alfa pode induzir RI, a qual, por sua vez, levaria à EH. Finalmente, não se pode excluir o papel da síndrome metabólica, cada vez mais implicada na gênese de alterações no metabolismo lipídico (38).

1.3 ESTEATOSE HEPÁTICA E GENÓTIPO DO VÍRUS DA HEPATITE C

A gênese da EH parece variar de acordo com o genótipo do VHC (9,13,14,15,16,39,40,41,42). Assim, verifica-se que, nos pacientes infectados com o

genótipo 3, a EH independe do IMC, apresenta alto grau de correlação com a carga viral do VHC, regredindo nos pacientes com resposta sustentada ao tratamento antiviral. Por sua vez, nos pacientes infectados com genótipo 1 do VHC, a EH está diretamente relacionada ao IMC e/ou achado de adiposidade central, sem qualquer vinculação com os níveis de viremia, além de não regredir significativamente após a erradicação do VHC (43,44,45).

A forma de esteatose associada ao genótipo 1 independe da replicação viral, sendo denominada “esteatose metabólica”. Por outro lado, a esteatose associada ao genótipo 3 tem sido relacionada a efeito citopático direto de proteína do “core” dessa cepa viral, sendo denominada de “esteatose viral” (13,22,46).

Em trabalho recente (47), foram demonstradas as seguintes evidências do efeito esteatogênico do genótipo 3: a) a maioria dos pacientes infectados com genótipo 3 apresenta EH; b) em pacientes com genótipo 3 (mas não com genótipo 1), a EH correlaciona-se com o nível de RNA do VHC no soro e no tecido hepático; c) em pacientes infectados com genótipo 3 (mas não com genótipo 1), o sucesso na terapia antiviral faz desaparecer a esteatose e a recidiva viral promove seu reaparecimento; d) pacientes infectados com genótipo 3 costumam apresentar menor incidência de RI, mesmo em presença de graus elevados de EH.

1.4 IMPORTÂNCIA DA ESTEATOSE HEPÁTICA NA HEPATITE CRÔNICA C

O significado clínico da esteatose associada à infecção pelo VHC ainda não foi totalmente esclarecido. Apesar de existir associação entre esteatose e fibrose na hepatite C, relação de causa e efeito ainda não foi demonstrada de forma inequívoca (14). Outros estudos indicam menor RVS em pacientes com VHC e EH (13,48,49,50).

Quanto à relação entre EH e fibrose, vários estudos indicam associação independente entre essas duas variáveis. Nesse sentido, meta-análise recente estudou 3.068 pacientes da Europa, Estados Unidos e Austrália (51). Todos apresentavam hepatite crônica C, compreendendo os genótipos 1, 2, 3 ou 4 do VHC. Os resultados mostraram esteatose em 1.561 pacientes (50,9%) e a regressão

logística mostrou que a EH estava associada de forma independente com genótipo 3 do VHC, presença de fibrose, DM, inflamação hepática, uso abusivo de álcool, IMC elevado e idade mais avançada (51). Outros autores comprovaram o achado de fibrose mais intensa em pacientes com graus mais elevados de EH, particularmente, em pacientes infectados pelo genótipo 3 do VHC (9,15,16). Do mesmo modo, Pelletier e colaboradores (52) descreveram associação entre EH e fibrose em paciente pós-transplante hepático por cirrose causada pelo VHC. Interessante ressaltar que a EH e a fibrose podem regredir quando indivíduos com IMC elevado emagrecem (53).

Os principais mecanismos pelos quais a EH poderia influenciar o surgimento da fibrose encontram-se resumidos a seguir: a) o VHC poderia aumentar diretamente a peroxidação de lipídios e provocar dano mitocondrial, resultando em estresse oxidativo e aumento da fibrogênese (6,54); b) a infecção pelo VHC, principalmente genótipo 1, poderia aumentar os níveis circulantes de leptina, a qual estimula a síntese do fator transformador de crescimento e ativação das células estreladas que produzem colágeno no fígado (16,55); c) poderia ainda haver superposição entre hepatite C e DHA ou EHNA devido à alta prevalência destas doenças na população (13,26,56).

No tocante à relação entre EH e RVS, existem evidências de que tanto o grau de esteatose quanto o IMC, de forma independente, constituem fatores preditivos de má resposta em pacientes com hepatite crônica C submetidos a tratamento antiviral. Nesse sentido, é interessante notar que vários estudos identificaram que a EH foi capaz de influenciar a RVS de forma independente do genótipo, carga viral, idade, sexo, intensidade da fibrose hepática ou consumo excessivo de álcool (11,12,13,14).

Nesse sentido, estudo recente (11) envolvendo 224 pacientes com hepatite crônica C, tratados com interferon peguilado (PEG-IFN) alfa-2b e ribavirina (RBV), encontrou menor percentual de RVS nos pacientes com EH ($P=0,01$). Da mesma maneira, Poynard e cols.(13), em análise retrospectiva de estudo randomizado controlado, no qual 1.428 pacientes com hepatite crônica C foram tratados com PEG-IFN ou interferon (IFN) convencional, demonstraram menor RVS nos pacientes com EH, porém apenas nos indivíduos infectados com genótipo não-3 (Figura 1). Esse achado, se comprovado em outros estudos, reforçaria o fato de que a

esteatose hepática “viral” associada ao genótipo 3 possui mecanismo distinto da esteatose hepática “metabólica” relacionada ao genótipo não-3(43).

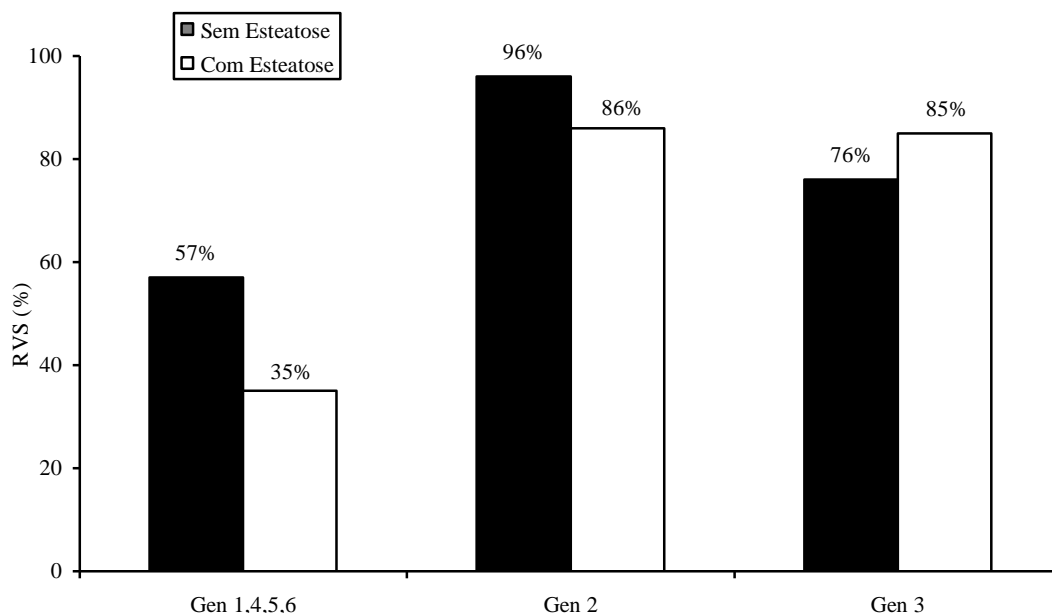


Figura 1 - Efeito da esteatose hepática versus genótipo do VHC no percentual de resposta sustentada ao tratamento antiviral em pacientes com hepatite crônica C (Poynard e cols. Ref. 13).

Os principais mecanismos pelos quais a EH, principalmente na sua forma “metabólica”, poderia estar associada a menor chance de RVS ainda são obscuros, sendo postuladas hipóteses relacionadas à menor biodisponibilidade do IFN em pacientes com maior quantidade de tecido adiposo, provável alteração do sistema imune em obesos mediada pela resistência à leptina, além de maior fibrose (34,57).

1.5 ESTEATOSE HEPÁTICA E RESISTÊNCIA À INSULINA

Resistência à insulina (RI) é definida como a condição na qual maior quantidade de insulina do que a usual faz-se necessária para alcançar respostas

metabólicas normais, ou seja, a condição na qual quantidades normais de insulina não alcançam respostas metabólicas normais (58).

O método estabelecido como padrão-ouro para avaliar a presença RI é o *Clamp* Euglicêmico-Hiperinsulinêmico (CEH) (59,60,61), desenvolvido em 1979, por DeFronso e cols.(62). O CEH permite examinar a resposta secretória de insulina à glicose e quantificar o consumo do organismo como um todo sob condições constantes de hiperglicemia (*clamp* hiperinsulinêmico) ou hiperinsulinemia (*clamp* euglicêmico). A determinação da sensibilidade à insulina por este método baseia-se no conceito de que, se mantendo níveis constantes de glicemia e hiperinsulinemia, a quantidade de glicose consumida pelos tecidos seria igual à quantidade de glicose infundida durante o teste.

Apesar do CEH ser considerado como padrão-ouro para avaliar a presença RI, seu uso é dificultado pela complexidade e alto custo (63). Em função disso, novos métodos foram desenvolvidos para medir RI de forma mais simples e prática. Dentre estes, destaca-se o Modelo de Análise da Homeostase para medida da RI (HOMA-IR). Esta técnica foi descrita em 1985, por Matthews e cols.(64), sendo baseada numa equação que envolve o produto entre a concentração sérica basal de insulina e a concentração sérica basal de glicose (figura 2).

$$\text{HOMA-IR} = \text{glicemia (mmol/L)} \times \text{insulina (mUI/L)} / 22,5$$

Figura 2 - Equação do teste HOMA-IR

Na descrição original deste modelo (64), a média da RI em indivíduos normais variou entre 1,21 e 1,45 para amostras obtidas após jejum de 8 horas. O ponto de corte para RI é considerado arbitrário, sendo recomendado em estudo recente que se usem níveis de HOMA-IR acima de 2 para definir RI (63,65).

A comparação entre o teste HOMA-IR e o CEH mostrou correlação positiva e altamente significativa ($r=0,88$, $P<0,0001$) (64). Vários outros estudos têm

comprovado essa correlação, inclusive em indivíduos não diabéticos, sendo atualmente o mais indicado para uso em estudos epidemiológicos (63,66,67,68).

Recentemente, tem sido sugerido que a insulina pode exercer papel importante na patogênese da DHGNA, pois, ao inibir a oxidação de ácidos graxos livres, aumentaria seus níveis no fígado, desencadeando o processo inflamatório (26). Além disso, indivíduos obesos geralmente apresentam níveis séricos elevados de insulina e ácidos graxos livres (69). Por outro lado, a perda de peso gradual associa-se com redução dos níveis séricos de insulina, diminuindo o dano hepático (26). Finalmente, o uso de drogas que reduzem a RI induz a melhora dos exames laboratoriais hepáticos e regressão do dano histológico do fígado nos pacientes tratados *versus* controles não tratados (70,71,72,73).

1.6 RESISTÊNCIA À INSULINA E HEPATITE C

Diabetes mellitus tipo 2, condição reconhecidamente associada a RI, tem sido associada a doenças hepáticas de várias etiologias, particularmente em estágio avançado. Estudos recentes sugerem que a infecção pelo VHC pode provocar distúrbios no metabolismo da glicose. A primeira observação da relação entre cirrose pelo VHC e DM tipo 2 foi estabelecida em 1994, por Allison e cols.(74). Posteriormente, análise retrospectiva de 1.117 pacientes com hepatite crônica viral demonstrou ocorrência de DM tipo 2 em 21% dos pacientes VHC positivos e apenas 12% dos VHB positivos. Análise multivariada comprovou que a infecção pelo VHC e a idade eram fatores independentes preditivos de DM tipo 2 (75). Desde então, vários autores têm encontrado maior prevalência de VHC em diabéticos, inclusive pós-transplante hepático (18,21,47,74,75,76,77,78,79,80,81).

Com base na relação entre VHC e DM tipo 2, não é de estranhar que pacientes com infecção crônica pelo VHC apresentem maior prevalência de RI em comparação com indivíduos da população geral (35,49,63,64,82,83,84,85). Não se sabe ainda como o VHC poderia provocar distúrbios no metabolismo da glicose, sendo aventadas algumas possibilidades: a) efeito secundário da cirrose; b) sobrecarga de ferro associada ao VHC; c) reação auto-imune induzida pelo VHC contra as células beta do pâncreas; d) efeito direto do VHC contra células das ilhotas

pancreáticas, provocando disfunção secundária das células beta; e) indução de RI periférica, por elevação dos níveis do TNF-alfa no fígado e soro de pacientes com hepatite crônica C, o qual parece interferir no sinal do receptor da insulina.

A relação entre o grau de RI e a magnitude da replicação viral tem sido aventada por alguns autores (86). No entanto, ainda, não está claro se é a replicação do VHC que aumenta diretamente a RI, ou se é a hiperinsulinemia que age como fator estimulante da replicação viral (87).

Outra maneira de comprovar ou não a relação entre VHC e RI reside na comparação entre pacientes pré e pós-erradicação da infecção por tratamento antiviral (88,89). Nesse sentido, Romero-Gómez e cols. (71) mostraram melhora na RI em pacientes que eliminam o RNA-VHC comparados aos não respondedores. Em outro estudo, os autores relatam melhora nos testes de tolerância à glicose após tratamento antiviral bem-sucedido (72).

Assim, fica cada vez mais comprovada a relação de causa e efeito entre o VHC e a RI, sendo inclusive apoiada por dados experimentais, os quais sugerem interferência do VHC com os receptores da insulina nos tecidos, tanto por via direta (90) quanto por via indireta, mediada pelo aumento de citocinas pró-inflamatórias como o TNF-alfa (91,92).

Além disso, alguns estudos recentes têm mostrado relação entre RI, EH e fibrose hepática em pacientes com hepatite crônica C(18,19,93). Deve ser ressaltado que a restauração da sensibilidade à insulina, tanto por medidas farmacológicas quanto não farmacológicas, promove melhora da EH e da fibrose hepática, indicando que a RI parece ser a causa e não o efeito da EH (70,71,72,73,94).

A relação entre VHC e RI parece ocorrer em todos os genótipos, embora possa haver diferenças quantitativas ainda não bem-estabelecidas (95). De fato, alguns autores encontraram maior grau de RI em pacientes infectados pelo VHC tipo 3, o qual, durante sua replicação, parece provocar diminuição do nível do RNA mensageiro dos receptores intrahepáticos da insulina (96).

Tabela 2 - Prevalência de RI e teste HOMA em pacientes com infecção crônica pelo VHC.

Estudo, ano (referência)	N	HOMA
Durante-Mangoni e cols., 2006 (84)	161	5,37 ± 3,90
Camma C e cols., 2006 (35)	291	2,74 ± 2,37
Chitturi S e cols., 2002 (97)	36	2,8±1,9
Lecube e cols.,2006 (98)	28	4,35±2,27
Muzzi A e cols., 2005 (95)	221	3,4±3,9

2 JUSTIFICATIVA

Verifica-se que, até o momento, existem poucos registros na literatura médica de estudos clínicos relacionando RI com EH nos diferentes genótipos do VHC, especialmente, em pacientes sem cirrose e sem fatores de risco para DHGNA. Assim, o presente estudo visa revelar se existe relação entre o grau de RI e o grau de EH em pacientes com hepatite crônica C infectados pelos genótipos 1 e 3 do VHC. Os resultados poderão contribuir para o entendimento da patogênese da EH nesses pacientes, propiciando intervenções terapêuticas no sentido de combater a RI e diminuir o grau de EH, os quais estão comprovadamente associados com a progressão da fibrose e a falha terapêutica.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Estabelecer o grau de RI em pacientes com hepatite crônica C sem fatores de risco para DHGNA, infectados com genótipo 1 versus genótipo 3 do VHC.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a correlação entre RI e EH nesses pacientes.
- Analisar a correlação entre RI e fibrose hepática nesses pacientes.

4 PACIENTES E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Ambulatório de Hepatites Virais do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), no período de março de 2003 a março de 2006. Todos pacientes foram incluídos mediante assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética do HCPA. O delineamento do estudo pode ser definido como transversal, pois foram avaliados, simultaneamente, o fator em estudo (genótipos do VHC) e os desfechos clínicos (grau de RI e EH) e fibrose hepática.

4.1 PACIENTES

Foram selecionados para este estudo 44 pacientes consecutivos de ambos os sexos de acordo com os seguintes critérios:

4.1.1 Critérios de inclusão

- a) Idade superior a 18 anos;
- b) RNA-VHC qualitativo positivo;
- c) Genótipos 1 e 3 do VHC;
- d) Sem tratamento prévio para o VHC;
- e) Biópsia hepática nos últimos dois anos;
- f) Assinatura do TCLE (Apêndice A)

4.1.2 Critérios de exclusão

- a) Outras causas de hepatopatia, tais como vírus B, hemocromatose, doença de Wilson, deficiência de alfa 1 antitripsina, uso de drogas potencialmente hepatotóxicas nos últimos seis meses, hepatite autoimune, consumo de álcool >40g/semana nos últimos 12 meses (92);
- b) Cirrose;
- c) Biópsia hepática com menos de 9 espaços-porta;
- d) HIV positivo;
- e) Diabetes Mellitus (definido como glicemia de jejum acima de 126 mg/dl em duas medidas distintas);
- f) Dislipidemia (triglicerídios e/ou colesterol total acima de 200mg/dl);
- g) Obesidade (definida como IMC acima de 30).

4.2 DETECÇÃO DO RNA-VHC

O RNA-VHC foi realizado pela técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) por método caseiro (Simbios Biotecnologia, RS, Brasil), segundo técnica já descrita anteriormente (99).

4.3 GENOTIPAGEM DO VHC

A identificação dos genótipos do VHC foi realizada pela técnica de análise do polimorfismo do comprimento dos fragmentos obtidos por enzimas de restrição (RFLP), usando produtos da PCR conforme descrito por McOmish e cols.(100).

4.4 QUANTIFICAÇÃO DO VHC

A quantificação do RNA-VHC sérico foi realizada por técnica comercialmente disponível (Roche Amplicor Monitor, Basileia, Suíça) segundo as recomendações do fabricante. Os resultados foram expressos em unidades internacionais por mililitro (UI/ml).

4.5 TESTE HOMA-IR

O teste HOMA-IR foi calculado com base na equação que envolve o produto entre a concentração sérica basal de insulina e a concentração sérica basal de glicose, segundo a fórmula: $HOMA-IR = \text{glicemia (mmol/L)} \times \text{insulina (mUI/L)} / 22,5$. RI foi definida como HOMA-IR acima de 2(63,64).

4.6 CÁLCULO DO ÍNDICE DE MASSA CORPORAL

O IMC foi calculado a partir da divisão do peso do paciente, em quilogramas, pelo quadrado da altura em metros. O IMC foi expresso em kg/m^2 .

IMC (kg/m^2)	Classificação
< 18,5	Magro
18,5 a 24,9	Normal
25 a 29,9	Sobrepeso
30 a 34,9	Obeso I
35 a 39	Obeso II
> 40	Obeso Mórbido

4.7 ROTINA DE AVALIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL

Todos os pacientes foram submetidos à anamnese, exame físico e medida da altura e do peso corporal, além de avaliação laboratorial: glicemia e insulinemia de jejum, colesterol total e suas frações e triglicerídios, hemograma, plaquetas, bilirrubinas, aminotransferases (ALT e AST), fosfatase alcalina, gama-glutamiltransferase (GGT), HBsAg, Anti HIV e tempo de Protrombina. Os exames foram realizados pelos métodos convencionais.

4.8 BIÓPSIA HEPÁTICA E ANÁLISE HISTOLÓGICA

Foi incluído paciente com biópsia hepática realizada nos últimos dois anos, com achados compatíveis o diagnóstico de hepatite crônica C. As lâminas foram analisadas por patologista do HCPA, experiente no procedimento.

A classificação histológica empregada para o estadiamento da fibrose foi a do componente de fibrose da classificação METAVIR (73), composta pelos seguintes estágios: F0 = pacientes sem fibrose; F1 = fibrose portal sem septos; F2 = fibrose portal com raros septos; F3 = numerosos septos sem cirrose; F4 = cirrose.

A classificação histológica empregada para a avaliação da esteatose foi a de Brunt e cols.(101): Grau 0 (ausente) = menos de 5% de esteatose; Grau 1 (leve) = entre 5% e 33% dos hepatócitos com esteatose; Grau 2 (moderada) = entre 33% e 66% dos hepatócitos com esteatose; Grau 3 (intensa) = mais de 66% dos hepatócitos com esteatose.

4.9 CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA

Para detectar diferença absoluta no teste HOMA entre os grupos de pacientes portadores do VHC com genótipo 1 versus genótipo 3 da ordem de um desvio padrão, considerando-se iguais variâncias entre os grupos, foi estimado o total de 34 pacientes (17 para genótipo 1 e 17 para genótipo 3). Os cálculos foram realizados

por meio do programa COMPARE 2 (versão 1.21), integrante do PEPI (versão 4.0), considerando-se o intervalo de confiança de 95% e poder do estudo de 80%.

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados das variáveis categóricas serão apresentados em forma de proporções e das variáveis contínuas em forma de média e desvio padrão. Para a associação de variáveis categóricas com variáveis ordinais foi usado o teste de Mann-Whitney. Para a associação com variáveis contínuas, primeiro, avaliou-se, através do teste de Kolmogorov-Smirnov, se a variável apresentava distribuição normal, assumindo alfa crítico = 0,05. Caso o teste fosse significativo, o teste não-paramétrico (Mann-Whitney) seria utilizado; caso contrário, primeiro, seria avaliada a igualdade das variâncias através do teste de Levene; nos casos em que este era significativo (alfa crítico = 0,1), usou-se o teste t de student para diferentes variâncias e, naqueles em que o teste não era significativo, usou-se o teste t de student para iguais variâncias. Para a associação entre variáveis categóricas utilizou-se o teste do qui-quadrado, com correção de Yates, uma vez que todas as associações geraram tabelas de contingência (2x2). Quando era observado, em pelo menos uma casela, um “n” inferior a 5, usou-se o teste exato de Fisher. Os testes utilizados foram sempre bicaudais. A análise dos dados foi realizada com o auxílio do software SPSS v13.

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO ESTUDADA

Dos 44 pacientes incluídos, verificou-se que 23 (52,3%) possuíam genótipo 1 e 21 (47,7%) possuíam genótipo 3 do VHC. Os dados demográficos (sexo, idade, IMC), laboratoriais (ALT, colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, triglicerídios, glicemia, insulinemia, carga viral do VHC) e histológicos (fibrose, esteatose hepática e atividade necro-inflamatória) dos pacientes da presente casuística podem ser analisados na tabela 3 e na lista completa de pacientes (Apêndice B).

Tabela 3 - Características demográficas, laboratoriais e histológicas em pacientes com hepatite crônica C, infectados pelo genótipo 1 ou 3 do VHC.

PARÂMETRO	Amostra Global (n=44)	VHC genótipo 1 (n= 23)	VHC genótipo 3 (n= 21)	P
Gênero masculino n (%)	30 (68%)	17 (74%)	13 (62%)	0,60
Idade em anos (média±dp)	47,5 ±9,1	46,5 ±9,9	48,6 ±8,3	0,44
IMC em kg/m ² (média±dp)	25 ±1,8	25,2 ±1,7	24,7 ±1,9	0,31
ALT em UI/ml (média±dp)	104 ±51	103 ±58	105 ±43	0,9
Colesterol total em mg/dl (média±dp)	161 ±28	161 ±27	161 ±30	1
Colesterol LDL em mg/dl (média±dp)	93 ± 5	94 ±26	92 ±24	0,83
Colesterol HDL em mg/dl (média±dp)	49,5 ±14	49 ±16	50 ±13	0,94
Triglicerídeos em mg/dl (média±dp)	100 ± 8	106 ±38	93 ±37	0,26
Glicemia em mg/dl (média±dp)	92 ±8	92 ±8	93 ±9	0,82
Insulinemia em mmol/l (média±dp)	11,9 ±7	11,7 ±6,9	12 ±7,2	0,9
Viremia log UI/ml (média±dp) *	6,1 ±0,6	6,3 ±0,6	5,9 ±0,5	0,02
Grau de Esteatose hepática (média±dp)	1,09 ±0,71	1,04 ±0,77	1,14 ±0,66	0,39
Esteatose hepática n (%)	37 (84,1%)	19 (82,6%)	18 (85,7%)	1
Fibrose Metavir (média±dp)	1,39 ±1,15	1,52 ±1,08	1,24 ±1,22	0,33
Fibrose F2/F3 Metavir n (%)	16 (36%)	10 (44%)	6 (29%)	0,48
Atividade Metavir (média±dp)	1,52 ±0,85	1,52 ±0,85	1,52 ±0,87	0,89

*Dados de carga viral disponíveis em 21/23 pacientes com genótipo 1 e em 18/21 pacientes com genótipo 3; VHC = vírus da hepatite C; IMC = índice de massa corporal; ALT = alanina aminotransferase; LDL = lipoproteína de baixa densidade; HDL = lipoproteína de alta densidade.

5.2 GRAU E PREVALÊNCIA DE RI NA POPULAÇÃO ESTUDADA

A média do grau de RI na população estudada, avaliado pelo teste HOMA-IR, foi $2,71 \pm 1,59$. Dentre os 44 pacientes incluídos, verificou-se que 27 pacientes (61,4%) apresentavam RI, definida como HOMA-IR > 2 (figura 3).

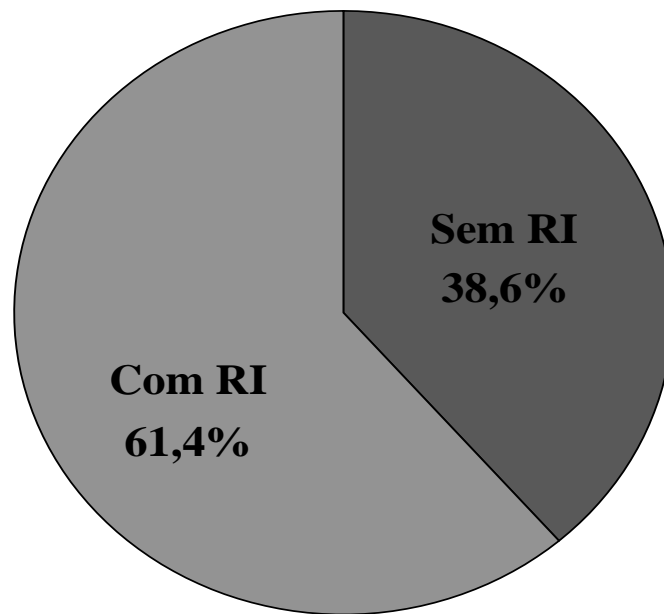


Figura 3 - Prevalência de RI nos pacientes com VHC

5.3 GRAU E PREVALÊNCIA DE RI DE ACORDO COM O GENÓTIPO DO VHC

A média do grau de RI na população estudada, avaliado pelo teste HOMA-IR, foi superior no genótipo 3 *versus* genótipo 1 ($2,8 \pm 1,75$ *versus* $2,63 \pm 1,46$ respectivamente). $P=0,74$.

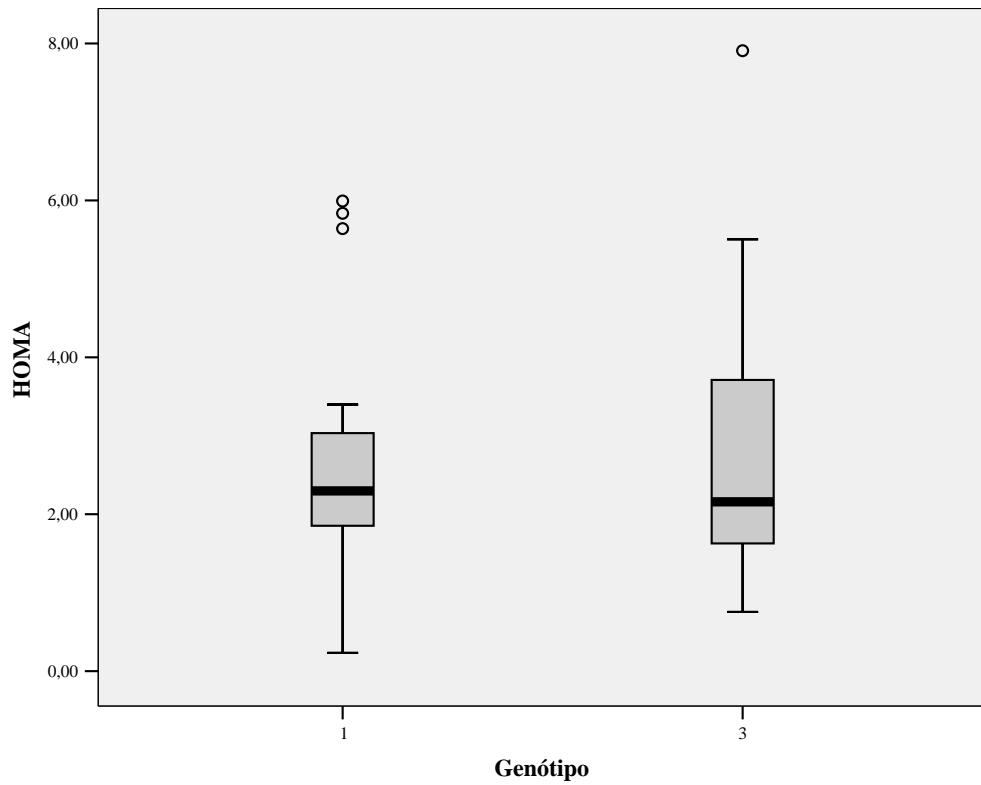


Figura 4 - Distribuição do grau de RI em pacientes com genótipo 1 versus 3 do VHC.

A ocorrência de RI (HOMA>2) de acordo com o genótipo do VHC não alcançou diferença significativa entre os grupos ($P=0,81$), estando resumida na figura 5.

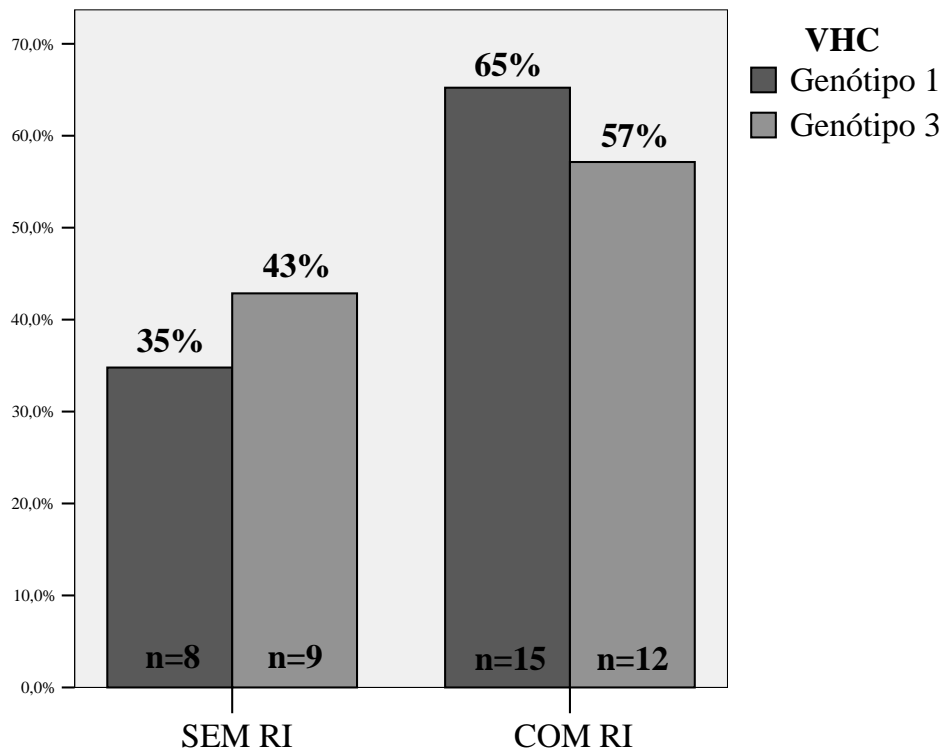


Figura 5 - Ocorrência de RI de acordo com o genótipo do VHC

5.4 RELAÇÃO ENTRE RI E EH NA POPULAÇÃO ESTUDADA

Na amostra estudada, verificaram-se 37 pacientes (84,1%) com algum grau de EH (figura 6).

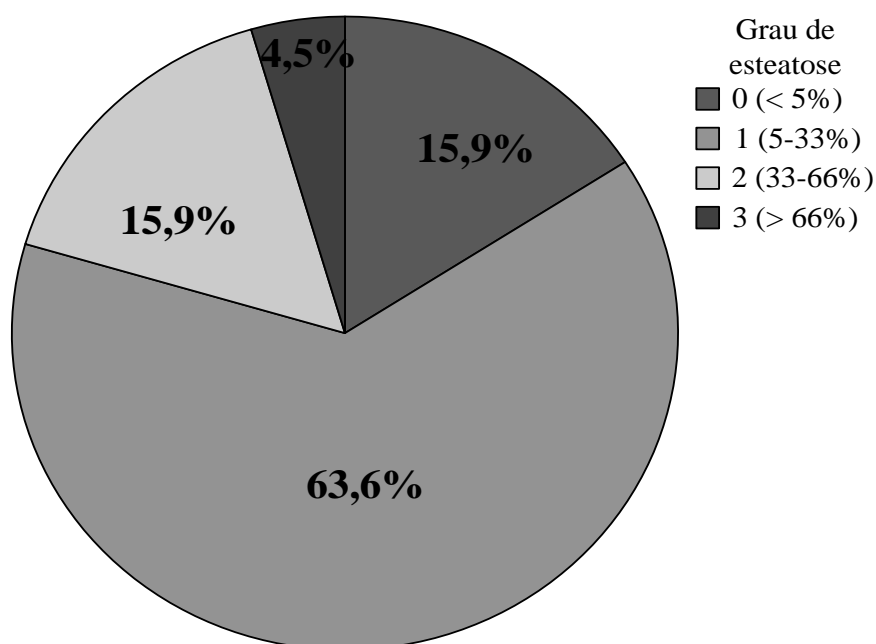


Figura 6 - Prevalência de EH nos pacientes com VHC

5.4.1 Prevalência de EH de acordo com o genótipo do VHC

Dentre os 23 pacientes com genótipo 1 estudados na presente casuística, verificou-se esteatose em 19 (82,6%). Dos 21 pacientes com genótipo 3, por outro lado, verificou-se esteatose em 18 (85,7%), sendo a diferença estatística não significativa ($P=1$) (Tabela 4 e figura 7).

Tabela 4 - Graus de esteatose na amostra global e de acordo com o genótipo do VHC.

Grau de Esteatose	Amostra global (n=44)	VHC genótipo 1 (n=23)	VHC genótipo 3 (n=21)
0 (< 5%)	7 (15,9%)	4 (17,4%)	3 (14,3%)
1 (5 – 33%)	28 (63,6%)	16 (69,6%)	12 (57,1%)
2 (33 – 66%)	7 (15,9%)	1 (4,3%)	6 (28,6%)
3 (> 66%)	2 (4,5%)	2 (8,7%)	0

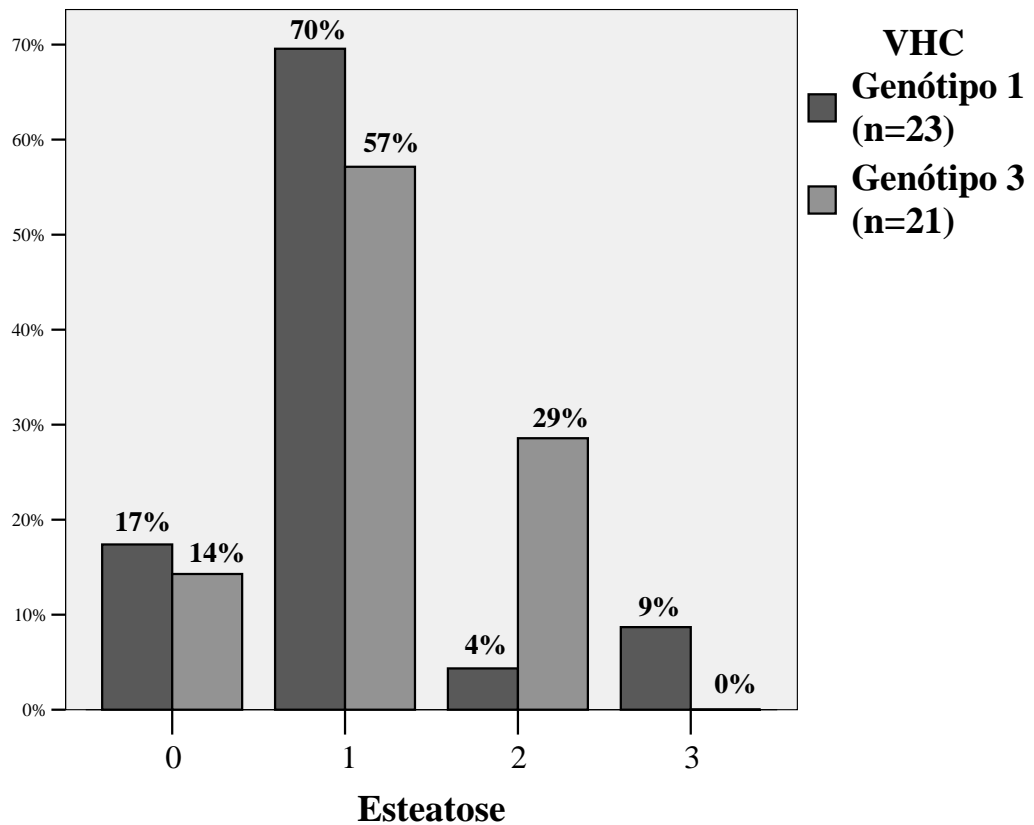


Figura 7 - Prevalência de EH de acordo com o genótipo do VHC

5.4.2 Prevalência de EH de acordo com a RI.

Dos 27 pacientes com RI estudados na presente casuística, verificou-se esteatose em 25 (92,6%). Dos 17 pacientes sem RI, por outro lado, verificou-se esteatose em 12 (70,6%). ($P=0,09$) (Figuras 8, 9 e tabela 5).

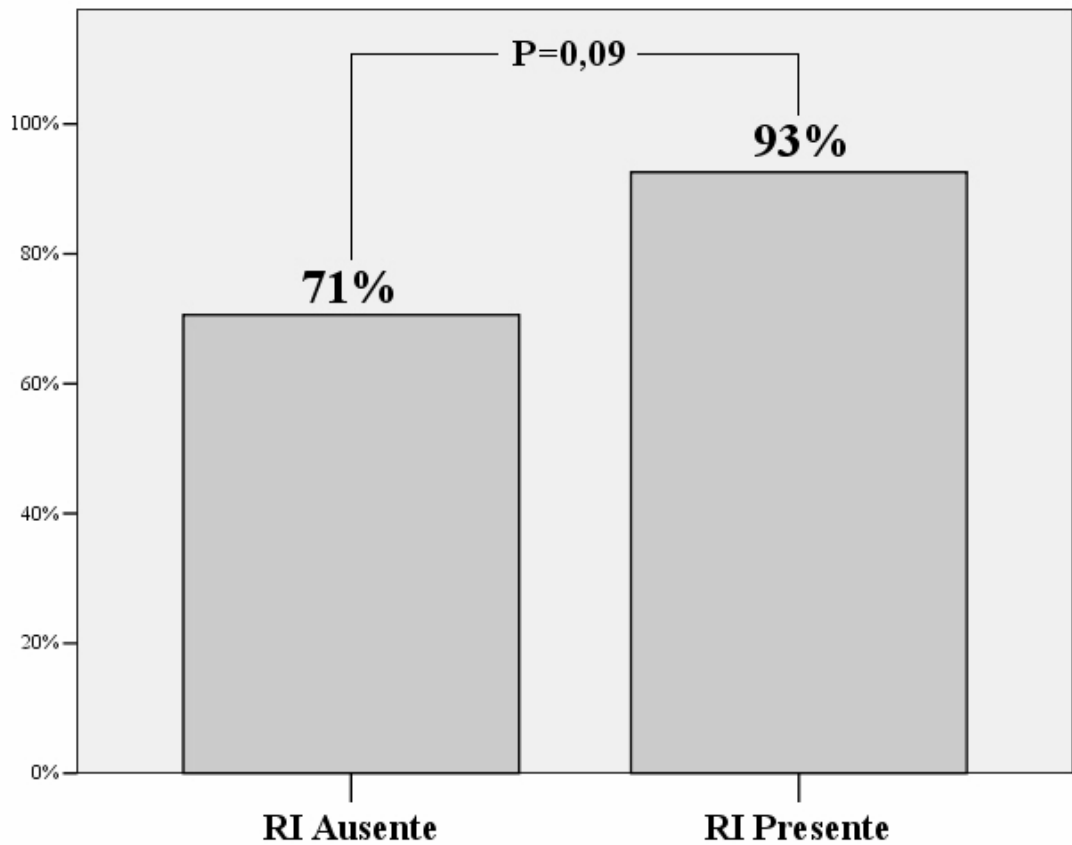


Figura 8 – Prevalência de EH de acordo com RI

Tabela 5 - Graus de esteatose na amostra global e de acordo com a RI

Grau de Esteatose	Amostra global (n=44)	Com RI (n=27)	Sem RI (n=17)
0 (< 5%)	7 (15,9%)	2 (7,4%)	5 (29,4%)
1 (5 – 33%)	28 (63,6%)	17 (63%)	11 (64,7%)
2 (33 – 66%)	7 (15,9%)	6 (22,2%)	1 (5,9%)
3 (> 66%)	2 (4,5%)	2 (7,4%)	0

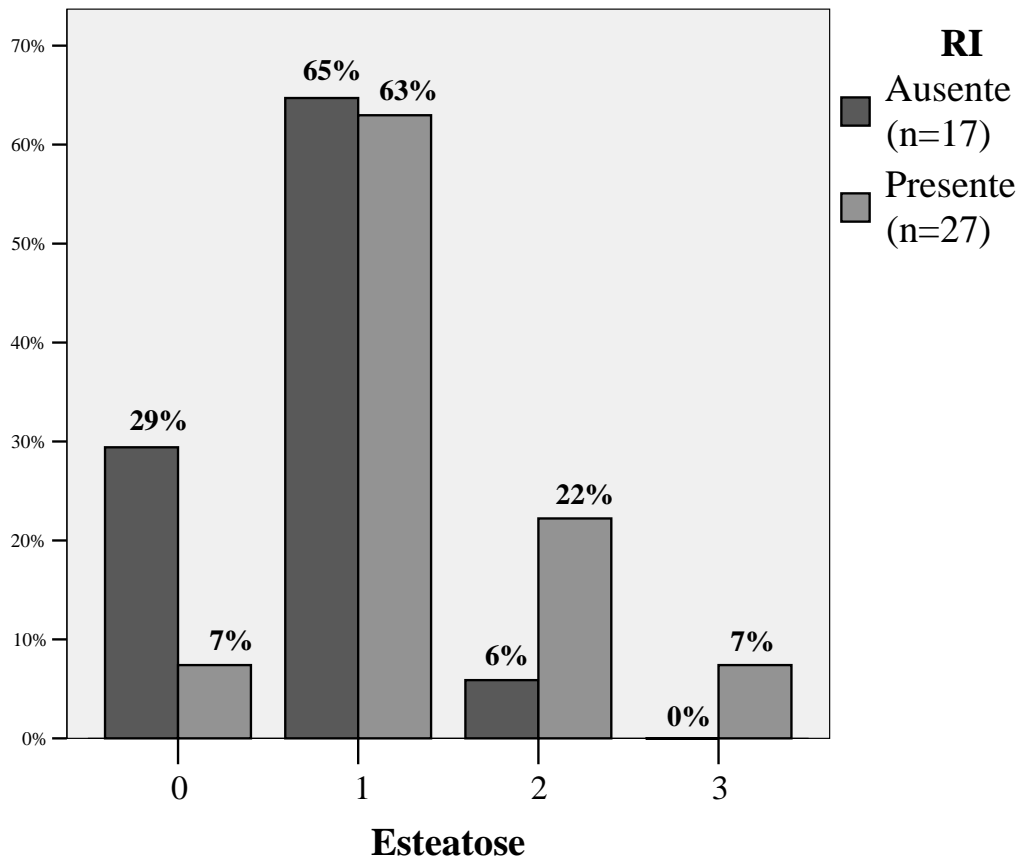


Figura 9 - Presença de EH em RI

5.5 Relação entre RI e FH na População Estudada

Dos 27 pacientes com RI estudados na presente casuística, verificou-se fibrose moderada ou intensa em 15 (56%). Dos 17 pacientes sem RI, por outro lado, verificou-se fibrose moderada ou intensa em 1 (6%), apresentando diferença estatisticamente significativa ($P < 0,01$). (Figura 10).

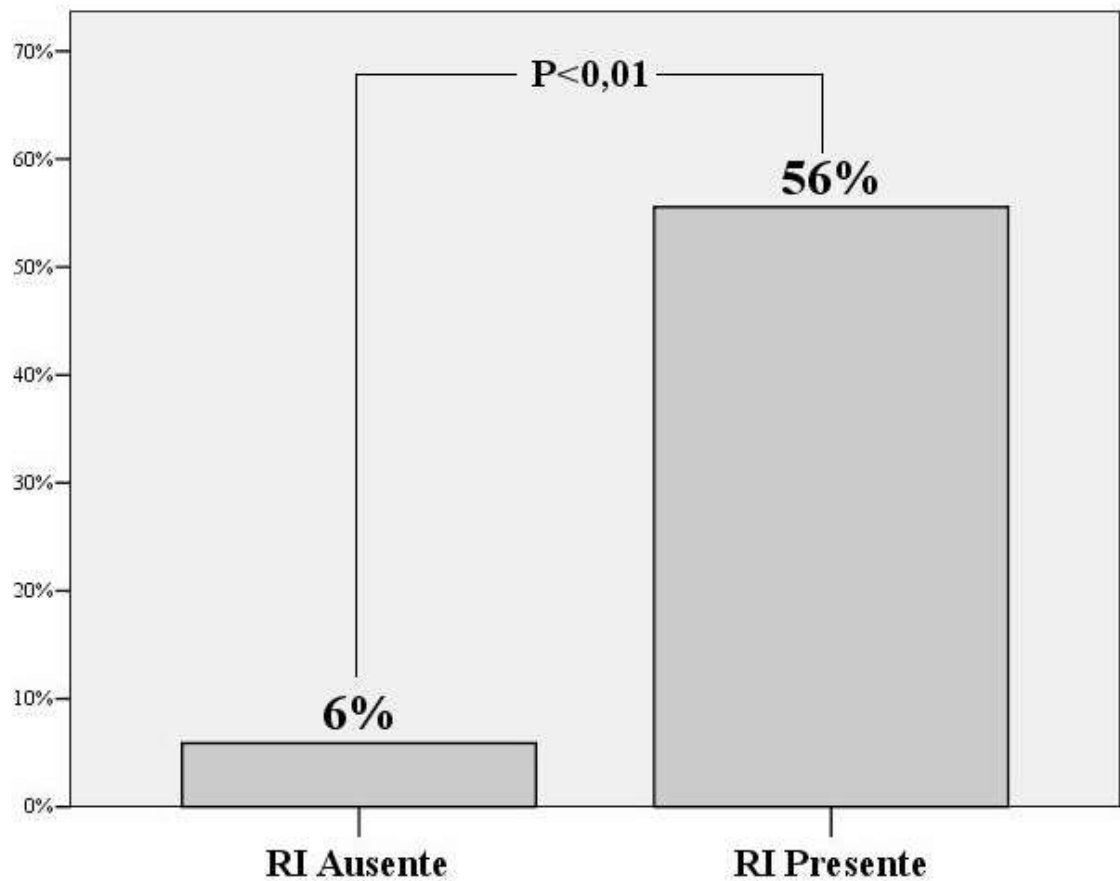


Figura 10: Presença de FH em RI

5.5 RELAÇÃO ENTRE RI E DADOS DEMOGRÁFICOS, LABORATORIAIS E HISTOLÓGICOS NA POPULAÇÃO ESTUDADA

A comparação entre os pacientes com e sem RI, quanto às suas características demográficas, laboratoriais e histológicas, encontra-se resumida na tabela 6.

Tabela 6 - Características demográficas, laboratoriais e histológicas em 44 pacientes portadores de hepatopatia crônica pelo vírus C, com e sem RI.

PARÂMETRO	Com RI (n= 27)	Sem RI (n= 17)	P
Genótipo 1 n (%)	15(55%)	8(47%)	0,81
Genótipo 3 n (%)	12 (44%)	9 (52,9%)	0,81
Sexo masculino n (%)	21 (77,8%)	9 (52,9%)	0,17
Idade em anos (média ± dp)	49,4 ± 9,3	44,5 ± 8,2	0,08
IMC (média ± dp)	25,5 ± 1,4	24,1 ± 2,1	0,01
ALT (média ± dp)	107± 51	100± 52	0,66
Colesterol total (média ± dp)	163± 27	157± 30	0,45
Colesterol LDL (média ± dp)	98 ± 22	84 ± 23	0,07
Colesterol HDL (média ± dp)	47± 11	53 ± 18	0,17
Triglicérides (média ± dp)	105± 38	92± 37	0,27
Carga viral log10 (média ± dp) *	6,1± 0,6	6,1± 0,6	0,7
Esteatose n (%)	25 (92,6%)	12 (70,6%)	0,09
Grau de esteatose (média ± dp)	1,3 ± 0,72	0,76 ± 0,56	0,01
Metavir F2/F3 n (%)	15 (55,6%)	1 (5,9%)	< 0,01
Grau de fibrose (média ± dp)	1,74± 1,29	0,82 ± 0,53	0,03
Grau de atividade (média ± dp)	1,67± 0,78	1,29 ± 0,92	0,09

*Dados disponíveis em 26/27 pacientes, com RI e em 13/17 sem RI

6 DISCUSSÃO

A hepatite C é problema de saúde pública mundial (1). Atualmente, considera-se que a RI está associada com DHGNA, porém seu papel na hepatite crônica C é menos compreendido. Vários estudos têm confirmado a associação entre os diferentes genótipos de pacientes infectados com VHC e EH (9,13,16), porém, ainda não está comprovada a relação entre RI e genótipos do VHC, existindo autores que encontraram maiores RI com genótipo 1 (49,85) e outros com genótipo 3 (96).

O trabalho de Fartoux e cols.(102) aumentou as evidências na relação entre VHC, EH e RI com o genótipo do vírus C. Estes autores observaram que pacientes infectados com o genótipo 3 tinham maior grau de EH, independente do IMC, do estágio da doença hepática e da presença ou ausência de DM. No entanto, paradoxalmente, não houve maior grau de RI nesses pacientes, indicando que o genótipo 3 pode não influenciar a patogênese desse processo de forma independente dos outros genótipos.

Além disso, o grau de EH nos pacientes infectados com genótipo 3 do VHC mantém relação com a carga viral, reforçando a possibilidade de a EH ser de origem “viral” e não “metabólica” nesses pacientes. Por sua vez, os níveis de VHC-RNA não se correlacionam com o grau de EH e RI em pacientes infectados com o genótipo 1 do VHC. Isso explicaria o fato de que pacientes com genótipo 3 costumam apresentar tendência maior para o desaparecimento da EH e RI quando ocorre o clareamento viral, após tratamento com IFN + RBV.

Nesses indivíduos com genótipo 1 do VHC, tem sido bem documentada a participação de fatores do hospedeiro, tais como idade, obesidade central, IMC e as alterações no metabolismo lipídico no desenvolvimento de EH e RI (103). Nesse sentido, a EH, em pacientes infectados com o genótipo 1, está cada vez mais sendo reconhecida como componente da Síndrome Metabólica (104), sendo a RI considerada como fator de risco independente para o desenvolvimento de EH nesses pacientes (102).

No presente estudo, utilizou-se o método HOMA, amplamente usado na literatura mundial (63), para determinar a RI, definida como $HOMA > 2$. Foram detectados RI em 27, dos 44 pacientes estudados (61,4%). No entanto, na casuística em foco, ao contrário da literatura, não houve diferença significativa entre o grau de RI encontrado nos pacientes com genótipo 1 versus genótipo 3 do VHC (65% versus 57%, $P > 0,05$). Esse fato pode estar relacionado tanto ao número de pacientes estudados quanto à seleção de pacientes sem fatores de risco para DHGNA, diminuindo, assim, a chance de encontrar maior grau de RI de origem “metabólica”.

Outro fator que pode ter contribuído na ausência de achado de diferença estatisticamente significativa no grau de RI, entre os genótipos do VHC, pode estar relacionado à menor carga viral do genótipo 3 em relação ao 1 encontrada nesta casuística ($5,9 \pm 0,5$ versus $6,3 \pm 0,6$; $P = 0,02$). Esse achado é relevante na medida em que a carga viral do VHC genótipo 3 tem sido relacionada a RI e EH, enquanto que a do genótipo 1 não. Desta maneira, pode ser aventada a possibilidade de que a análise de pacientes com carga viral mais elevada e genótipo 3 do VHC possa revelar maior prevalência de RI

Todavia, deve-se concluir que a ausência de relação significativa entre RI e genótipo do VHC, observada no presente estudo, reflete a controvérsia existente atualmente na literatura, lançando dúvida em relação à capacidade de dividir os pacientes com hepatite C em esteatose “metabólica” e “viral” apenas com base no genótipo do VHC.

Esse achado reforça a necessidade de se empregar teste específico para a detecção de RI, ao invés de se confiar simplesmente na determinação do genótipo do VHC como fator único na avaliação da patogênese da EH. Neste estudo, escolheu-se o teste HOMA-IR pela sua simplicidade e correlação comprovada com o CEH.

A importância de estabelecer o grau de RI em pacientes com hepatite crônica C reside no número cada vez maior de evidências indicando a importância desse achado na evolução clínica dos pacientes. De fato, em publicação recente (105), os autores concluíram que houve relação entre RI, EH e fibrose em pacientes com

hepatite crônica C, diminuindo inclusive a chance de RVS ao tratamento antiviral (35,36,47,65,83,106).

No estudo em foco, verificou-se associação entre RI e fibrose. De fato, na presente casuística, a fibrose intensa (F2 e F3 na classificação Metavir) foi significativamente maior nos 27 pacientes com RI em comparação com os 17 pacientes sem RI (56% versus 6%, respectivamente; $P < 0,01$). Esse achado vem ao encontro das publicações mais recentes encontradas na literatura médica, indicando que hiperinsulinemia leva à proliferação das células estelares e aumento da expressão do fator de crescimento do tecido conectivo, fator chave para a fibrose hepática (107).

Os dados atuais indicam, portanto, que ambos, EH e RI atuam conjuntamente para a progressão da doença em pacientes portadores de hepatite crônica C, reforçando a importância da determinação da RI em pacientes com infecção crônica pelo VHC, pois sua correção farmacológica poderia diminuir a fibrose hepática e aumentar a RVS ao tratamento antiviral (49,102,104,105,107,108).

Nesse sentido, Lonardo e cols.(94) mostraram melhora da EH após tratamento farmacológico da RI, indicando que esta deva ser causa e não consequência da EH.

Alguns autores relacionam a fibrose hepática na hepatite C ao gênero masculino (109). No presente estudo, foi observado maior tendência à fibrose significativa (F2 e F3 na classificação Metavir) em pacientes do sexo masculino versus feminino (47% versus 14%, respectivamente). O pequeno número de pacientes estudados impede a realização de análise multivariada para determinar se esse fator de risco para fibrose foi independente da EH e RI nesta casuística.

Os mecanismos pelos quais o VHC desenvolve RI e EH ainda não estão totalmente esclarecidos. Neste trabalho, não foi realizada pesquisa dos fatores causais de RI em pacientes infectados pelo VHC. No entanto, o fato de se haver encontrado prevalência tão elevada de RI (61%) e EH (84%), mesmo selecionando pacientes sem fatores de risco para síndrome metabólica, permite considerar que

realmente deva existir relação específica entre a infecção crônica pelo VHC e distúrbios profundos no metabolismo da glicose.

Sabe-se que a EH, nos pacientes infectados com o VHC, tem predominantemente a forma macrovesicular. As características histológicas encontradas em biópsias de pacientes com VHC podem ser difíceis de definir em pacientes com superposição de outras hepatopatias, tais como a ingestão excessiva de bebidas alcoólicas, DM, uso de drogas hepatotóxicas, EHNA e hepatite B (110). Neste estudo, evitaram-se esses possíveis fatores de confusão por meio da exclusão de pacientes com essas co-morbidades.

Baseado em estudos de imagem e de autópsias, estima-se que 20% a 30% dos adultos nos Estados Unidos são portadores de EH (85). Wanless & Lentz encontraram EH em 70% dos obesos e em 35% de não-obesos em estudo de autópsias (111).

Em pacientes com hepatite crônica C, a EH é achado freqüente, ocorrendo em cerca de 30% a 90% dos casos (31,34,49,51,85,112,113,114,115). Nesse sentido, Ramesch e cols.(34) encontraram 50% de EH em pacientes consecutivos não selecionados com infecção crônica pelo VHC. Da mesma forma, Camma e cols.(49), avaliando pacientes europeus com hepatite crônica C genótipo 1, não-diabéticos e sem fatores de risco para Síndrome Metabólica, encontraram EH em 60% dos casos, sendo a maioria com EH leve, porém alguns com EH moderada ou intensa (38% versus 19%, respectivamente). Em publicação recente, Antunez e cols.(114) verificaram EH em 89%, de um grupo de 46 pacientes com hepatite crônica C, infectados com o genótipo 1 foi de 67%, sendo 63% na forma leve e 19% nas formas moderada ou intensa.

No presente estudo, encontrou-se EH em 37, dos 44 pacientes estudados (84%), mesmo selecionando indivíduos sem fatores de risco para DHGNA. Apesar da alta prevalência de EH encontrada nesta casuística, deve-se ressaltar que, dentre os casos com EH, a maioria foi classificada como leve (76%), sendo menos freqüente o achado de EH moderada (19%) ou intensa (5%). A maior freqüência de EH leve, no presente estudo, está de acordo com os achados relatados por Camma e cols.(49) e Antunez e cols.(114).

Dos 27 pacientes com RI estudados na presente casuística, verificou-se EH em 25 (93%). Por sua vez, dentre os 17 pacientes sem RI, verificou-se EH em 12 (71%) ($P=0,09$). A relação entre RI e EH fica mais evidente quando se comparam os 37 pacientes com EH versus os 7 sem EH, encontrando RI em 68% versus 29%, respectivamente. Além disso, a média do teste HOMA foi maior nos 37 pacientes com EH versus 7 pacientes sem EH ($2,9 \pm 1,62$ versus $1,73 \pm 0,89$; $P=0,074$). O fato de não ter sido encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos, apesar da forte tendência, pode estar relacionado ao tamanho da amostra ou à seleção de pacientes sem fatores de risco para síndrome metabólica.

Quando comparada a RI entre os genótipos 1 e 3 do VHC, a diferença não foi estatisticamente significativa (65% versus 57%, respectivamente). Estes dados estão de acordo com os encontrados em alguns trabalhos publicados na literatura mundial (49,103). No entanto, deve-se ressaltar que houve correlação positiva entre o grau de RI e EH em ambos os genótipos, sendo considerada estatisticamente significativa no genótipo 3 ($P<0,001$). Além disso, a média do teste HOMA foi maior nos pacientes com genótipo 3 versus 1 ($2,8 \pm 1,75$ versus $2,63 \pm 1,46$ respectivamente). Embora sem atingir diferença estatisticamente significativa, estes achados, analisados em conjunto, são realmente intrigantes, levando a pensar que pode realmente existir papel específico do genótipo 3 na gênese da RI e EH.

Alguns autores, por outro lado, encontraram maior grau de RI em pacientes infectados pelo genótipo 1(104), porém não selecionaram pacientes sem fatores de risco para síndrome metabólica. Nesta amostra, ao contrário, excluíram-se os portadores de DM, dislipidemia e obesidade, justificando, pelo menos teoricamente, as diferenças encontradas.

De fato, na amostra global deste trabalho, o IMC foi de 25 com um desvio padrão de mais ou menos 1,8, sem diferença estatisticamente significativa entre os genótipos 1 e 3 do VHC. Como o IMC é considerado fator de risco independente para EH e RI, especialmente em pacientes com hepatite crônica C genótipo 1 (9,41,109,115), a exclusão desse fator de risco deve ter diminuído a prevalência de EH e RI neste grupo.

No presente estudo, detectou-se alta prevalência de RI e EH. Não houve correlação estatisticamente significativa entre RI e genótipo 1 ou 3 do VHC. Também não houve correlação significativa entre RI e EH, apesar de forte tendência. Deu-se, no entanto, associação entre RI e fibrose hepática. Esse achado indica que a presença de RI, determinada pelo método HOMA, foi capaz de identificar subgrupo de pacientes com maior dano hepático. Apesar de não estar ainda definido se a patogênese da RI é “metabólica” ou “viral”, sua importância na evolução da hepatite crônica C está cada vez mais comprovada. Por estes achados, em conjunto com os descritos na literatura médica atual, verifica-se que a RI não pode mais ser ignorada nos algoritmos de manejo da hepatite C. Espera-se que esse e outros estudos futuros contribuam para o melhor entendimento das complexas relações existentes entre o VHC e o hospedeiro, permitindo elucidar os mecanismos envolvidos na progressão da doença e na dificuldade da erradicação deste agente infeccioso, que constitui, atualmente, um dos maiores problemas de saúde pública em nível mundial.

7 CONCLUSÕES

7.1 Encontrou-se RI em 61% dos 44 pacientes com hepatite crônica C sem fatores de risco para DHGNA. O grau de RI em pacientes, infectados com genótipo 1 versus genótipo 3 do VHC, não foi estatisticamente diferente, tanto no que diz respeito à prevalência (65% versus 57%, respectivamente) quanto à magnitude (2,6 versus 2,8, respectivamente).

7.2 Quanto à relação entre RI e EH nestes pacientes, verificou-se correlação positiva, havendo RI em 68% dos pacientes com EH versus 29% dos sem EH, sem atingir, no entanto, diferença estatisticamente significativa.

7.3 Ao analisar a relação entre RI e fibrose hepática, houve diferença estatisticamente significativa na presente casuística, sendo encontrada maior prevalência de fibrose intensa (F2 e F3 na classificação Metavir) nos 27 pacientes com RI em comparação com os 17 pacientes sem RI (56% versus 6%, respectivamente, $P < 0,01$).

REFERÊNCIAS

1. The Global Burden of Hepatitis C Working Group. Global burden of disease (GBD) for hepatitis C. *J Clin Pharmacol*. 2004; Jan ;44(1):20-9.
2. Ahmed A, Keeffe EB. Hepatitis C virus and liver transplantation. *Clin Liver Dis* 2001; 5: 1073-1077.
3. Alberti A, Chemello L, Benvegnú L. Natural history of hepatitis C. *J Hepatol* 1999; 31 (Suppl. 1): 17-24.
4. NIH Consensus Development Conference Statement: Management of Hepatitis C: 2002. *Hepatology* 2002; 36: S3-S20.
5. Strader DB, Wright T, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C. *Hepatology* 2004; 39: 1147-1171.
6. McCullough AJ, Falck-Ytter Y. Body composition and hepatic steatosis as precursors for fibrotic disease. *Hepatology* 1999; 29: 1328-1330.
7. Hourigan LF, MacDonald GA, Purdie D, et al. Fibrosis in chronic hepatitis C correlates significantly with body mass index and steatosis. *Hepatology* 1999; 29: 1215-1219.
8. Zaitoun AM, Al Mardini H, Awad S, et al. Quantitative assesment of fibrosis and steatosis in liver biopsies from patients with chronic hepatitis C. *J Clin Pathol* 2001; 54: 461-465.
9. Adinolfi LE, Cambardella M, Adreana A, et al. Steatosis accelerates the progression of liver damage of chronic hepatitis C patients and correlates with specific HCV genotype and visceral obesity. *Hepatology* 2001; 33: 1358-1364.
10. McCullough AJ. Obesity and its nurturing effect on hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38:557-559.
11. Zeuzen S. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of chronic hepatitis C in previously untreated patients infected with HCV genotypes 2 or 3. *J Hepatol* 2004; 40: 993-999.
12. Bressler BL, Guindi M, Tomlinson G, Heathcote J. High body mass index is an independent risk factor for nonresponse to antiviral treatment in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38: 639-644.
13. Poynard T, Ratziu V, McHutchison J, et al. Effect of treatment with peginterferon or interferon alfa-2b and ribavirin on steatosis in patients infected with hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38: 75-85.

14. McCullough AJ. Steatosis and hepatitis C. American Association for the Study of Liver Diseases, Post-Graduate Course. Liver disease in the 21st century: clinico-pathologic correlates. Boston, USA. 2003: 82-89.
15. Westin J, Nordlinger H, Lagging M, et al. Steatosis accelerates fibrosis development over time in hepatitis C virus genotype 3 infected patients. *J Hepatol* 2002; 37: 837-842.
16. Romero-Gómez M, Castellano-Megias VM, Grande L, et al. Serum leptin levels correlate with hepatic steatosis in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1135-1141.
17. Testino G. Steatosis and hepatitis C *Recenti Prog Med.* 2005; Dec;96(12):621-33; quiz 654. Review. Italian.
18. Caronia S, Taylor K, Pagliaro L, et al. Further evidence for an association between non-insulin-dependent diabetes mellitus and chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 1999; 30: 1059-1065.
19. Petit JM, Bour JB, Galland-Jos C, et al. Risk factors for diabetes mellitus and early insulin resistance in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2001; 35: 279-287.
20. Duong M, Petit JM, Piroth L, et al. Association between insulin resistance and hepatitis C virus chronic infection in HIV-hepatitis C virus-coinfected patients undergoing antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2001; 27(3): 245.
21. Delgado-Borrego A, Casson D, Schoenfeld D, et al. *Transplantation* 2004; 77: 703-710.
22. *GUT* 2006 – Asselah Volume 55(1), January 2006; pp 123-130).
23. Murray R, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper: Bioquímica. 8ª ed. São Paulo, Atheneu, 1998.
24. McCullough AJ. The Clinical features, diagnosis and natural history of nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis.* 2004; Aug;8(3):521-33,Review.
25. Ruhl CE, Everhart JE. Epidemiology of nonalcoholic fatty liver. *Clin Liver Dis.* 2004; Aug,8(3):501-19, Review.
26. Sheth SG, Gordon FD, Chopra, S. Nonalcoholic Steatohepatitis. *Ann Intern Med,* 1997; 126: 137-145.
27. Hautekeete ML, Degott C, Benhamou JP. Microvesicular steatosis of the liver. *Acta Clin Belg.* 1990;45(5):311-26.
28. Bacon BR, Farahvash MJ, Janney CG, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: an expanded clinical entity. *Gastroenterology* 1994; 107: 1103-1109.
29. Steenbergen WV, Lanckmans S. Liver disturbances in obesity and diabetes mellitus. *I J Obesity,* 1995; 19: 27-36.

30. Scheuer PJ, Ashrafzadeh P, Sherlock S, et al. The pathology of hepatitis C. *Hepatology* 1992; 15: 567-571.
31. Patel K, Zekry A, MchHutchison JG. Steatosis and Chronic Hepatitis C Virus Infection: Mechanisms and Significance. *Clin Liver Dis* 9 (2005)- 399-410.
32. Younossi ZM, McCullough AJ, Ong JP, et al. Obesity and non-alcoholic fatty liver disease in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2003; 124: A745.
33. Charlton MR, Pockros PJ, Harrison SA. Impact of obesity on treatment of chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2006; Jun;43(6):1177-86. Review.
34. Ramesh S, Sanyal AJ: Hepatitis C and Nonalcoholic Fatty Liver Disease; *Seminars in Liver Disease*, vol 24, number 4, 2004.
35. Camma C, Bruno S, Di Marco V, Di Bona D, Rumi M, Vinci M, Rebucci C, Cividini A, Pizzolanti G, Minola E, Mondelli MU, Colombo M, Pinzello G, Craxi A. Insulin resistance is associated with steatosis in nondiabetic patients with genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2006; Jan;43(1):64-71.
36. Harrison SA. Steatosis and chronic hepatitis C infection: mechanisms and significance. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2005; Oct;3(10 Suppl 2):S92-6.
37. Mundt B, Wirth T, Zender L, Waltemathe M, Trautwein C, Manns MP, Kuhnel F, Kubicka S. Tumour necrosis factor related apoptosis inducing ligand (TRAIL) induces hepatic steatosis in viral hepatitis and after alcohol intake. *Gut*. 2005; Nov; 54(11):1590-6.
38. Marchesini G, Babini M. Nonalcoholic fatty liver disease and the metabolic syndrome. *Minerva Cardioangiol*. 2006; Apr;54(2):229-39. Review.
39. Livingston SE, Deubner H, McMahon BJ, Bruden D, Christensen C, Hennessy TW, Bruce MG, Sullivan DG, Homan C, Williams J, Gretch DR. Steatosis and hepatitis C in an Alaska Native/American Indian population. *Int J Circumpolar Health*. 2006; Jun;65(3):253-60.
40. Lonardo A, Loria P, Adinolfi LE, Andreana A, Ruggiero G, Carulli N. Hepatitis C virus-associated and metabolic steatosis. Different or overlapping diseases? *Ann Ital Med Int*. 2005; Jan-Mar; 20(1):10-22.
41. Hui JM, Kench J, Farrell GC, Lin R, Samarasinghe D, Liddle C, Byth K, George J, Genotype-specific mechanisms for hepatic steatosis in chronic hepatitis C infection. *Gastroenterology Hepatol*. 2002; Aug;17(8):873-81.
42. Grassi A, Ballardini G, Susca M, Bianchini F, Bonoli S, Bianchi FB, Lenzi M. HCV liver infection and liver steatosis: evidence for indirect mechanisms in genotype 3? *Aliment Pharmacol Ther*. 2005; Nov;22 Suppl 2:79-82.
43. Kumar D, Farrell GC, Fung C, George J. Hepatitis C virus genotype 3 is cytopathic to hepatocytes: reversal of hepatic steatosis after sustained therapeutic response. *Hepatology* 2002;36:1266-1272.

44. Castera L, Hezode C, Roudot-Thoraval F, et al. Effect of antiviral treatment on evolution of liver steatosis in patients with chronic hepatitis C: indirect evidence of a role of hepatitis C virus genotype 3 in steatosis. *Gut* 2004; 53: 420-424.
45. Eguchi Y, Eguchi T, Mizuta T, Ide Y, Yasutake T, Iwakiri R, Hisatomi A, Ozaki I, Yamamoto K, Kitajima Y, Kawaguchi Y, Kuroki S, Ono N. Visceral fat accumulation and insulin resistance are important factors in nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol*. 2006; May;41(5):462-9.
46. Bondini S, Younossi ZM. Non-alcoholic fatty liver disease and hepatitis C infection. *Minerva Gastroenterol Dietol*. 2006; Jun;52(2):135-43. Review.
47. Zekry A, McHutchison JG, Diehl AM: Insulin Resistance and steatosis in hepatitis C virus infection; *Gut* 2005;54: 903-906.
48. Ferrannini KS, Sturis A, Bell P et al. Insulin resistance and hypersecretion in obesity. *J Clin Invest* 1992: 100:1166-1173.
49. Camma C, Bruno S, Di Marco V, Di Bona D, Rumi M, Vinci M, Rebucci C, Cividini A, Pizzolanti G, Minola E, Mondelli MU, Colombo M, Pinzello G, Craxi A. Insulin resistance is associated with steatosis in nondiabetic patients with genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2006; Jan;43(1):64-71.
50. Sanyal AJ. Review article: non-alcoholic fatty liver disease and hepatitis C risk factors and clinical implications. *Aliment Pharmacol Ther*. 2005; Nov;22 Suppl 2:48-51. Review.
51. Leandro G, Mangia A, Hui J, Fabris P, Rubbia-Brand L, Colloredo G, Adinolfi LE, Asselah T, Jonsson JR, Smedile A, Terrault N, Paziienza V, Giordani MT, Giostra E, Sonzogni A, Ruggiero G, Marcellin P, Powell EE, George J, Negro F, HCV Meta-Analysis (on) Individual Patients Data Study Group. Relationship between steatosis, inflammation and fibrosis in chronic hepatitis C: meta-analysis of individual patient data. *Gastroenterology*. 2006; May; 130(6): 1636-42.
52. Pelletier SJ, Iezzoni JC, Spencer CE, et al. Prediction of liver allograft fibrosis after liver transplantation for hepatitis C. *Liver Transpl* 2000; 6: 44-53.
53. Hickman IJ, Clouston AD, MacDonald GA, et al. Effect of weight reduction on liver histology and biochemistry in patients with chronic hepatitis C. *Gut* 2002;51:89-94.
54. Okuda M, Li K, Beard MR, et al. Mitochondrial injury, oxidative stress, and antioxidant gene expression are induced by hepatitis C virus core protein. *Gastroenterology* 2002;122:366-375.
55. LeClerq IA, Farrell GC, Schreimer R, Robertson GR. Leptin is essential for the hepatic fibrogenic response to chronic liver injury. *J Hepatol* 2002;37:206-213.
56. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, et al. Non-alcoholic fatty liver disease: spectrum of clinical and pathophysiological severity. *Gastroenterology* 1999; 116: 1413-1419.

57. Gao B, Hong F, Radaeva S. Host factors and failure of interferon- treatment in hepatitis C virus. *Hepatology* 2004; 39: 880-890.
58. Bugianesi E, McCullough AJ, Marchesini G. Insulin resistance: a metabolic pathway to chronic liver disease. *Hepatology*. 2005;42:987-1000).
59. American Diabetes Association. Conference development on insulin resistance. *Diabetes Care* 1998;21:310-4.
60. Geloneze B, Tambascia MA; Avaliação Laboratorial e Diagnóstico da Resistência Insulínica. *Arq. Bras. Endocrinol Metab* vol.50 número 2 São Paulo Apr.2006.
61. Matsuhisa M, Yamasaki Y, Emoto M, Shimabukuro M, Funahashi T, Matsuzawa Y. A novel index of insulin resistance determined from the homeostasis model assessment index and adiponectin levels in Japanese subjects. *Diabetes Res Clin Pract*. 200; 6 Oct 31.
62. DeFronzo R, Tobin J, Andres R. Glucose clamp technique: A method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol* 1979;237:E214-23.
63. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care* 2004; 27: 1487-1495.
64. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28: 412-419.
65. Romero-Gómez M, Vilorio MM, Corpas R, et al. Insulin resistance, fibrosis and genotype are predictors of sustained response rate to pegylated interferon plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C (Abstract). *J Hepatol* 2004; 40: 150.
66. Emoto M, Nishizawa Y, Maekawa K, Hiura Y, Kanda H, Kawagishi T, Okuno Y, Morii H: Homeostasis model assessment as a clinical index of insulin resistance in type 2 diabetic patients treated with sulfonylureas. *Diabetes Care* 22:818- 822, 1999.
67. Pereira JA, Lazarin MACT, Carvalho OMF, Pareja JC, Geloneze B, Chain EA, et al. Evaluation of insulin sensitivity in morbid obese patients due to euglycemic hyperinsulinemic clamp. *Arq Bras Endocrinol Metab* 1999;43(suppl. 2):S60.
68. Bonora E, Targher G, Alberiche M, Bonadonna RC, Saggiani F, Zenere MB, et al. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity. *Diabetes Care* 2000; 23:57-63.
69. Farrell GC, Fiatarone JR, Coverdale SA. Non-alcoholic steatohepatitis: impaired antipyrine metabolism and hypertriglyceridaemia may be clues to its pathogenesis. *J Gastroenterol Hepatol*. 1991; 6:585-590.
70. Kakuma T, Lee Y, Higa M, et al. Leptin, troglitazone, and the expression of sterol regulatory element binding proteins in liver and pancreatic islets. *Proc Natl Acad Sci* 2000; 97: 8536-8541.

71. Romero-Gomez M, Del Mar Vilorio M, Andrade RJ, Salmeron J, Diago M, Fernandez-Rodriguez CM, et al.. Insulin resistance impairs sustained response rate to peginterferon plus ribavirin in chronic hepatitis C patients. *Gastroenterology*. 2005;128:636-641.
72. Konrad T, Zeuzem S, Vicini P, Toffolo G, Briem D, Lormann J, et al.. Evaluation of factors controlling glucose tolerance in patients with HCV infection before and after 4 months therapy with interferon-alpha. *Eur J Clin Invest*. 2000;30:111-121).
73. Neuschwander-Tetri BA, Brunt EM, Wehmeier KR, Oliver D, Bacon BR. Improved nonalcoholic steatohepatitis after 48 weeks of treatment with the PPAR- γ ligand rosiglitazone. *Hepatology* 2003; 38: 1008-1017.
74. Allison ME, Wreghitt T, Palmer CR, et al. Evidence for a link between hepatitis C virus infection and diabetes mellitus in a cirrhotic population. *J Hepatol* 1994; 21: 1135-1141.
75. Mason AL, Lau JYN, Hoang N, Qian K, Alexander GJ, Xu L, et al.. Association of diabetes mellitus and chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology*. 1999;29:328-333).
76. Gray A, Wreghitt T, Stratton IM, Alexander GJ, Turner RC, O'Rahilly S. High prevalence of hepatitis C infection in Afro-Caribbean patients with type 2 diabetes and abnormal liver function tests. *Diabet Med*. 1995;12:244-249.
77. Knobler H, Stagnaro-Green A, Wallenstein S, et al.. Higher incidence of diabetes in liver transplant recipients with hepatitis C. *J Clin Gastroenterol*. 1998;26:30.
78. Baid S, Cosimi AB, Farrell ML, Schoenfeld DA, Feng S, Chung RT, et al.. Posttransplant diabetes mellitus in liver transplant recipients: risk factors, temporal relationship with hepatitis C virus allograft hepatitis, and impact on mortality. *Transplantation*. 2001;72:1066-1072.
79. Khalili M, Lim JW, Bass N, Ascher NL, Roberts JP, Terrault NA. New onset diabetes mellitus after liver transplantation: the critical role of hepatitis C infection. *Liver Transplant*. 2004;10:349-355.
80. Powell EE, Cooksley WG, Hanson R, et al. The natural history of nonalcoholic steatohepatitis: a follow-up study of forty-two patients for up to 21 years. *Hepatology* 1990; 11: 74-80.
81. Banerjee S, Banerjee M. Hepatitis C and diabetes mellitus. *J Indian Med Assoc*. 2006; Feb;104(2):86-9. Review.
82. Bonora E, Targher G, Alberichie M, Bonadonna RC, Saggianni F, Zenere MB, Monaun T, Muggeo M: Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity. *Diabetes Care* 23:57-63, 2000.
83. Castera L. Steatosis, insulin resistance and fibrosis progression in chronic hepatitis C. *Minerva Gastroenterol Dietol*. 2006 Jun;52(2):125-34. Review.

84. Durante-Mangoni E, Zampino R, Marrone A, Tripodi MF, Rinaldi L, Restivo L, Cioffi M, Ruggiero G, Adinolfi LE. Hepatic steatosis and insulin resistance are associated with serum imbalance of adiponectin/tumour necrosis factor-alpha in chronic hepatitis C patients. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006; Nov 1;24(9):1349-57.
85. Asselah T, Rubbia-Brandt L, Marcellin P, Negro F: Steatosis in chronic hepatitis C: Why does it really matter? *Gut* 2006, 55:123-130.
86. Harrison SA. Correlation between insulin resistance and hepatitis C viral load. *Hepatology.* 2006;43:1168.
87. Sanyal AJ, Chand N, Comar K, Mirshahi F. Hyperinsulinemia blocks the inhibition of hepatitis C virus (HCV) replication by interferon: a potential mechanism for failure of interferon therapy in subjects with HCV and nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2004;40:179A.
88. Romero-Gómez M. e cols; *Gastroenterology* - March de 2005, volume 128 - number 3.
89. Romero-Gómez M, Insulin Resistance and hepatitis C. *World J Gastroenterol* 2006 November 28;12(44):7075-80.
90. Kawaguchi T, Yoshida T, Harada M, Hisamoto T, Nagao Y, Ide T, et al.. Hepatitis C virus down-regulates insulin receptor substrates 1 and 2 through up-regulation of suppressor of cytokine signalling 3. *Am J Pathol.* 2004;165:1499-1508.
91. Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, Tsutsumi T, Tsukamoto K, Kimura S, et al.. Hepatitis C virus infection and diabetes: direct involvement of the virus in the development of insulin resistance. *Gastroenterology.* 2004;126:840-848.
92. Knobler H, Schatter A. TNF- α , chronic hepatitis C and diabetes: a novel triad. *Q J Med.* 2005;98:1-6.
93. Younossi ZM, Diehl AM, Ong JP. Nonalcoholic fatty liver disease: An agenda for clinical research. *Hepatology* 2002; 35: 746-52.
94. Lonardo A, Lombardini S, Ricchi M, Scaglioni F, Loria P. Review article: steatosis and insulin resistance: *Aliment Pharmacol Ther.* 2005; Nov; 22:64-70.
95. Muzzi A, Rubbia-Brandt L, Leandro G, James R, Keiser O, Malinverni R, et al.. Insulin resistance is associated with liver fibrosis in non-diabetic chronic hepatitis C patients. *J Hepatol.* 2005;42:39-44 .
96. Gottardi A, Paziienza V, Pugnale P, Bruttin F, Rubbia-Brandt L, Juge-Aubry CE, et al.. Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and -gamma mRNA levels are reduced in chronic hepatitis C with steatosis and genotype 3 infection. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006;23:107-114.
97. Chitturi S, Abeygunasekera S, Farrell GC, Holmes-Walker J, Hui JM, Fung C, Karim R, Lin R, Samarasinghe D, Liddle C, Weltman M, George J. NASH and insulin resistance: Insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance syndrome. *Hepatology.* 2002; Feb;35(2):497-9.

98. Lecube A, Hernández C, Genescà J, Simó R, Proinflammatory Cytokines, Insulin Resistance, and Insulin Secretion in Chronic Hepatitis C patients. *Diabetes Care* 29:1096-1101,2006.
99. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 1987; 162: 156-159.
100. McOmish F, Yap PL, Dow BC, Follet EAC, Seed C, Keller AJ, et al. Geographical distribution of hepatitis C virus genotypes in blood donors: an international collaborative survey. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 884-892.
101. Brunt EM, Janney CG, DiBisceglie AM, et al. NASH: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2467-2474.
102. Fartoux L, Poujol-Robert A, Guéchat J, et al. Insulin resistance is a cause of steatosis and fibrosis progression in chronic hepatitis C. *Gut* 2005, 54:1003-8).
103. Keyur P, A Zekry, John G M, Steatosis and Chronic Hepatitis C Virus Infection: Mechanisms and Significance. *Clin Liver Dis* 9 (2005) 399-410.
104. A Zekry, JG Mchutchison, AM Diehl. *Gut* 2005;54:903-906. Insulin resistance and steatosis in hepatitis C virus infection.
105. Romero-Gómez M. Hepatitis C and insulin resistance: steatosis, fibrosis and non-response. *Rev Esp Enferm Dig.* 2006; Aug;98(8):605-615. Spanish, English.
106. Mindikoglu AL, Regev A, Casanova-Romero PY, Bejarano PA, Martinez EJ, Tzakis AG, Schiff ER. The impact of nonalcoholic fatty liver disease and the metabolic syndrome on progression of fibrosis in patients with recurrent HCV after liver transplantation. *Transplant Proc.* 2006; Jun;38(5):1440-4.
107. Hui JM, Sud A, Farrell GC, et al. Insulin resistance is associated with chronic hepatitis C and virus infection fibrosis progression. *Gastroenterology* 2003;125:1695-705.
108. Perumalswami P, Kleiner DE, Lutchman G, Heller T, Borg B, Park Y, Liang TJ, Hoofnagle JH, Ghany MG. Steatosis and progression of fibrosis in untreated patients with chronic hepatitis C infection. *Hepatology.* 2006; Apr;43(4):780-7.
109. Cholet F, Noursbaum JB, Richecoeur M, Oger E, Cauven JM, Lagarde N, Robaszkiewicz M, Gouerou H. Factors associated with liver steatosis and fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Gastroenterol Clin Biol.* 2004 Mar;28(3):272-8.
110. Lefkowitz JH, Schiff ER, Davis GL, et al. Pathological diagnosis of chronic hepatitis C: a multicenter comparative study with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 1993;104: 595-603.
111. Wanless IR, Lentz JS. Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: an autopsy with analysis of risk factors. *Hepatology* 1990;12:1106-10.

112. Szanto P, Grigorescu M, Dumitru I, Serban A. Steatosis in hepatitis C virus infection. Response to anti-viral therapy. *J Gastrointest Liver Dis.* 2006 Jun;15(2):117-24.
113. Guidi M, Muratori P, Granito A, Muratori L, Lenzi M, Bianchi FB. Steatosis in chronic hepatitis C. *Gut.* 2006 Jul;55(7):1047; author reply 1047-8.
114. Antunez I, Aponte N, Fernandez-Carbia A, Rodriguez-Perez F, Toro DH. Steatosis as a predictive factor for treatment response in patients with chronic hepatitis C. Department of Medicine, Gastroenterology Section, Veterans Affairs Medical Center, San Juan, Puerto Rico.
115. Rubbia-Brandt L, Fabris P, Paganin S, Leandro G, Male PJ, Giostra E, Carlotto A, Bozzola L, Smedile A, Negro F. Steatosis affects chronic hepatitis C progression in a genotype specific way. *Gut.* 2004;Mar; 53(3): 406-12.

Apêndices

Apêndice A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

GRAU DE RESISTÊNCIA À INSULINA EM PACIENTES COM HEPATITE CRÔNICA C E ESTEATOSE HEPÁTICA INFECTADOS PELO GENÓTIPO 1 VERSUS GENÓTIPO 3

Identificação do Paciente

< Voluntário/Paciente > nome completo em LETRAS MAIUSCULAS:

Identificação do Médico do Estudo

Dr. Hugo Cheinquer: Tel 3346 2890; Cel 9981 6760

Dr. Décio Passos Sampaio Péres: Tel 3388 3455 Cel 9808 5499

1. Convite para participar

Você está sendo convidado para participar de um estudo de pesquisa.

Antes de você concordar em participar deste estudo, é importante que você entenda sobre o que é o estudo. Por favor, leia esta informação cuidadosamente e faça todas as perguntas que você possa ter.

2. Propósito do estudo

“Alguns pacientes com hepatite C crônica têm aumento no depósito de gordura no fígado, chamado de “esteatose hepática”. O mecanismo dessa alteração ainda é desconhecido, porém acredita-se que possa estar associada ao fenômeno denominado “resistência à insulina”, parecido com a situação que ocorre em pacientes diabéticos ou obesos. Esse achado pode ter importância clínica, pois já existem estudos indicando que a esteatose (gordura no fígado) atrapalha o tratamento da hepatite C. O propósito deste estudo é descobrir se existe relação entre a quantidade de gordura no fígado e a resistência à insulina em pacientes com genótipo 1 e 3 do vírus C. Espera-se que o conhecimento dessa associação possa aumentar as chances de resposta ao tratamento da hepatite C no futuro, com o uso de medicamentos que combatam a resistência à insulina.

3. Número aproximado de participantes e duração esperada de sua participação no estudo

O número de pacientes previsto nesta pesquisa é de cerca de 48 pacientes, sendo 24 com genótipo 1 e 24 com genótipo 3. A duração de sua participação é estimada em cerca de 2 meses, incluindo o tempo necessário para as consultas médicas, exames laboratoriais e biópsia hepática se forem necessários.

4. Tratamentos do estudo

Não será administrado tratamento neste estudo.

5. Procedimentos do estudo

Você é elegível para esse programa porque seus exames demonstraram que possui hepatite C e apresenta genótipo 1 ou 3 do vírus C. Além disso, para ser incluído, a avaliação da sua biópsia hepática atual ou dos últimos 12 meses deverá mostrar a presença de esteatose hepática (gordura no fígado). Se você decidir participar, você será submetido a uma avaliação, na qual será obtida uma história médica completa, um exame físico será realizado e serão obtidas amostras de sangue pela inserção de uma agulha em sua veia. A partir das amostras de sangue, serão realizados exames para medir os níveis do vírus da hepatite C e a contagem das células do sangue, e medida da resistência à insulina, além de testes para determinar o funcionamento de seu fígado.

6. Suas responsabilidades

Em cada visita:

- Você deverá informar ao seu médico do estudo quaisquer outras medicações que estiver tomando enquanto estiver no estudo.

7. Riscos

- Os riscos envolvidos na coleta de sangue de uma veia incluem, mas não estão limitados a desconforto no local da inserção da agulha, possível equimose e inchaço ao redor do local de inserção, e raramente uma infecção. Também há uma leve chance de desmaio.
- Os riscos envolvidos na realização da biópsia hepática podem incluir, mas não estão limitados a desconforto devido à dor leve e queimação da solução usada para anestesia a pele; possível equimose (mancha roxa na pele) e inchaço ao redor do local de inserção; pode ocorrer sangramento, que raramente requer uma transfusão (1 vez em cada 1.000 procedimentos).

8. Riscos para Mulheres com Potencial para Engravidar (se aplicável)

Não há risco específico de gravidez, pois não será utilizada medicação durante o estudo.

9. Benefícios

Você pode não se beneficiar ao participar deste estudo, mas o conhecimento ganho pode beneficiar outros. As consultas clínicas e testes diagnóstico e laboratorial serão fornecidos a você gratuitamente.

10. Tratamentos alternativos

Não se aplica.

11. Parágrafo de Danos e Riscos

Se você apresentar qualquer dano físico como resultado direto dos procedimentos para o estudo, você deverá entrar em contato com o Dr. Décio Passos Sampaio Péres no telefone 3388 34 55 ou 9808 5499 e será disponibilizada terapia médica imediata no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Qualquer dano resultante de sua participação será avaliado e tratado de acordo com os benefícios e cuidados a que você tem direito. Serão reembolsados os honorários médicos e despesas médicas necessários e devidamente aprovados para tratamento de danos. Ao assinar este formulário de consentimento, você não está abrindo mão de qualquer um dos seus direitos legais.

12. Pagamento para participar do estudo

Não há nenhum pagamento para participar no estudo.

13. Participação voluntária/Retirada do estudo

Sua participação neste estudo é completamente voluntária. Cabe a você decidir se deseja participar ou não. Mesmo se você decidir participar, você é livre para sair do estudo a qualquer momento, sem dar uma razão. Isto não afetará seu cuidado médico futuro de nenhuma forma. Além disso, seu médico do estudo pode retirá-lo do estudo se ele julgar que isto é melhor para você, ou no caso do estudo ser terminado precocemente. Seu médico pode terminar sua participação a qualquer momento neste estudo sem seu consentimento. Possíveis razões para encerrar a sua participação se o tratamento do estudo oferecer pouco ou nenhum benefício futuro ou se você deixar de seguir as instruções para a participação no estudo. Para a interrupção do estudo, será necessária a concordância do Comitê de Ética responsável pela aprovação inicial.

14. Companhia patrocinadora

Não se aplica.

15. Permissão para Revisão de Registros, Confidencialidade e Acesso aos Registros

Seu médico do estudo e equipe irão coletar informações sobre você. Em todos esses registros, um código irá substituir seu nome. Todos os dados coletados serão mantidos de forma confidencial. Os dados coletados serão usados para a avaliação do estudo, e podem ser usados no futuro, em estudos relacionados ou outros. Membros das autoridades de saúde, do Comitê de Ética da sua instituição, ou outras exigidas por lei podem revisar os dados fornecidos. Estes dados também podem ser usados em publicações. Porém, sua identidade não será revelada em qualquer compilação, relatórios ou publicações do estudo. Os dados coletados serão usados para a avaliação do estudo, e podem ser usados no futuro em estudos relacionados ou outros. Os dados podem ser submetidos a autoridades de saúde para propósitos de registro. Membros das autoridades de saúde, do Comitê de Ética da sua instituição, ou outras pessoas exigidas por lei podem revisar os dados fornecidos. Estes dados também podem ser usados em publicações sobre a medicação do estudo. Porém, sua identidade não será revelada em qualquer compilação, relatórios ou publicações do estudo.

17. Perguntas/Informação

- Se você ou seus familiares tiverem alguma pergunta relativa ao estudo, direito dos pacientes, ou no caso de lesão relacionada ao estudo, você deve contatar seu médico do estudo.
- Será informado se qualquer informação nova que possa afetar sua vontade em participar do estudo se tornar disponível durante o decorrer do estudo.

18. Assinaturas de consentimento

Prezado < Paciente/Voluntário > por favor, leia esta seção cuidadosamente e, se de acordo, por favor, assine e date no final da página.

Eu recebi os detalhes dos riscos dos procedimentos do estudo.

Eu entendo que eu sou livre para aceitar ou recusar e que eu posso descontinuar minha participação a qualquer momento sem dar uma razão e sem qualquer efeito na continuidade de meu tratamento. Mantereí todos meus direitos ao tratamento.

Eu concordo que seja dado acesso direto aos meus registros médicos às pessoas autorizadas que representam o patrocinador, como também autoridades nacionais e

internacionais. Eu concordo que seja dado acesso direto aos meus registros médicos às pessoas autorizadas que representam os Laboratórios Roche, como também autoridades nacionais e internacionais

Eu não perderei nenhum direito que me é concedido pelas leis locais ao assinar este documento.

Eu li e entendi a informação apresentada neste documento de consentimento informado. Eu tive a oportunidade de fazer todas as perguntas e todas elas foram respondidas.

Eu receberei uma cópia assinada e datada deste Documento de Consentimento Informado.

Para Mulheres com Potencial para Engravidar, se aplicável.

_____ Data: _____

EU CONCORDO EM PARTICIPAR DESTE ESTUDO VOLUNTARIAMENTE

A ser assinado simultaneamente, i.e. mesma data, por todas as partes:

Escreva o Nome do Paciente	Data	Assinatura
----------------------------	------	------------

Escreva o Nome da pessoa que <u>Obteve o consentimento</u>	Data	Assinatura
---	------	------------

Título de pessoa que
Obteve o consentimento

Apêndice B

PACIENTES COM HCV GENÓTIPO TIPO 1

no	pront	nome	id	sx	gen	cv	cvlog	kg	cm	imc	col	hdl	ldl	tri	gli	ins	ho	alt	pbh	a	f	e
1	803	CJB	48	Masculino	1	650.000	5,81	82	172	27,72	128	34	51	198	92	26,40	5,99	97	HCAI	1	0	1
3	933	LMPR	56	Feminino	1	.	.	64	165	23,51	167	42	109	119	84	13,40	2,78	48	HCAI	1	2	1
4	852	AAB	52	Masculino	1	3.441.000	6,54	81	179	25,28	143	27	92	109	87	8,40	1,80	167	HCAI	1	2	0
5	535	JAFS	41	Masculino	1	2.150.000	6,33	78	179	24,34	172	43	113	130	96	7,90	1,87	46	HCAI	1	1	1
6	787	RMFB	29	Masculino	1	1.133.449	6,05	95	192	25,77	130	45	72	65	82	16,80	3,40	22	HCP	0	0	0
7	942	RS	43	Masculino	1	8.456.000	6,93	78	178	24,62	161	41	109	97	102	9,90	2,49	198	HCAI	1	3	1
9	719	NPN	49	Feminino	1	.	.	54	161	20,83	140	57	58	127	78	9,00	1,73	30	HCAI	1	1	1
11	780	LCP	45	Feminino	1	8.617.000	6,94	65	158	26,04	172	55	84	86	80	9,90	1,95	87	HCAm	2	1	1
12	935	VMFC	55	Feminino	1	11.000.000	7,04	57	151	25,00	180	67	78	174	103	9,50	2,41	149	HCAI	2	1	1
13	683	MIN	40	Feminino	1	349.000	5,54	75	170	25,95	176	74	89	43	93	12,90	2,96	81	HCAI	1	0	1
16	716	MAFA	42	Masculino	1	7.920.000	6,90	83	178	26,20	171	48	107	58	92	9,40	2,13	71	HCAI	1	1	1
18	971	ASFC	62	Feminino	1	630.000	5,80	77	161	29,71	181	39	119	90	89	14,90	3,27	75	HCAI	1	2	1
20	142	MG	68	Masculino	1	15.900.000	7,20	81	185	23,67	113	40	61	84	96	9,70	2,30	61	HCAm	2	3	0
23	785	JOBP	33	Masculino	1	254.000	5,40	89	187	25,45	198	50	127	108	81	29,20	5,84	146	HCAAs	3	3	3
29	215	AJBS	43	Masculino	1	1.600.000	6,20	79	177	25,22	195	53	118	136	105	12,00	3,11	98	HCAm	3	3	1
30	912	ASDJ	38	Masculino	1	1.978.019	6,30	87	182	26,26	146	58	71	85	107	8,50	2,24	102	HCAI	2	1	1
32	499	DAN	48	Masculino	1	1.580.000	6,20	79	175	25,80	135	52	87	105	90	25,40	5,64	134	HCAm	3	3	3
36	598	LAPF	53	Masculino	1	1.524.810	6,18	78	171	26,67	198	35	145	173	85	1,11	0,23	211	HCAI	1	1	1
38	942	RS	42	Masculino	1	6.872.000	6,84	78	178	24,62	161	41	109	97	102	9,90	2,49	177	HCAI	1	3	1
39	681	NBS	39	Masculino	1	230.000	5,36	82	185	23,96	116	26	80	51	97	4,80	1,15	72	HCAI	1	1	1
40	680	AGC	35	Masculino	1	192.000	5,28	79	181	24,11	137	44	69	97	93	4,50	1,03	194	HCAm	3	1	0
43	994	NHMJ	44	Masculino	1	10.000.000	7,00	73	175	23,84	177	94	66	105	93	8,00	1,84	81	HCP	1	0	2
44	948	AJBML	64	Masculino	1	7.600.000	6,88	76	174	25,10	200	70	139	109	95	8,60	2,02	23	HCAI	2	2	1

Apêndice C

PACIENTES COM HCV GENÓTIPO TIPO 3

no	pront	nome	id	sx	gen	cv	cvlog	kg	cm	imc	col	hdl	ldl	tri	gli	ins	ho	alt	pbh	a	f	e
2	503	JACC	62	Feminino	3	990.000	6,00	71	168	25,16	198	60	115	78	94	9,30	2,16	78	HCAI	1	1	1
8	753	MIAT	57	Feminino	3	132.452	5,12	54	157	21,91	180	61	101	74	85	5,10	1,07	80	HCAI	1	0	0
10	732	KBF	45	Feminino	3	623.256	5,79	60	163	22,58	140	50	78	59	82	7,50	1,52	130	HCAI	1	1	1
14	798	HGM	28	Masculino	3	367.000	5,56	69	176	22,28	174	53	108	67	85	3,60	0,75	68	HCAAs	0	0	1
15	739	EMVL	52	Feminino	3	225.255	5,35	72	170	24,91	198	58	125	180	94	34,10	7,91	73	HCAI	1	0	2
17	435	AR	35	Feminino	3	.	.	76	162	28,96	168	83	63	127	88	7,50	1,63	102	HCAI	1	1	0
19	829	RW	54	Masculino	3	4.540.571	6,66	93	188	26,31	101	49	37	78	93	17,00	3,90	158	HCAm	2	0	2
21	672	JCP	46	Masculino	3	598.995	5,78	82	179	25,59	163	39	106	90	85	17,70	3,71	174	HCAm	2	3	2
22	581	MAD	47	Masculino	3	650.000	5,81	72	175	23,51	150	29	98	113	88	12,90	2,80	191	HCAm	2	3	2
24	940	MCMO	54	Feminino	3	1.371.000	6,14	69	165	25,34	92	45	67	51	80	6,10	1,20	94	HCAm	3	1	1
25	869	PFD	58	Masculino	3	5.300.000	6,72	87	181	26,56	168	36	125	92	95	16,60	3,89	134	HCAI	1	3	1
26	811	CPA	52	Masculino	3	214.000	5,33	82	179	25,59	133	40	82	55	109	13,00	3,50	144	HCAm	2	3	2
27	963	SALF	54	Masculino	3	517.000	5,71	85	188	24,05	155	54	76	125	86	15,90	3,37	50	HCAI	2	0	1
28	592	SSC	53	Masculino	3	272.563	5,44	88	180	27,16	166	30	119	87	111	20,10	5,50	125	HCAI	2	1	1
31	290	SMG	50	Feminino	3	.	.	65	163	24,46	184	73	97	82	89	7,60	1,67	88	HCAI	3	1	1
33	781	VJCJ	51	Masculino	3	2.151.640	6,33	79	181	24,11	158	43	98	85	106	11,80	3,09	146	HCAm	3	3	1
34	194	DNK	45	Masculino	3	418.000	5,62	71	178	22,41	199	50	75	129	92	4,00	0,91	25	HCP	0	0	0
35	761	LCC	44	Masculino	3	840.000	5,92	75	173	25,06	200	40	114	163	105	8,30	2,15	61	HCAI	1	0	1
37	345	FAM	51	Masculino	3	.	.	73	169	25,56	139	53	77	44	94	8,00	1,86	93	HCAI	1	1	1
41	817	DZM	33	Feminino	3	7.006.000	6,85	49	152	21,21	133	57	61	54	92	7,20	1,63	126	HCAI	1	1	1
42	501	RO	50	Masculino	3	256.000	5,41	82	181	25,03	179	40	110	127	97	18,90	4,52	67	HCAm	2	3	2

DÉCIO PASSOS SAMPAIO PÉRES

**GRAU DE RESISTÊNCIA À INSULINA EM PACIENTES COM HEPATITE
CRÔNICA C, INFECTADOS PELO GENÓTIPO 1 VERSUS GENÓTIPO 3**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências em Gastroenterologia, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre e submetida à avaliação da Banca Examinadora em:

22 de dezembro de 2006

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Hugo Cheinquer
Orientador

Prof. Dr. Júlio Pereira Lima

Prof. Dra. Sirlei Ditrich

Prof. Dr. Renato Fagundes

Porto Alegre

2006

Dedicatória

Doutor Hugo Cheinquer!

Ao contrário da minha tese sobre "Genótipos Resistentes", não poderia ficar imune às iluminadas injeções de sua dedicação e conhecimento, sem as quais, ficaria contaminado por um genes de febril ostracismo. Declaro também que até os "Efeitos Colaterais de ternura, profissionalismo e exemplar conduta" muito contribuíram para o preciso exercício de um médico do interior.

*Um grande abraço e muito obrigado.
Décio Passos Sampaio Peres*

AGRADECIMENTOS

Primeiro, a Deus que, pela sua imensa bondade e sabedoria, proporcionou-me caminhar por este belo caminho do conhecimento.

À minha esposa Cristina e minhas filhas Luciana e Larissa, pela compreensão dos meus longos períodos de afastamento de seus convívios.

Ao meu amigo, colega e, hoje, Mestre, Dr. Nelson Cheinquer, pela sua amizade e desprendimentos durante estes três anos de trabalho conjunto.

Ao Professor Doutor Sérgio Barros, pela acolhida junto a este tão seletivo grupo de Mestres e Doutores da equipe da Gastroenterologia da UFRGS.

Ao Professor Thadeu Cerski, pela ajuda incansável nas análises de nosso material.

Ao aluno da graduação Maicon Falavigna, pela sua dedicação e amizade durante todo o desenvolvimento do nosso trabalho.

À funcionária do nosso PPG, Moema, pela ajuda incansável e o carinho na lida com nossos problemas administrativos e funcionais.

A todos os funcionários do ambulatório de Hepatites do Hospital de Clínicas da UFRGS, pela ajuda, paciência e amizade.

Finalmente, ao meu Orientador, Professor Doutor Hugo Cheinquer, pela paciência, carinho, amizade e, acima de tudo, pela incessante ajuda na construção dos meus conhecimentos. Sem sua mão de Mestre e amigo, este trabalho não seria possível. Meus sinceros agradecimentos, Prof. Hugo!

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi verificar o grau de resistência insulínica (RI) em pacientes infectados com o vírus da hepatite C (VHC) genótipo 1 versus genótipo 3.

Foi incluído um total de 44 pacientes com hepatite crônica C, sendo 23 pacientes infectados com genótipo 1 e 21 pacientes infectados com genótipo 3. Nenhum paciente incluído tinha fatores de risco para Síndrome Metabólica e não foram submetidos a tratamento antiviral prévio. Trinta pacientes eram homens (68%). A média de idade em anos na amostra global foi de $47,5 \pm 9,1$. Quanto ao genótipo do VHC, 23 pacientes (52%) tinham genótipo 1 e 21 (48%) genótipo 3.

O grau de esteatose hepática (EH) entre 5% e 66% foi encontrado em 35 dos 44 pacientes. Não houve diferença significativa entre os genótipos 1 e 3 do VHC. Quanto aos níveis de colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL e as transaminases, não houve diferenças significativas entre os genótipos em estudo. A média do Índice de Massa Corporal (IMC) na amostra global foi de $25 \pm 1,8$. A prevalência de resistência insulínica, medida pelo teste de HOMA (Modelo de avaliação de homeostase), foi verificada em 27 pacientes (61%). A média do HOMA entre os genótipos não atingiu diferença significativa.

Fibrose moderada e severa foi encontrada em 14 (38%) dos 37 pacientes com esteatose hepática e em apenas 2 (27%) dos 7 sem esteatose hepática. A correlação entre resistência insulínica e fibrose hepática na população estudada foi estatisticamente significativa ($P < 0,001$).

Na análise de nossos dados, portanto, encontramos Resistência Insulínica em 61% dos 44 pacientes com hepatite crônica C sem fatores de risco para Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (DHGNA). O grau de RI em pacientes, infectados com genótipo 1 versus genótipo 3 do VHC não foi estatisticamente diferente, tanto no que diz respeito à prevalência (65% versus 57%, respectivamente) quanto à magnitude (2,6 versus 2,8, respectivamente). Quanto à relação entre RI e EH nesses

pacientes, verificou-se correlação positiva, havendo RI em 68% dos pacientes com EH versus 29% dos sem EH, sem atingir, no entanto, diferença estatisticamente significativa. Ao analisar a relação entre RI e fibrose hepática, houve diferença estatisticamente significativa em nossa casuística, sendo encontrada maior prevalência de fibrose intensa (F2 e F3 na classificação Metavir) nos 27 pacientes com RI em comparação com os 17 pacientes sem RI (56% versus 6%, respectivamente; $P < 0,01$).

Palavras-chave: Esteatose hepática. Hepatite C. Resistência à insulina.

ABSTRACT

The main goal of this research was to verify the insulin resistance (IR) in patients infected with HCV genotype 1 versus genotype 3.

A total of 44 patients with chronic hepatitis C were included in the study, 23 patients infected with genotype 1 and 21 patients infected with genotype 3. None of the patients had any risk for the Metabolic Syndrome and had not been submitted to any antiviral therapy before. 30 patients were males (68%). The age average was $47,5 \pm 9,1$. About the VHC genotype, 23 (52%) had the genotype 1 and 21 (48%) had genotype 3.

Liver steatosis grade (LS) was found in the range of 5% and 66% in 35 patients. There was no significant difference between the genotypes. About the total cholesterol levels, HDL-C and LDL-C, as well as the serum transaminases, there was no significant difference between the genotypes. The average of the body mass was $25 \pm 1,8$. The prevalence of insulin resistance (IR), measured by HOMA-IR test was verified in 27 patients (61%). The average of the HOMA-IR test between the genotypes was not statistically significant.

Moderate and severe liver fibrosis was found in 14 patients (38%) out of the 37 patients with liver steatosis and only in 2 patients (29%) out of the 7 patients without steatosis. The relationship between insulin resistance and liver fibrosis in our sample was statistically significant ($p < 0,001$).

Analyzing our data, we found insulin resistance in 61% out of 44 patients with chronic hepatitis C without risks factors for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). The amount of the insulin resistance between patients infected with genotype 1 versus genotype 3 of HCV was not statistically different both in the prevalence (65% versus 57% respectively) and in the magnitude (2,6 versus 2,8, respectively). About the relationship between IR and LS in our patients, there was a positive relationship, with IR in 68% of the patients with LS versus 29% of the patients without LS, but without a statistically significant difference. However, the relationship between IR and

hepatic fibrosis showed a statistically significant difference, with a greater prevalence of intense fibrosis (F2 and F3 in METAVIR classification) in the 27 patients with IR compared to the 17 patients without IR (56% versus 6%, respectively - $p < 0,01$).

Keywords: Hepatitis C. Insulin resistance. Liver steatosis grade.

LISTA DE ABREVIATURAS

ALT	– ALANINA AMINOTRANSFERASE (TGP)
AST	– ASPARTATO AMINOTRANSFERASE (TGO)
CHC	– CARCINOMA HEPATOCELULAR
DHA	– DOENÇA HEPÁTICA ALCOÓLICA
DHGNA	– DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO-ALCOÓLICA
DM	– DIABETES MELLITUS
EH	– ESTEATOSE HEPÁTICA
EHNA	– ESTEATOHEPATITE NÃO-ALCOÓLICA
FH	– FIBROSE HEPÁTICA
GGT	– GAMA GLUTAMIL TRANSFERASE
HDL	– LIPOPROTEINA DE ALTA DENSIDADE
HOMA	– MODELO DE ANÁLISE DA HOMEOSTASE
IMC	– ÍNDICE DE MASSA CORPÓREA
LDL	– LIPOPROTEÍNA DE BAIXA DENSIDADE
RI	– RESISTÊNCIA INSULÍNICA
RNA-VHC	– ÁCIDO RIBONUCLÉICO DO VÍRUS DA HEPTITE C
RVS	– RESPOSTA VIROLÓGICA SUSTENTADA
VHB	– VÍRUS DA HEPATITE B
VHC	– VÍRUS DA HEPATITE C

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Efeito da esteatose hepática <i>versus</i> genótipo do VHC no percentual de resposta sustentada ao tratamento antiviral em pacientes com hepatite crônica C (Poynard e cols. Ref. 13).....	20
Figura 2 - Equação do teste HOMA-IR.....	21
Figura 3 - Prevalência de RI nos pacientes com VHC	33
Figura 4 - Distribuição do grau de RI em pacientes com genótipo 1 <i>versus</i> 3 do VHC.....	34
Figura 5 - Ocorrência de RI de acordo com o genótipo do VHC	35
Figura 6 - Prevalência de EH nos pacientes com VHC	36
Figura 7 - Prevalência de EH de acordo com o genótipo do VHC.....	37
Figura 8 - Prevalência de EH de acordo com a RI. .. Erro! Indicador não definido.	38
Figura 9 - Presença de EH em RI	39
Figura 10 - Presença de FH em RI.....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Incidência e fatores associados com esteatose hepática em pacientes com VHC (adaptado da referência 34).....	17
Tabela 2 - Prevalência de RI e teste HOMA em pacientes com infecção crônica pelo VHC.....	24
Tabela 3 - Características demográficas, laboratoriais e histológicas em pacientes com hepatite crônica C, infectados pelo genótipo 1 ou 3 do VHC.....	32
Tabela 4 - Graus de esteatose na amostra global e de acordo com o genótipo do VHC.....	36
Tabela 5 - Graus de esteatose na amostra global e de acordo com a RI.	38
Tabela 6 - Características demográficas, laboratoriais e histológicas em 44 pacientes portadores de hepatopatia crônica pelo vírus C, com e sem RI.	41

SUMÁRIO

RESUMO	5
ABSTRACT	7
LISTA DE ABREVIATURAS	9
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE TABELAS	11
1 INTRODUÇÃO	14
1.1 ESTEATOSE HEPÁTICA	15
1.2 ESTEATOSE HEPÁTICA E HEPATITE C	16
1.3 ESTEATOSE HEPÁTICA E GENÓTIPO DO VÍRUS DA HEPATITE C	17
1.4 IMPORTÂNCIA DA ESTEATOSE HEPÁTICA NA HEPATITE CRÔNICA C	18
1.5 ESTEATOSE HEPÁTICA E RESISTÊNCIA À INSULINA	20
1.6 RESISTÊNCIA À INSULINA E HEPATITE C.....	22
2 JUSTIFICATIVA	25
3 OBJETIVOS	26
3.1 OBJETIVO GERAL.....	26
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
4 PACIENTES E MÉTODOS	27
4.1 PACIENTES.....	27
4.1.1 Critérios de inclusão.....	27
4.1.2 Critérios de exclusão.....	28
4.2 DETECÇÃO DO RNA-VHC	28
4.3 GENOTIPAGEM DO VHC	28
4.4 QUANTIFICAÇÃO DO VHC.....	29
4.5 TESTE HOMA-IR.....	29
4.6 CÁLCULO DO ÍNDICE DE MASSA CORPORAL.....	29
4.7 ROTINA DE AVALIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL	30
4.8 BIÓPSIA HEPÁTICA E ANÁLISE HISTOLÓGICA.....	30
4.9 CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA	30
4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	31
5 RESULTADOS	32
5.1 CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO ESTUDADA.....	32
5.2 GRAU E PREVALÊNCIA DE RI NA POPULAÇÃO ESTUDADA.....	33
5.3 GRAU E PREVALÊNCIA DE RI DE ACORDO COM O GENÓTIPO DO VHC	33
5.4 RELAÇÃO ENTRE RI E EH NA POPULAÇÃO ESTUDADA	35
5.4.1 Prevalência de EH de acordo com o genótipo do VHC.....	36
5.4.2 Prevalência de EH de acordo com a RI.	37
5.5 RELAÇÃO ENTRE RI E DADOS DEMOGRÁFICOS, LABORATORIAIS E HISTOLÓGICOS NA POPULAÇÃO ESTUDADA.....	41

6	DISCUSSÃO.....	42
7	CONCLUSÕES.....	48
	REFERÊNCIAS.....	49
	APÊNDICES	58

1 INTRODUÇÃO

Estima-se que cerca de 150 milhões de pessoas (aproximadamente 2,2% da população mundial) estejam cronicamente infectados pelo vírus da hepatite C (VHC) (1). Atualmente, a infecção pelo VHC constitui a principal causa de hepatite crônica, cirrose, carcinoma hepatocelular e transplante hepático em adultos na maioria dos países ocidentais (2).

Embora sua história natural ainda não tenha sido completamente elucidada, sabe-se que a hepatite C não apresenta evolução uniforme. A taxa de cronificação varia entre 55% e 90%, sendo que alguns indivíduos progridem para cirrose e carcinoma hepatocelular em 20-30 anos; enquanto outros permanecem com hepatite leve e fibrose mínima ou ausente por mais de 50 anos (3,4,5).

Não se sabe exatamente porque alguns indivíduos com hepatite crônica C evoluem para cirrose mais rapidamente, no entanto, estudos recentes mostram correlação entre esteatose hepática (EH) e maior progressão da fibrose (6,7,8, 9,10). Além disso, pacientes com EH parecem alcançar menor resposta virológica sustentada (RVS) quando tratados com interferon e ribavirina, independente do consumo de álcool (11,12,13).

A patogênese da EH na hepatite C ainda é desconhecida, porém parece estar relacionada ao mecanismo citopático direto do VHC em pacientes com genótipo 3 e a fatores metabólicos do hospedeiro em pacientes com genótipo 1 (13,14,15,16,17).

Recentemente, alguns autores encontraram associação significativa entre resistência à insulina (RI) e EH em pacientes com infecção crônica pelo VHC (18,19,20,21). Apesar dos mecanismos que envolvem a conexão entre RI e EH não serem ainda totalmente conhecidos, parecem não ocorrer da mesma forma em pacientes infectados com genótipo 1 ou 3 do VHC(22).

1.1 ESTEATOSE HEPÁTICA

O fígado exerce papel central no metabolismo dos lipídios, facilitando sua digestão e absorção por meio da produção de bile, além de realizar a síntese e/ou oxidação de diversas lipoproteínas (23).

Denomina-se doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA) o acúmulo de gordura no fígado não relacionado ao uso excessivo de álcool, considerado pela maioria dos especialistas como acima de 20 a 40g/dia, em média, para mulheres e homens, respectivamente (24).

A DHGNA compreende tanto a EH quanto a esteato-hepatite não-alcoólica (EHNA). A EH não evolui diretamente para cirrose (25). A história natural da EHNA, por outro lado, apesar de ainda não ser bem conhecida, demonstra índices variáveis de progressão para cirrose, insuficiência hepática e carcinoma hepatocelular (25).

Estima-se que entre 10% e 20% dos indivíduos não selecionados, provenientes da população geral, sejam portadores de DHGNA, porém não se conhece exatamente o percentual deste grupo que teria EH ou EHNA (25).

Histologicamente, a EH pode ser encontrada tanto sob a forma de pequenas gotículas de gordura no citoplasma do hepatócito (esteatose microvesicular) quanto sob a forma de grandes vacúolos com núcleo comprimido e desviado para a periferia (esteatose macrovesicular) (26).

A esteatose microvesicular tem patogênese distinta, associada com distúrbios mitocondriais que envolvem a respiração celular. Costuma ser mais grave e pode ser causada por uso de tetraciclina, podendo também ser encontrada no fígado gorduroso da gravidez (27).

A esteatose macrovesicular, por sua vez, está relacionada ao distúrbio do metabolismo dos ácidos graxos, decorrente da alteração de pelo menos um dos quatro processos básicos existentes no ciclo de lipídios entre tecido adiposo e fígado: a) aumento na quantidade de ácidos graxos liberados para o fígado; b) aumento na síntese de ácidos graxos no fígado; c) redução na beta oxidação de ácidos graxos no fígado, e/ou d) redução na síntese ou secreção de lipoproteínas de densidade muito baixa (28,29).

1.2 ESTEATOSE HEPÁTICA E HEPATITE C

Esteatose é achado comum em pacientes com hepatite C. A maioria dos trabalhos mostra prevalência de EH da ordem de 30% a 70% em pacientes com infecção crônica pelo VHC, sendo considerada mais alta do que em qualquer outra hepatopatia, com exceção da doença hepática alcoólica (DHA) e da EHNA (13,14,30).

Mesmo em pacientes com VHC que não apresentam consumo excessivo de álcool ou fatores de risco clássicos para DHGNA (obesidade, uso de medicamentos potencialmente hepatotóxicos, diabetes mellitus (DM) e/ou dislipidemia), pode-se encontrar percentuais variados de acúmulo de gordura intra-hepatocitária, sugerindo provável componente viral responsável pela gênese da EH (31).

Curiosamente, verificou-se que a EH associada ao VHC é diferente daquela verificada na DHA e EHNA. De fato, pacientes com VHC tendem a apresentar gotas de gordura de vários tamanhos com deposição focal em áreas periportais (zona 1 do ácino de Rappaport). Por outro lado, pacientes com DHA ou EHNA apresentam gotas de gordura de tamanho mais uniforme com deposição em áreas centrolobulares (zona 3 do ácino de Rappaport) (8). No entanto, deve-se ressaltar que a distribuição da esteatose nem sempre é uniforme, tornando difícil distinguir a existência de infiltração gordurosa associada ao VHC daquela associada à esteatohepatite alcoólica ou não-alcoólica (14,26,30).

Vários autores (7,9,13,14,15,16,32,33) têm procurado identificar fatores associados à presença e ao grau da EH na infecção pelo VHC, sendo que os achados mais significativos em análise multivariada incluem: a) índice de massa corporal (IMC); b) genótipo 3 do VHC, c) maior deposição de fibrose hepática, d) níveis altos de triglicerídios; e) níveis altos de glicemia e f) carga viral do VHC nos pacientes com genótipo 3 (Tabela 1).

Tabela 1 - Incidência e fatores associados com esteatose hepática em pacientes com VHC (adaptado da referência 34).

Estudo (referência)	Fatores Associados com Esteatose Hepática							
	N	EH (%)	IMC	Álcool	DM	Gen 3	Viremia	Fibrose
Fiore	121	60	Sim	Não	Não	NA	NA	Sim
Wong	200	38	NA	NA	NA	NA	NA	Sim
Czaja	60	52	Sim	NA	Sim	NA	NA	NA
Giannini	172	70	NA	NA	NA	Não	NA	Sim
Hourigan	148	61	Sim	Não	Não	Sim	Não	Sim
Rubbia-Brandt	254	43	NA	NA	NA	Sim	Sim	Sim
Hwang	106	52	Sim	NA	NA	Não	Não	Sim
Ong	170	53	Sim	Não	Não	Não	NA	Sim
Adinolfi	180	48	Sim	NA	NA	Sim	Sim	Sim
Sanyal	1536	7	Sim	Sim	Sim	Sim	NA	Sim
Monto	297	57	Sim	Sim	Sim	Sim	NA	Sim
Sharma	293	90	Sim	Sim	Sim	Sim	NA	Sim
Adinolfi	221	48	Sim	Sim	NA	Sim	Sim	Sim
Westin	98	42	Sim	Sim	NA	Sim	Sim	Sim
Castera	96	54	NA	Sim	NA	Sim	Sim	Sim

Atualmente, existem várias teorias sobre os possíveis mecanismos relacionados ao surgimento de EH em pacientes com infecção crônica pelo VHC (34,35,36,37). Em primeiro lugar, existem evidências de que a EH poderia estar relacionada ao efeito direto da replicação do VHC no interior do hepatócito, a qual seria capaz de produzir alterações na membrana mitocondrial e peroxidação lipídica, com interferência na formação de diversas lipoproteínas. Em segundo lugar, a EH poderia estar relacionada à liberação de fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa), como consequência da inflamação hepática. Estudos em animais de experimentação têm demonstrado que o TNF-alfa pode induzir RI, a qual, por sua vez, levaria à EH. Finalmente, não se pode excluir o papel da síndrome metabólica, cada vez mais implicada na gênese de alterações no metabolismo lipídico (38).

1.3 ESTEATOSE HEPÁTICA E GENÓTIPO DO VÍRUS DA HEPATITE C

A gênese da EH parece variar de acordo com o genótipo do VHC (9,13,14,15,16,39,40,41,42). Assim, verifica-se que, nos pacientes infectados com o

genótipo 3, a EH independe do IMC, apresenta alto grau de correlação com a carga viral do VHC, regredindo nos pacientes com resposta sustentada ao tratamento antiviral. Por sua vez, nos pacientes infectados com genótipo 1 do VHC, a EH está diretamente relacionada ao IMC e/ou achado de adiposidade central, sem qualquer vinculação com os níveis de viremia, além de não regredir significativamente após a erradicação do VHC (43,44,45).

A forma de esteatose associada ao genótipo 1 independe da replicação viral, sendo denominada “esteatose metabólica”. Por outro lado, a esteatose associada ao genótipo 3 tem sido relacionada a efeito citopático direto de proteína do “core” dessa cepa viral, sendo denominada de “esteatose viral” (13,22,46).

Em trabalho recente (47), foram demonstradas as seguintes evidências do efeito esteatogênico do genótipo 3: a) a maioria dos pacientes infectados com genótipo 3 apresenta EH; b) em pacientes com genótipo 3 (mas não com genótipo 1), a EH correlaciona-se com o nível de RNA do VHC no soro e no tecido hepático; c) em pacientes infectados com genótipo 3 (mas não com genótipo 1), o sucesso na terapia antiviral faz desaparecer a esteatose e a recidiva viral promove seu reaparecimento; d) pacientes infectados com genótipo 3 costumam apresentar menor incidência de RI, mesmo em presença de graus elevados de EH.

1.4 IMPORTÂNCIA DA ESTEATOSE HEPÁTICA NA HEPATITE CRÔNICA C

O significado clínico da esteatose associada à infecção pelo VHC ainda não foi totalmente esclarecido. Apesar de existir associação entre esteatose e fibrose na hepatite C, relação de causa e efeito ainda não foi demonstrada de forma inequívoca (14). Outros estudos indicam menor RVS em pacientes com VHC e EH (13,48,49,50).

Quanto à relação entre EH e fibrose, vários estudos indicam associação independente entre essas duas variáveis. Nesse sentido, meta-análise recente estudou 3.068 pacientes da Europa, Estados Unidos e Austrália (51). Todos apresentavam hepatite crônica C, compreendendo os genótipos 1, 2, 3 ou 4 do VHC. Os resultados mostraram esteatose em 1.561 pacientes (50,9%) e a regressão

logística mostrou que a EH estava associada de forma independente com genótipo 3 do VHC, presença de fibrose, DM, inflamação hepática, uso abusivo de álcool, IMC elevado e idade mais avançada (51). Outros autores comprovaram o achado de fibrose mais intensa em pacientes com graus mais elevados de EH, particularmente, em pacientes infectados pelo genótipo 3 do VHC (9,15,16). Do mesmo modo, Pelletier e colaboradores (52) descreveram associação entre EH e fibrose em paciente pós-transplante hepático por cirrose causada pelo VHC. Interessante ressaltar que a EH e a fibrose podem regredir quando indivíduos com IMC elevado emagrecem (53).

Os principais mecanismos pelos quais a EH poderia influenciar o surgimento da fibrose encontram-se resumidos a seguir: a) o VHC poderia aumentar diretamente a peroxidação de lipídios e provocar dano mitocondrial, resultando em estresse oxidativo e aumento da fibrogênese (6,54); b) a infecção pelo VHC, principalmente genótipo 1, poderia aumentar os níveis circulantes de leptina, a qual estimula a síntese do fator transformador de crescimento e ativação das células estreladas que produzem colágeno no fígado (16,55); c) poderia ainda haver superposição entre hepatite C e DHA ou EHNA devido à alta prevalência destas doenças na população (13,26,56).

No tocante à relação entre EH e RVS, existem evidências de que tanto o grau de esteatose quanto o IMC, de forma independente, constituem fatores preditivos de má resposta em pacientes com hepatite crônica C submetidos a tratamento antiviral. Nesse sentido, é interessante notar que vários estudos identificaram que a EH foi capaz de influenciar a RVS de forma independente do genótipo, carga viral, idade, sexo, intensidade da fibrose hepática ou consumo excessivo de álcool (11,12,13,14).

Nesse sentido, estudo recente (11) envolvendo 224 pacientes com hepatite crônica C, tratados com interferon peguilado (PEG-IFN) alfa-2b e ribavirina (RBV), encontrou menor percentual de RVS nos pacientes com EH ($P=0,01$). Da mesma maneira, Poynard e cols.(13), em análise retrospectiva de estudo randomizado controlado, no qual 1.428 pacientes com hepatite crônica C foram tratados com PEG-IFN ou interferon (IFN) convencional, demonstraram menor RVS nos pacientes com EH, porém apenas nos indivíduos infectados com genótipo não-3 (Figura 1). Esse achado, se comprovado em outros estudos, reforçaria o fato de que a

esteatose hepática “viral” associada ao genótipo 3 possui mecanismo distinto da esteatose hepática “metabólica” relacionada ao genótipo não-3(43).

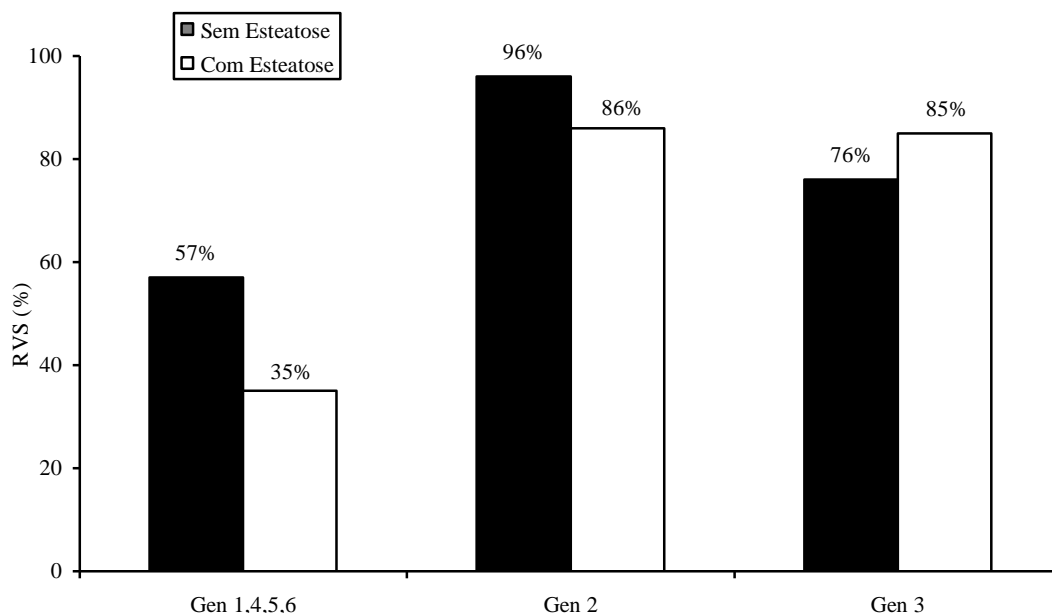


Figura 1 - Efeito da esteatose hepática versus genótipo do VHC no percentual de resposta sustentada ao tratamento antiviral em pacientes com hepatite crônica C (Poynard e cols. Ref. 13).

Os principais mecanismos pelos quais a EH, principalmente na sua forma “metabólica”, poderia estar associada a menor chance de RVS ainda são obscuros, sendo postuladas hipóteses relacionadas à menor biodisponibilidade do IFN em pacientes com maior quantidade de tecido adiposo, provável alteração do sistema imune em obesos mediada pela resistência à leptina, além de maior fibrose (34,57).

1.5 ESTEATOSE HEPÁTICA E RESISTÊNCIA À INSULINA

Resistência à insulina (RI) é definida como a condição na qual maior quantidade de insulina do que a usual faz-se necessária para alcançar respostas

metabólicas normais, ou seja, a condição na qual quantidades normais de insulina não alcançam respostas metabólicas normais (58).

O método estabelecido como padrão-ouro para avaliar a presença RI é o *Clamp* Euglicêmico-Hiperinsulinêmico (CEH) (59,60,61), desenvolvido em 1979, por DeFronso e cols.(62). O CEH permite examinar a resposta secretória de insulina à glicose e quantificar o consumo do organismo como um todo sob condições constantes de hiperglicemia (*clamp* hiperinsulinêmico) ou hiperinsulinemia (*clamp* euglicêmico). A determinação da sensibilidade à insulina por este método baseia-se no conceito de que, se mantendo níveis constantes de glicemia e hiperinsulinemia, a quantidade de glicose consumida pelos tecidos seria igual à quantidade de glicose infundida durante o teste.

Apesar do CEH ser considerado como padrão-ouro para avaliar a presença RI, seu uso é dificultado pela complexidade e alto custo (63). Em função disso, novos métodos foram desenvolvidos para medir RI de forma mais simples e prática. Dentre estes, destaca-se o Modelo de Análise da Homeostase para medida da RI (HOMA-IR). Esta técnica foi descrita em 1985, por Matthews e cols.(64), sendo baseada numa equação que envolve o produto entre a concentração sérica basal de insulina e a concentração sérica basal de glicose (figura 2).

$$\text{HOMA-IR} = \text{glicemia (mmol/L)} \times \text{insulina (mUI/L)} / 22,5$$

Figura 2 - Equação do teste HOMA-IR

Na descrição original deste modelo (64), a média da RI em indivíduos normais variou entre 1,21 e 1,45 para amostras obtidas após jejum de 8 horas. O ponto de corte para RI é considerado arbitrário, sendo recomendado em estudo recente que se usem níveis de HOMA-IR acima de 2 para definir RI (63,65).

A comparação entre o teste HOMA-IR e o CEH mostrou correlação positiva e altamente significativa ($r=0,88$, $P<0,0001$) (64). Vários outros estudos têm

comprovado essa correlação, inclusive em indivíduos não diabéticos, sendo atualmente o mais indicado para uso em estudos epidemiológicos (63,66,67,68).

Recentemente, tem sido sugerido que a insulina pode exercer papel importante na patogênese da DHGNA, pois, ao inibir a oxidação de ácidos graxos livres, aumentaria seus níveis no fígado, desencadeando o processo inflamatório (26). Além disso, indivíduos obesos geralmente apresentam níveis séricos elevados de insulina e ácidos graxos livres (69). Por outro lado, a perda de peso gradual associa-se com redução dos níveis séricos de insulina, diminuindo o dano hepático (26). Finalmente, o uso de drogas que reduzem a RI induz a melhora dos exames laboratoriais hepáticos e regressão do dano histológico do fígado nos pacientes tratados *versus* controles não tratados (70,71,72,73).

1.6 RESISTÊNCIA À INSULINA E HEPATITE C

Diabetes mellitus tipo 2, condição reconhecidamente associada a RI, tem sido associada a doenças hepáticas de várias etiologias, particularmente em estágio avançado. Estudos recentes sugerem que a infecção pelo VHC pode provocar distúrbios no metabolismo da glicose. A primeira observação da relação entre cirrose pelo VHC e DM tipo 2 foi estabelecida em 1994, por Allison e cols.(74). Posteriormente, análise retrospectiva de 1.117 pacientes com hepatite crônica viral demonstrou ocorrência de DM tipo 2 em 21% dos pacientes VHC positivos e apenas 12% dos VHB positivos. Análise multivariada comprovou que a infecção pelo VHC e a idade eram fatores independentes preditivos de DM tipo 2 (75). Desde então, vários autores têm encontrado maior prevalência de VHC em diabéticos, inclusive pós-transplante hepático (18,21,47,74,75,76,77,78,79,80,81).

Com base na relação entre VHC e DM tipo 2, não é de estranhar que pacientes com infecção crônica pelo VHC apresentem maior prevalência de RI em comparação com indivíduos da população geral (35,49,63,64,82,83,84,85). Não se sabe ainda como o VHC poderia provocar distúrbios no metabolismo da glicose, sendo aventadas algumas possibilidades: a) efeito secundário da cirrose; b) sobrecarga de ferro associada ao VHC; c) reação auto-imune induzida pelo VHC contra as células beta do pâncreas; d) efeito direto do VHC contra células das ilhotas

pancreáticas, provocando disfunção secundária das células beta; e) indução de RI periférica, por elevação dos níveis do TNF-alfa no fígado e soro de pacientes com hepatite crônica C, o qual parece interferir no sinal do receptor da insulina.

A relação entre o grau de RI e a magnitude da replicação viral tem sido aventada por alguns autores (86). No entanto, ainda, não está claro se é a replicação do VHC que aumenta diretamente a RI, ou se é a hiperinsulinemia que age como fator estimulante da replicação viral (87).

Outra maneira de comprovar ou não a relação entre VHC e RI reside na comparação entre pacientes pré e pós-erradicação da infecção por tratamento antiviral (88,89). Nesse sentido, Romero-Gómez e cols. (71) mostraram melhora na RI em pacientes que eliminam o RNA-VHC comparados aos não respondedores. Em outro estudo, os autores relatam melhora nos testes de tolerância à glicose após tratamento antiviral bem-sucedido (72).

Assim, fica cada vez mais comprovada a relação de causa e efeito entre o VHC e a RI, sendo inclusive apoiada por dados experimentais, os quais sugerem interferência do VHC com os receptores da insulina nos tecidos, tanto por via direta (90) quanto por via indireta, mediada pelo aumento de citocinas pró-inflamatórias como o TNF-alfa (91,92).

Além disso, alguns estudos recentes têm mostrado relação entre RI, EH e fibrose hepática em pacientes com hepatite crônica C(18,19,93). Deve ser ressaltado que a restauração da sensibilidade à insulina, tanto por medidas farmacológicas quanto não farmacológicas, promove melhora da EH e da fibrose hepática, indicando que a RI parece ser a causa e não o efeito da EH (70,71,72,73,94).

A relação entre VHC e RI parece ocorrer em todos os genótipos, embora possa haver diferenças quantitativas ainda não bem-estabelecidas (95). De fato, alguns autores encontraram maior grau de RI em pacientes infectados pelo VHC tipo 3, o qual, durante sua replicação, parece provocar diminuição do nível do RNA mensageiro dos receptores intrahepáticos da insulina (96).

Tabela 2 - Prevalência de RI e teste HOMA em pacientes com infecção crônica pelo VHC.

Estudo, ano (referência)	N	HOMA
Durante-Mangoni e cols., 2006 (84)	161	5,37 ± 3,90
Camma C e cols., 2006 (35)	291	2,74 ± 2,37
Chitturi S e cols., 2002 (97)	36	2,8±1,9
Lecube e cols.,2006 (98)	28	4,35±2,27
Muzzi A e cols., 2005 (95)	221	3,4±3,9

2 JUSTIFICATIVA

Verifica-se que, até o momento, existem poucos registros na literatura médica de estudos clínicos relacionando RI com EH nos diferentes genótipos do VHC, especialmente, em pacientes sem cirrose e sem fatores de risco para DHGNA. Assim, o presente estudo visa revelar se existe relação entre o grau de RI e o grau de EH em pacientes com hepatite crônica C infectados pelos genótipos 1 e 3 do VHC. Os resultados poderão contribuir para o entendimento da patogênese da EH nesses pacientes, propiciando intervenções terapêuticas no sentido de combater a RI e diminuir o grau de EH, os quais estão comprovadamente associados com a progressão da fibrose e a falha terapêutica.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Estabelecer o grau de RI em pacientes com hepatite crônica C sem fatores de risco para DHGNA, infectados com genótipo 1 versus genótipo 3 do VHC.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a correlação entre RI e EH nesses pacientes.
- Analisar a correlação entre RI e fibrose hepática nesses pacientes.

4 PACIENTES E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Ambulatório de Hepatites Virais do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), no período de março de 2003 a março de 2006. Todos pacientes foram incluídos mediante assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética do HCPA. O delineamento do estudo pode ser definido como transversal, pois foram avaliados, simultaneamente, o fator em estudo (genótipos do VHC) e os desfechos clínicos (grau de RI e EH) e fibrose hepática.

4.1 PACIENTES

Foram selecionados para este estudo 44 pacientes consecutivos de ambos os sexos de acordo com os seguintes critérios:

4.1.1 Critérios de inclusão

- a) Idade superior a 18 anos;
- b) RNA-VHC qualitativo positivo;
- c) Genótipos 1 e 3 do VHC;
- d) Sem tratamento prévio para o VHC;
- e) Biópsia hepática nos últimos dois anos;
- f) Assinatura do TCLE (Apêndice A)

4.1.2 Critérios de exclusão

- a) Outras causas de hepatopatia, tais como vírus B, hemocromatose, doença de Wilson, deficiência de alfa 1 antitripsina, uso de drogas potencialmente hepatotóxicas nos últimos seis meses, hepatite autoimune, consumo de álcool >40g/semana nos últimos 12 meses (92);
- b) Cirrose;
- c) Biópsia hepática com menos de 9 espaços-porta;
- d) HIV positivo;
- e) Diabetes Mellitus (definido como glicemia de jejum acima de 126 mg/dl em duas medidas distintas);
- f) Dislipidemia (triglicerídios e/ou colesterol total acima de 200mg/dl);
- g) Obesidade (definida como IMC acima de 30).

4.2 DETECÇÃO DO RNA-VHC

O RNA-VHC foi realizado pela técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) por método caseiro (Simbios Biotecnologia, RS, Brasil), segundo técnica já descrita anteriormente (99).

4.3 GENOTIPAGEM DO VHC

A identificação dos genótipos do VHC foi realizada pela técnica de análise do polimorfismo do comprimento dos fragmentos obtidos por enzimas de restrição (RFLP), usando produtos da PCR conforme descrito por McOmish e cols.(100).

4.4 QUANTIFICAÇÃO DO VHC

A quantificação do RNA-VHC sérico foi realizada por técnica comercialmente disponível (Roche Amplicor Monitor, Basileia, Suíça) segundo as recomendações do fabricante. Os resultados foram expressos em unidades internacionais por mililitro (UI/ml).

4.5 TESTE HOMA-IR

O teste HOMA-IR foi calculado com base na equação que envolve o produto entre a concentração sérica basal de insulina e a concentração sérica basal de glicose, segundo a fórmula: $HOMA-IR = \text{glicemia (mmol/L)} \times \text{insulina (mUI/L)} / 22,5$. RI foi definida como HOMA-IR acima de 2(63,64).

4.6 CÁLCULO DO ÍNDICE DE MASSA CORPORAL

O IMC foi calculado a partir da divisão do peso do paciente, em quilogramas, pelo quadrado da altura em metros. O IMC foi expresso em kg/m^2 .

IMC (kg/m^2)	Classificação
< 18,5	Magro
18,5 a 24,9	Normal
25 a 29,9	Sobrepeso
30 a 34,9	Obeso I
35 a 39	Obeso II
> 40	Obeso Mórbido

4.7 ROTINA DE AVALIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL

Todos os pacientes foram submetidos à anamnese, exame físico e medida da altura e do peso corporal, além de avaliação laboratorial: glicemia e insulinemia de jejum, colesterol total e suas frações e triglicerídios, hemograma, plaquetas, bilirrubinas, aminotransferases (ALT e AST), fosfatase alcalina, gama-glutamilttransferase (GGT), HBsAg, Anti HIV e tempo de Protrombina. Os exames foram realizados pelos métodos convencionais.

4.8 BIÓPSIA HEPÁTICA E ANÁLISE HISTOLÓGICA

Foi incluído paciente com biópsia hepática realizada nos últimos dois anos, com achados compatíveis o diagnóstico de hepatite crônica C. As lâminas foram analisadas por patologista do HCPA, experiente no procedimento.

A classificação histológica empregada para o estadiamento da fibrose foi a do componente de fibrose da classificação METAVIR (73), composta pelos seguintes estágios: F0 = pacientes sem fibrose; F1 = fibrose portal sem septos; F2 = fibrose portal com raros septos; F3 = numerosos septos sem cirrose; F4 = cirrose.

A classificação histológica empregada para a avaliação da esteatose foi a de Brunt e cols.(101): Grau 0 (ausente) = menos de 5% de esteatose; Grau 1 (leve) = entre 5% e 33% dos hepatócitos com esteatose; Grau 2 (moderada) = entre 33% e 66% dos hepatócitos com esteatose; Grau 3 (intensa) = mais de 66% dos hepatócitos com esteatose.

4.9 CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA

Para detectar diferença absoluta no teste HOMA entre os grupos de pacientes portadores do VHC com genótipo 1 versus genótipo 3 da ordem de um desvio padrão, considerando-se iguais variâncias entre os grupos, foi estimado o total de 34 pacientes (17 para genótipo 1 e 17 para genótipo 3). Os cálculos foram realizados

por meio do programa COMPARE 2 (versão 1.21), integrante do PEPI (versão 4.0), considerando-se o intervalo de confiança de 95% e poder do estudo de 80%.

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados das variáveis categóricas serão apresentados em forma de proporções e das variáveis contínuas em forma de média e desvio padrão. Para a associação de variáveis categóricas com variáveis ordinais foi usado o teste de Mann-Whitney. Para a associação com variáveis contínuas, primeiro, avaliou-se, através do teste de Kolmogorov-Smirnov, se a variável apresentava distribuição normal, assumindo alfa crítico = 0,05. Caso o teste fosse significativo, o teste não-paramétrico (Mann-Whitney) seria utilizado; caso contrário, primeiro, seria avaliada a igualdade das variâncias através do teste de Levene; nos casos em que este era significativo (alfa crítico = 0,1), usou-se o teste t de student para diferentes variâncias e, naqueles em que o teste não era significativo, usou-se o teste t de student para iguais variâncias. Para a associação entre variáveis categóricas utilizou-se o teste do qui-quadrado, com correção de Yates, uma vez que todas as associações geraram tabelas de contingência (2x2). Quando era observado, em pelo menos uma casela, um “n” inferior a 5, usou-se o teste exato de Fisher. Os testes utilizados foram sempre bicaudais. A análise dos dados foi realizada com o auxílio do software SPSS v13.

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO ESTUDADA

Dos 44 pacientes incluídos, verificou-se que 23 (52,3%) possuíam genótipo 1 e 21 (47,7%) possuíam genótipo 3 do VHC. Os dados demográficos (sexo, idade, IMC), laboratoriais (ALT, colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, triglicerídios, glicemia, insulinemia, carga viral do VHC) e histológicos (fibrose, esteatose hepática e atividade necro-inflamatória) dos pacientes da presente casuística podem ser analisados na tabela 3 e na lista completa de pacientes (Apêndice B).

Tabela 3 - Características demográficas, laboratoriais e histológicas em pacientes com hepatite crônica C, infectados pelo genótipo 1 ou 3 do VHC.

PARÂMETRO	Amostra Global (n=44)	VHC genótipo 1 (n= 23)	VHC genótipo 3 (n= 21)	P
Gênero masculino n (%)	30 (68%)	17 (74%)	13 (62%)	0,60
Idade em anos (média±dp)	47,5 ±9,1	46,5 ±9,9	48,6 ±8,3	0,44
IMC em kg/m ² (média±dp)	25 ±1,8	25,2 ±1,7	24,7 ±1,9	0,31
ALT em UI/ml (média±dp)	104 ±51	103 ±58	105 ±43	0,9
Colesterol total em mg/dl (média±dp)	161 ±28	161 ±27	161 ±30	1
Colesterol LDL em mg/dl (média±dp)	93 ± 5	94 ±26	92 ±24	0,83
Colesterol HDL em mg/dl (média±dp)	49,5 ±14	49 ±16	50 ±13	0,94
Triglicerídeos em mg/dl (média±dp)	100 ± 8	106 ±38	93 ±37	0,26
Glicemia em mg/dl (média±dp)	92 ±8	92 ±8	93 ±9	0,82
Insulinemia em mmol/l (média±dp)	11,9 ±7	11,7 ±6,9	12 ±7,2	0,9
Viremia log UI/ml (média±dp) *	6,1 ±0,6	6,3 ±0,6	5,9 ±0,5	0,02
Grau de Esteatose hepática (média±dp)	1,09 ±0,71	1,04 ±0,77	1,14 ±0,66	0,39
Esteatose hepática n (%)	37 (84,1%)	19 (82,6%)	18 (85,7%)	1
Fibrose Metavir (média±dp)	1,39 ±1,15	1,52 ±1,08	1,24 ±1,22	0,33
Fibrose F2/F3 Metavir n (%)	16 (36%)	10 (44%)	6 (29%)	0,48
Atividade Metavir (média±dp)	1,52 ±0,85	1,52 ±0,85	1,52 ±0,87	0,89

*Dados de carga viral disponíveis em 21/23 pacientes com genótipo 1 e em 18/21 pacientes com genótipo 3; VHC = vírus da hepatite C; IMC = índice de massa corporal; ALT = alanina aminotransferase; LDL = lipoproteína de baixa densidade; HDL = lipoproteína de alta densidade.

5.2 GRAU E PREVALÊNCIA DE RI NA POPULAÇÃO ESTUDADA

A média do grau de RI na população estudada, avaliado pelo teste HOMA-IR, foi $2,71 \pm 1,59$. Dentre os 44 pacientes incluídos, verificou-se que 27 pacientes (61,4%) apresentavam RI, definida como HOMA-IR > 2 (figura 3).

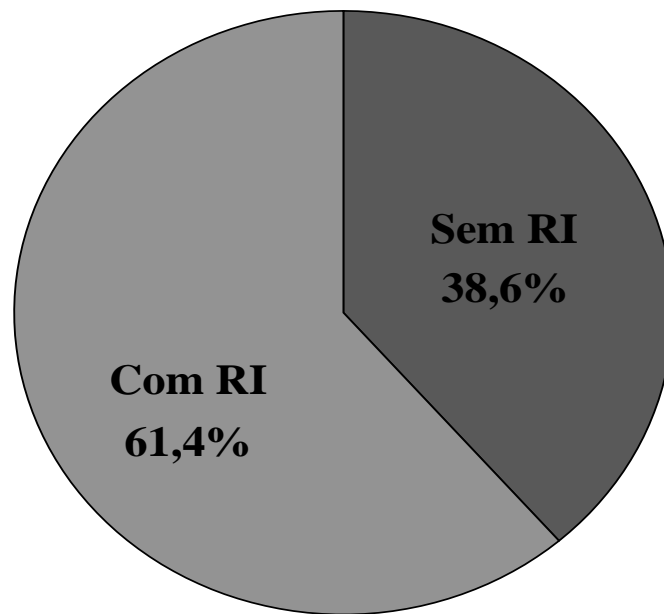


Figura 3 - Prevalência de RI nos pacientes com VHC

5.3 GRAU E PREVALÊNCIA DE RI DE ACORDO COM O GENÓTIPO DO VHC

A média do grau de RI na população estudada, avaliado pelo teste HOMA-IR, foi superior no genótipo 3 *versus* genótipo 1 ($2,8 \pm 1,75$ *versus* $2,63 \pm 1,46$ respectivamente). $P=0,74$.

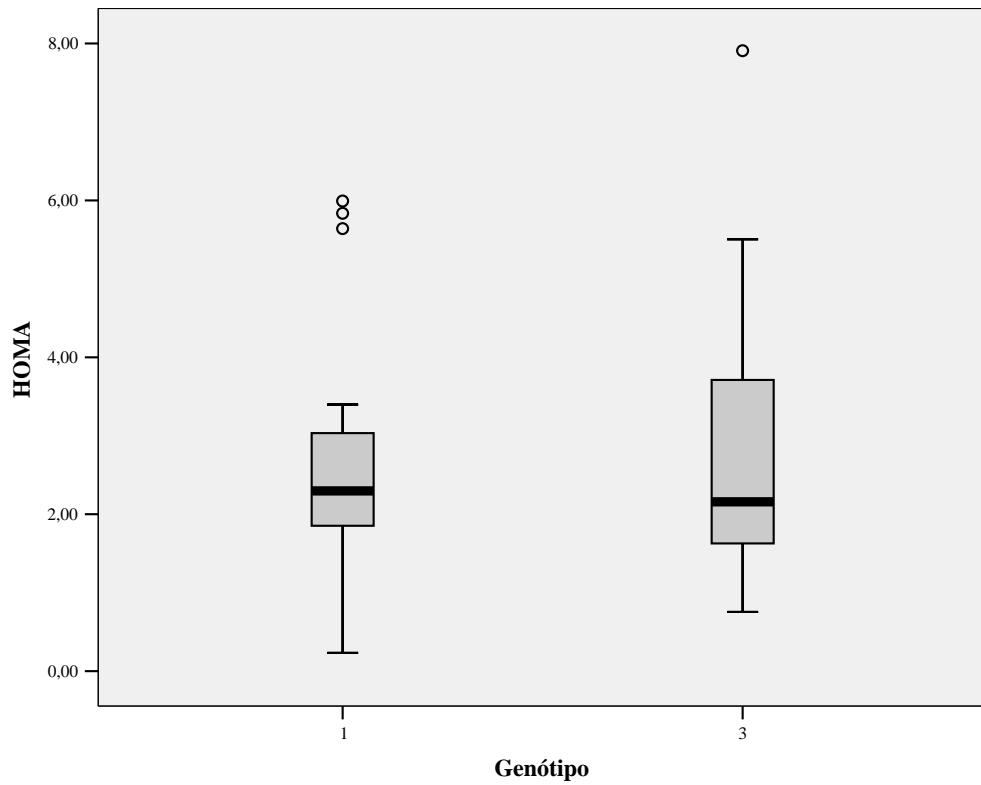


Figura 4 - Distribuição do grau de RI em pacientes com genótipo 1 versus 3 do VHC.

A ocorrência de RI (HOMA>2) de acordo com o genótipo do VHC não alcançou diferença significativa entre os grupos ($P=0,81$), estando resumida na figura 5.

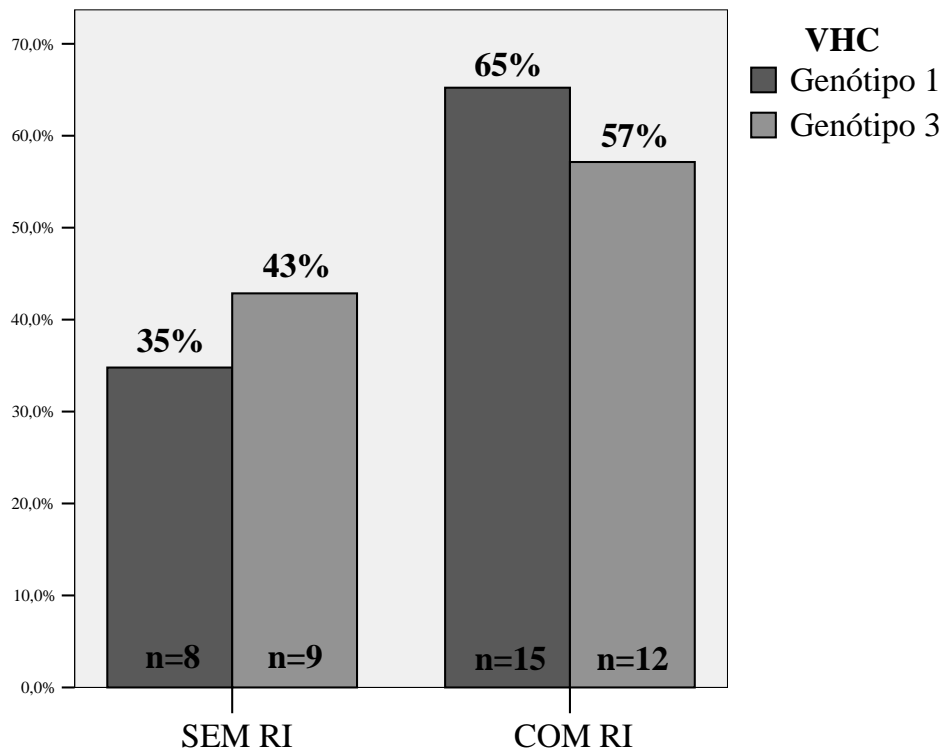


Figura 5 - Ocorrência de RI de acordo com o genótipo do VHC

5.4 RELAÇÃO ENTRE RI E EH NA POPULAÇÃO ESTUDADA

Na amostra estudada, verificaram-se 37 pacientes (84,1%) com algum grau de EH (figura 6).

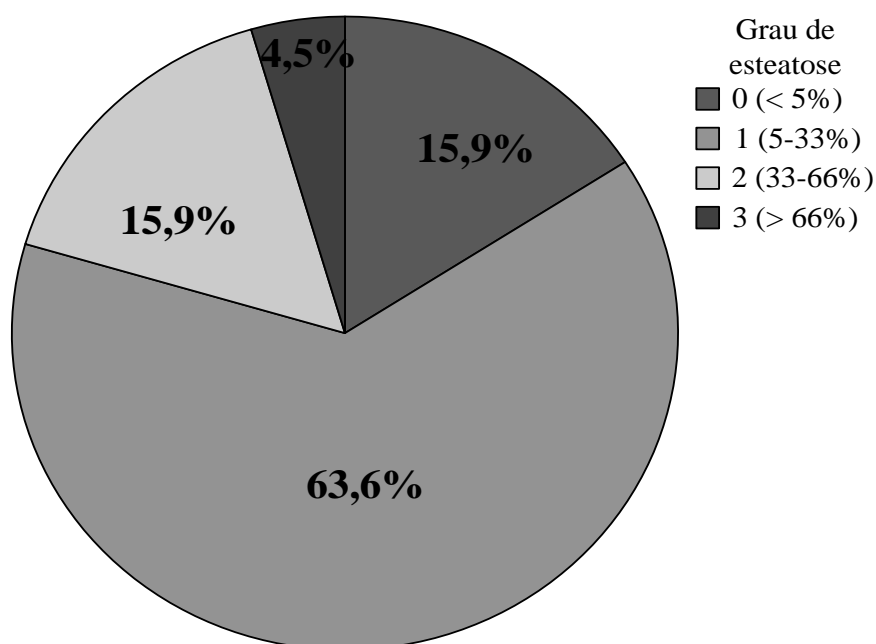


Figura 6 - Prevalência de EH nos pacientes com VHC

5.4.1 Prevalência de EH de acordo com o genótipo do VHC

Dentre os 23 pacientes com genótipo 1 estudados na presente casuística, verificou-se esteatose em 19 (82,6%). Dos 21 pacientes com genótipo 3, por outro lado, verificou-se esteatose em 18 (85,7%), sendo a diferença estatística não significativa ($P=1$) (Tabela 4 e figura 7).

Tabela 4 - Graus de esteatose na amostra global e de acordo com o genótipo do VHC.

Grau de Esteatose	Amostra global (n=44)	VHC genótipo 1 (n=23)	VHC genótipo 3 (n=21)
0 (< 5%)	7 (15,9%)	4 (17,4%)	3 (14,3%)
1 (5 – 33%)	28 (63,6%)	16 (69,6%)	12 (57,1%)
2 (33 – 66%)	7 (15,9%)	1 (4,3%)	6 (28,6%)
3 (> 66%)	2 (4,5%)	2 (8,7%)	0

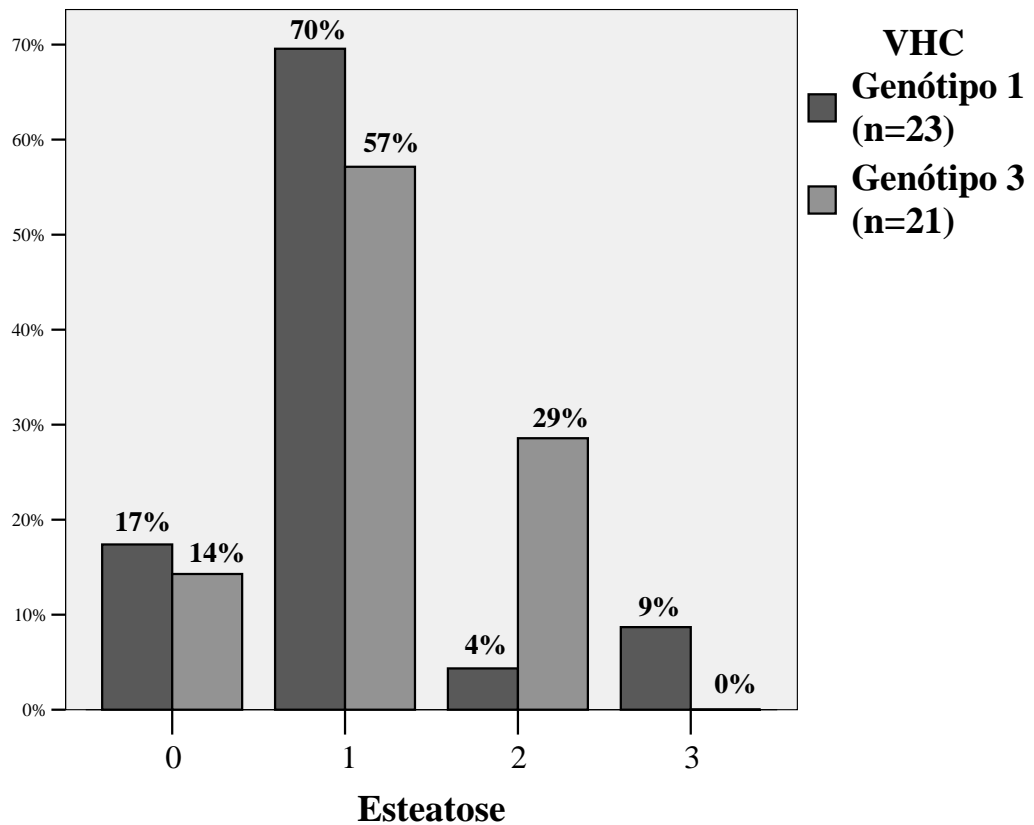


Figura 7 - Prevalência de EH de acordo com o genótipo do VHC

5.4.2 Prevalência de EH de acordo com a RI.

Dos 27 pacientes com RI estudados na presente casuística, verificou-se esteatose em 25 (92,6%). Dos 17 pacientes sem RI, por outro lado, verificou-se esteatose em 12 (70,6%). ($P=0,09$) (Figuras 8, 9 e tabela 5).

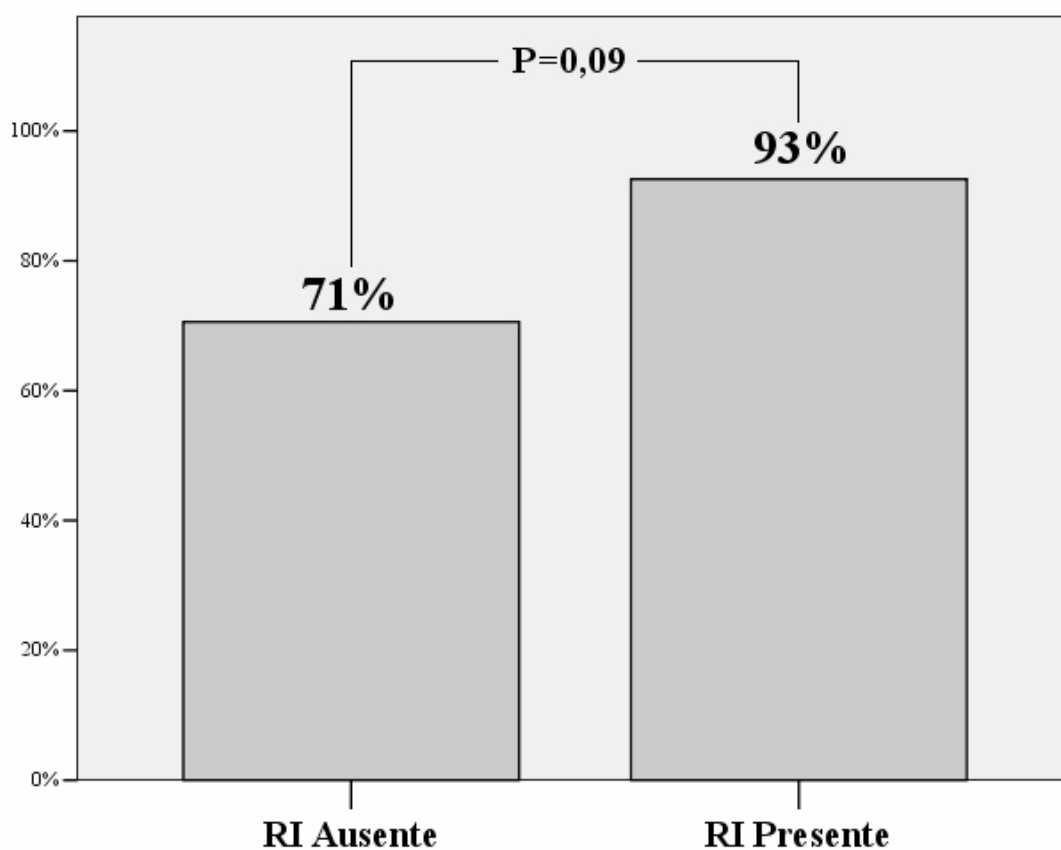


Figura 8 – Prevalência de EH de acordo com RI

Tabela 5 - Graus de esteatose na amostra global e de acordo com a RI

Grau de Esteatose	Amostra global (n=44)	Com RI (n=27)	Sem RI (n=17)
0 (< 5%)	7 (15,9%)	2 (7,4%)	5 (29,4%)
1 (5 – 33%)	28 (63,6%)	17 (63%)	11 (64,7%)
2 (33 – 66%)	7 (15,9%)	6 (22,2%)	1 (5,9%)
3 (> 66%)	2 (4,5%)	2 (7,4%)	0

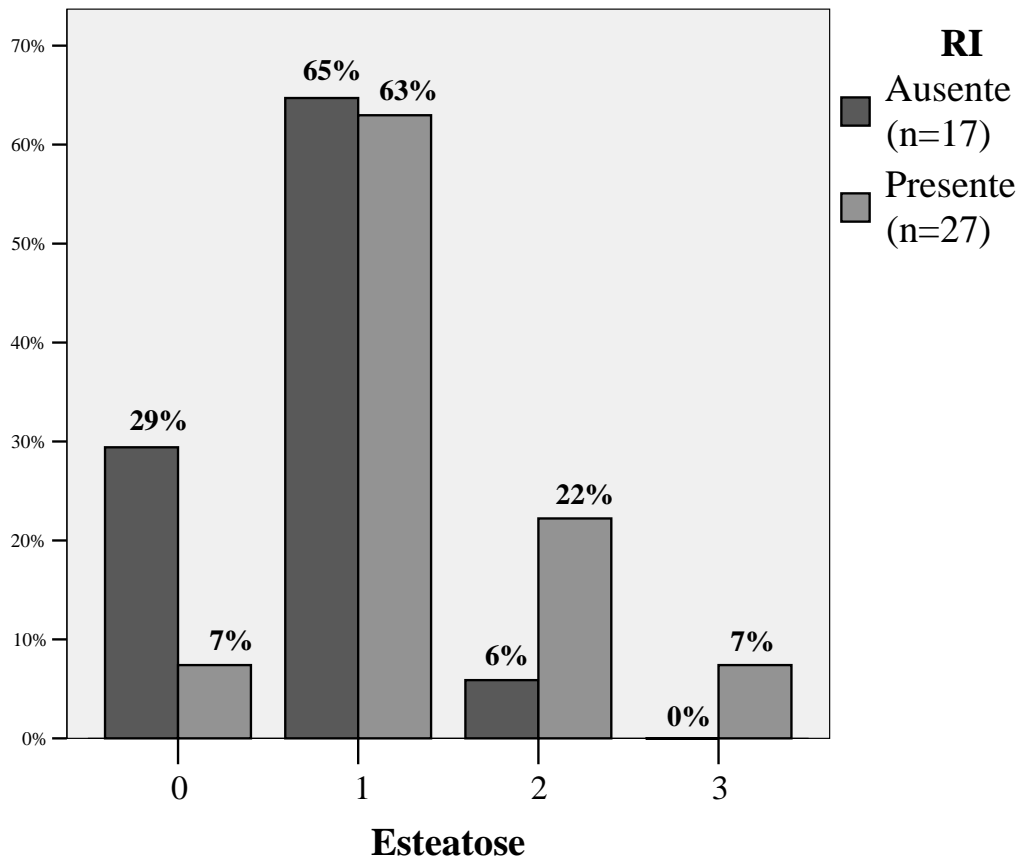


Figura 9 - Presença de EH em RI

5.5 Relação entre RI e FH na População Estudada

Dos 27 pacientes com RI estudados na presente casuística, verificou-se fibrose moderada ou intensa em 15 (56%). Dos 17 pacientes sem RI, por outro lado, verificou-se fibrose moderada ou intensa em 1 (6%), apresentando diferença estatisticamente significativa ($P < 0,01$). (Figura 10).

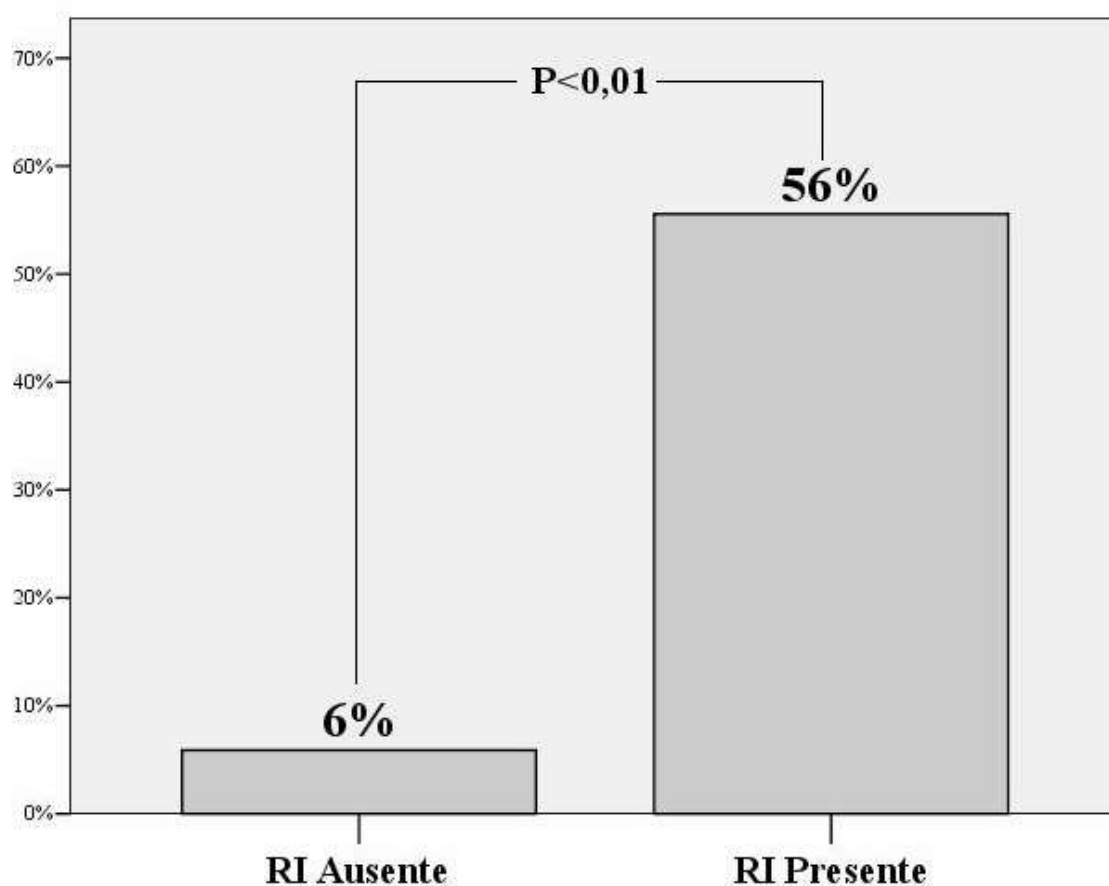


Figura 10: Presença de FH em RI

5.5 RELAÇÃO ENTRE RI E DADOS DEMOGRÁFICOS, LABORATORIAIS E HISTOLÓGICOS NA POPULAÇÃO ESTUDADA

A comparação entre os pacientes com e sem RI, quanto às suas características demográficas, laboratoriais e histológicas, encontra-se resumida na tabela 6.

Tabela 6 - Características demográficas, laboratoriais e histológicas em 44 pacientes portadores de hepatopatia crônica pelo vírus C, com e sem RI.

PARÂMETRO	Com RI (n= 27)	Sem RI (n= 17)	P
Genótipo 1 n (%)	15(55%)	8(47%)	0,81
Genótipo 3 n (%)	12 (44%)	9 (52,9%)	0,81
Sexo masculino n (%)	21 (77,8%)	9 (52,9%)	0,17
Idade em anos (média ± dp)	49,4 ± 9,3	44,5 ± 8,2	0,08
IMC (média ± dp)	25,5 ± 1,4	24,1 ± 2,1	0,01
ALT (média ± dp)	107± 51	100± 52	0,66
Colesterol total (média ± dp)	163± 27	157± 30	0,45
Colesterol LDL (média ± dp)	98 ± 22	84 ± 23	0,07
Colesterol HDL (média ± dp)	47± 11	53 ± 18	0,17
Triglicérides (média ± dp)	105± 38	92± 37	0,27
Carga viral log ₁₀ (média ± dp) *	6,1± 0,6	6,1± 0,6	0,7
Esteatose n (%)	25 (92,6%)	12 (70,6%)	0,09
Grau de esteatose (média ± dp)	1,3 ± 0,72	0,76 ± 0,56	0,01
Metavir F2/F3 n (%)	15 (55,6%)	1 (5,9%)	< 0,01
Grau de fibrose (média ± dp)	1,74± 1,29	0,82 ± 0,53	0,03
Grau de atividade (média ± dp)	1,67± 0,78	1,29 ± 0,92	0,09

*Dados disponíveis em 26/27 pacientes, com RI e em 13/17 sem RI

6 DISCUSSÃO

A hepatite C é problema de saúde pública mundial (1). Atualmente, considera-se que a RI está associada com DHGNA, porém seu papel na hepatite crônica C é menos compreendido. Vários estudos têm confirmado a associação entre os diferentes genótipos de pacientes infectados com VHC e EH (9,13,16), porém, ainda não está comprovada a relação entre RI e genótipos do VHC, existindo autores que encontraram maiores RI com genótipo 1 (49,85) e outros com genótipo 3 (96).

O trabalho de Fartoux e cols.(102) aumentou as evidências na relação entre VHC, EH e RI com o genótipo do vírus C. Estes autores observaram que pacientes infectados com o genótipo 3 tinham maior grau de EH, independente do IMC, do estágio da doença hepática e da presença ou ausência de DM. No entanto, paradoxalmente, não houve maior grau de RI nesses pacientes, indicando que o genótipo 3 pode não influenciar a patogênese desse processo de forma independente dos outros genótipos.

Além disso, o grau de EH nos pacientes infectados com genótipo 3 do VHC mantém relação com a carga viral, reforçando a possibilidade de a EH ser de origem “viral” e não “metabólica” nesses pacientes. Por sua vez, os níveis de VHC-RNA não se correlacionam com o grau de EH e RI em pacientes infectados com o genótipo 1 do VHC. Isso explicaria o fato de que pacientes com genótipo 3 costumam apresentar tendência maior para o desaparecimento da EH e RI quando ocorre o clareamento viral, após tratamento com IFN + RBV.

Nesses indivíduos com genótipo 1 do VHC, tem sido bem documentada a participação de fatores do hospedeiro, tais como idade, obesidade central, IMC e as alterações no metabolismo lipídico no desenvolvimento de EH e RI (103). Nesse sentido, a EH, em pacientes infectados com o genótipo 1, está cada vez mais sendo reconhecida como componente da Síndrome Metabólica (104), sendo a RI considerada como fator de risco independente para o desenvolvimento de EH nesses pacientes (102).

No presente estudo, utilizou-se o método HOMA, amplamente usado na literatura mundial (63), para determinar a RI, definida como $HOMA > 2$. Foram detectados RI em 27, dos 44 pacientes estudados (61,4%). No entanto, na casuística em foco, ao contrário da literatura, não houve diferença significativa entre o grau de RI encontrado nos pacientes com genótipo 1 versus genótipo 3 do VHC (65% versus 57%, $P > 0,05$). Esse fato pode estar relacionado tanto ao número de pacientes estudados quanto à seleção de pacientes sem fatores de risco para DHGNA, diminuindo, assim, a chance de encontrar maior grau de RI de origem “metabólica”.

Outro fator que pode ter contribuído na ausência de achado de diferença estatisticamente significativa no grau de RI, entre os genótipos do VHC, pode estar relacionado à menor carga viral do genótipo 3 em relação ao 1 encontrada nesta casuística ($5,9 \pm 0,5$ versus $6,3 \pm 0,6$; $P = 0,02$). Esse achado é relevante na medida em que a carga viral do VHC genótipo 3 tem sido relacionada a RI e EH, enquanto que a do genótipo 1 não. Desta maneira, pode ser aventada a possibilidade de que a análise de pacientes com carga viral mais elevada e genótipo 3 do VHC possa revelar maior prevalência de RI

Todavia, deve-se concluir que a ausência de relação significativa entre RI e genótipo do VHC, observada no presente estudo, reflete a controvérsia existente atualmente na literatura, lançando dúvida em relação à capacidade de dividir os pacientes com hepatite C em esteatose “metabólica” e “viral” apenas com base no genótipo do VHC.

Esse achado reforça a necessidade de se empregar teste específico para a detecção de RI, ao invés de se confiar simplesmente na determinação do genótipo do VHC como fator único na avaliação da patogênese da EH. Neste estudo, escolheu-se o teste HOMA-IR pela sua simplicidade e correlação comprovada com o CEH.

A importância de estabelecer o grau de RI em pacientes com hepatite crônica C reside no número cada vez maior de evidências indicando a importância desse achado na evolução clínica dos pacientes. De fato, em publicação recente (105), os autores concluíram que houve relação entre RI, EH e fibrose em pacientes com

hepatite crônica C, diminuindo inclusive a chance de RVS ao tratamento antiviral (35,36,47,65,83,106).

No estudo em foco, verificou-se associação entre RI e fibrose. De fato, na presente casuística, a fibrose intensa (F2 e F3 na classificação Metavir) foi significativamente maior nos 27 pacientes com RI em comparação com os 17 pacientes sem RI (56% versus 6%, respectivamente; $P < 0,01$). Esse achado vem ao encontro das publicações mais recentes encontradas na literatura médica, indicando que hiperinsulinemia leva à proliferação das células estelares e aumento da expressão do fator de crescimento do tecido conectivo, fator chave para a fibrose hepática (107).

Os dados atuais indicam, portanto, que ambos, EH e RI atuam conjuntamente para a progressão da doença em pacientes portadores de hepatite crônica C, reforçando a importância da determinação da RI em pacientes com infecção crônica pelo VHC, pois sua correção farmacológica poderia diminuir a fibrose hepática e aumentar a RVS ao tratamento antiviral (49,102,104,105,107,108).

Nesse sentido, Lonardo e cols.(94) mostraram melhora da EH após tratamento farmacológico da RI, indicando que esta deva ser causa e não consequência da EH.

Alguns autores relacionam a fibrose hepática na hepatite C ao gênero masculino (109). No presente estudo, foi observado maior tendência à fibrose significativa (F2 e F3 na classificação Metavir) em pacientes do sexo masculino versus feminino (47% versus 14%, respectivamente). O pequeno número de pacientes estudados impede a realização de análise multivariada para determinar se esse fator de risco para fibrose foi independente da EH e RI nesta casuística.

Os mecanismos pelos quais o VHC desenvolve RI e EH ainda não estão totalmente esclarecidos. Neste trabalho, não foi realizada pesquisa dos fatores causais de RI em pacientes infectados pelo VHC. No entanto, o fato de se haver encontrado prevalência tão elevada de RI (61%) e EH (84%), mesmo selecionando pacientes sem fatores de risco para síndrome metabólica, permite considerar que

realmente deva existir relação específica entre a infecção crônica pelo VHC e distúrbios profundos no metabolismo da glicose.

Sabe-se que a EH, nos pacientes infectados com o VHC, tem predominantemente a forma macrovesicular. As características histológicas encontradas em biópsias de pacientes com VHC podem ser difíceis de definir em pacientes com superposição de outras hepatopatias, tais como a ingestão excessiva de bebidas alcoólicas, DM, uso de drogas hepatotóxicas, EHNA e hepatite B (110). Neste estudo, evitaram-se esses possíveis fatores de confusão por meio da exclusão de pacientes com essas co-morbidades.

Baseado em estudos de imagem e de autópsias, estima-se que 20% a 30% dos adultos nos Estados Unidos são portadores de EH (85). Wanless & Lentz encontraram EH em 70% dos obesos e em 35% de não-obesos em estudo de autópsias (111).

Em pacientes com hepatite crônica C, a EH é achado freqüente, ocorrendo em cerca de 30% a 90% dos casos (31,34,49,51,85,112,113,114,115). Nesse sentido, Ramesch e cols.(34) encontraram 50% de EH em pacientes consecutivos não selecionados com infecção crônica pelo VHC. Da mesma forma, Camma e cols.(49), avaliando pacientes europeus com hepatite crônica C genótipo 1, não-diabéticos e sem fatores de risco para Síndrome Metabólica, encontraram EH em 60% dos casos, sendo a maioria com EH leve, porém alguns com EH moderada ou intensa (38% versus 19%, respectivamente). Em publicação recente, Antunez e cols.(114) verificaram EH em 89%, de um grupo de 46 pacientes com hepatite crônica C, infectados com o genótipo 1 foi de 67%, sendo 63% na forma leve e 19% nas formas moderada ou intensa.

No presente estudo, encontrou-se EH em 37, dos 44 pacientes estudados (84%), mesmo selecionando indivíduos sem fatores de risco para DHGNA. Apesar da alta prevalência de EH encontrada nesta casuística, deve-se ressaltar que, dentre os casos com EH, a maioria foi classificada como leve (76%), sendo menos freqüente o achado de EH moderada (19%) ou intensa (5%). A maior freqüência de EH leve, no presente estudo, está de acordo com os achados relatados por Camma e cols.(49) e Antunez e cols.(114).

Dos 27 pacientes com RI estudados na presente casuística, verificou-se EH em 25 (93%). Por sua vez, dentre os 17 pacientes sem RI, verificou-se EH em 12 (71%) ($P=0,09$). A relação entre RI e EH fica mais evidente quando se comparam os 37 pacientes com EH versus os 7 sem EH, encontrando RI em 68% versus 29%, respectivamente. Além disso, a média do teste HOMA foi maior nos 37 pacientes com EH versus 7 pacientes sem EH ($2,9 \pm 1,62$ versus $1,73 \pm 0,89$; $P=0,074$). O fato de não ter sido encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos, apesar da forte tendência, pode estar relacionado ao tamanho da amostra ou à seleção de pacientes sem fatores de risco para síndrome metabólica.

Quando comparada a RI entre os genótipos 1 e 3 do VHC, a diferença não foi estatisticamente significativa (65% versus 57%, respectivamente). Estes dados estão de acordo com os encontrados em alguns trabalhos publicados na literatura mundial (49,103). No entanto, deve-se ressaltar que houve correlação positiva entre o grau de RI e EH em ambos os genótipos, sendo considerada estatisticamente significativa no genótipo 3 ($P<0,001$). Além disso, a média do teste HOMA foi maior nos pacientes com genótipo 3 versus 1 ($2,8 \pm 1,75$ versus $2,63 \pm 1,46$ respectivamente). Embora sem atingir diferença estatisticamente significativa, estes achados, analisados em conjunto, são realmente intrigantes, levando a pensar que pode realmente existir papel específico do genótipo 3 na gênese da RI e EH.

Alguns autores, por outro lado, encontraram maior grau de RI em pacientes infectados pelo genótipo 1(104), porém não selecionaram pacientes sem fatores de risco para síndrome metabólica. Nesta amostra, ao contrário, excluíram-se os portadores de DM, dislipidemia e obesidade, justificando, pelo menos teoricamente, as diferenças encontradas.

De fato, na amostra global deste trabalho, o IMC foi de 25 com um desvio padrão de mais ou menos 1,8, sem diferença estatisticamente significativa entre os genótipos 1 e 3 do VHC. Como o IMC é considerado fator de risco independente para EH e RI, especialmente em pacientes com hepatite crônica C genótipo 1 (9,41,109,115), a exclusão desse fator de risco deve ter diminuído a prevalência de EH e RI neste grupo.

No presente estudo, detectou-se alta prevalência de RI e EH. Não houve correlação estatisticamente significativa entre RI e genótipo 1 ou 3 do VHC. Também não houve correlação significativa entre RI e EH, apesar de forte tendência. Deu-se, no entanto, associação entre RI e fibrose hepática. Esse achado indica que a presença de RI, determinada pelo método HOMA, foi capaz de identificar subgrupo de pacientes com maior dano hepático. Apesar de não estar ainda definido se a patogênese da RI é “metabólica” ou “viral”, sua importância na evolução da hepatite crônica C está cada vez mais comprovada. Por estes achados, em conjunto com os descritos na literatura médica atual, verifica-se que a RI não pode mais ser ignorada nos algoritmos de manejo da hepatite C. Espera-se que esse e outros estudos futuros contribuam para o melhor entendimento das complexas relações existentes entre o VHC e o hospedeiro, permitindo elucidar os mecanismos envolvidos na progressão da doença e na dificuldade da erradicação deste agente infeccioso, que constitui, atualmente, um dos maiores problemas de saúde pública em nível mundial.

7 CONCLUSÕES

7.1 Encontrou-se RI em 61% dos 44 pacientes com hepatite crônica C sem fatores de risco para DHGNA. O grau de RI em pacientes, infectados com genótipo 1 versus genótipo 3 do VHC, não foi estatisticamente diferente, tanto no que diz respeito à prevalência (65% versus 57%, respectivamente) quanto à magnitude (2,6 versus 2,8, respectivamente).

7.2 Quanto à relação entre RI e EH nestes pacientes, verificou-se correlação positiva, havendo RI em 68% dos pacientes com EH versus 29% dos sem EH, sem atingir, no entanto, diferença estatisticamente significativa.

7.3 Ao analisar a relação entre RI e fibrose hepática, houve diferença estatisticamente significativa na presente casuística, sendo encontrada maior prevalência de fibrose intensa (F2 e F3 na classificação Metavir) nos 27 pacientes com RI em comparação com os 17 pacientes sem RI (56% versus 6%, respectivamente, $P < 0,01$).

REFERÊNCIAS

1. The Global Burden of Hepatitis C Working Group. Global burden of disease (GBD) for hepatitis C. *J Clin Pharmacol.* 2004; Jan ;44(1):20-9.
2. Ahmed A, Keeffe EB. Hepatitis C virus and liver transplantation. *Clin Liver Dis* 2001; 5: 1073-1077.
3. Alberti A, Chemello L, Benvegnú L. Natural history of hepatitis C. *J Hepatol* 1999; 31 (Suppl. 1): 17-24.
4. NIH Consensus Development Conference Statement: Management of Hepatitis C: 2002. *Hepatology* 2002; 36: S3-S20.
5. Strader DB, Wright T, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C. *Hepatology* 2004; 39: 1147-1171.
6. McCullough AJ, Falck-Ytter Y. Body composition and hepatic steatosis as precursors for fibrotic disease. *Hepatology* 1999; 29: 1328-1330.
7. Hourigan LF, MacDonald GA, Purdie D, et al. Fibrosis in chronic hepatitis C correlates significantly with body mass index and steatosis. *Hepatology* 1999; 29: 1215-1219.
8. Zaitoun AM, Al Mardini H, Awad S, et al. Quantitative assesment of fibrosis and steatosis in liver biopsies from patients with chronic hepatitis C. *J Clin Pathol* 2001; 54: 461-465.
9. Adinolfi LE, Cambardella M, Adreana A, et al. Steatosis accelerates the progression of liver damage of chronic hepatitis C patients and correlates with specific HCV genotype and visceral obesity. *Hepatology* 2001; 33: 1358-1364.
10. McCullough AJ. Obesity and its nurturing effect on hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38:557-559.
11. Zeuzen S. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of chronic hepatitis C in previously untreated patients infected with HCV genotypes 2 or 3. *J Hepatol* 2004; 40: 993-999.
12. Bressler BL, Guindi M, Tomlinson G, Heathcote J. High body mass index is an independent risk factor for nonresponse to antiviral treatment in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38: 639-644.
13. Poynard T, Ratziu V, McHutchison J, et al. Effect of treatment with peginterferon or interferon alfa-2b and ribavirin on steatosis in patients infected with hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38: 75-85.

14. McCullough AJ. Steatosis and hepatitis C. American Association for the Study of Liver Diseases, Post-Graduate Course. Liver disease in the 21st century: clinico-pathologic correlates. Boston, USA. 2003: 82-89.
15. Westin J, Nordlinger H, Lagging M, et al. Steatosis accelerates fibrosis development over time in hepatitis C virus genotype 3 infected patients. *J Hepatol* 2002; 37: 837-842.
16. Romero-Gómez M, Castellano-Megias VM, Grande L, et al. Serum leptin levels correlate with hepatic steatosis in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1135-1141.
17. Testino G. Steatosis and hepatitis C *Recenti Prog Med*. 2005; Dec;96(12):621-33; quiz 654. Review. Italian.
18. Caronia S, Taylor K, Pagliaro L, et al. Further evidence for an association between non-insulin-dependent diabetes mellitus and chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 1999; 30: 1059-1065.
19. Petit JM, Bour JB, Galland-Jos C, et al. Risk factors for diabetes mellitus and early insulin resistance in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2001; 35: 279-287.
20. Duong M, Petit JM, Piroth L, et al. Association between insulin resistance and hepatitis C virus chronic infection in HIV-hepatitis C virus-coinfected patients undergoing antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2001; 27(3): 245.
21. Delgado-Borrego A, Casson D, Schoenfeld D, et al. *Transplantation* 2004; 77: 703-710.
22. *GUT* 2006 – Asselah Volume 55(1), January 2006; pp 123-130).
23. Murray R, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper: Bioquímica. 8ª ed. São Paulo, Atheneu, 1998.
24. McCullough AJ. The Clinical features, diagnosis and natural history of nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis*. 2004; Aug;8(3):521-33,Review.
25. Ruhl CE, Everhart JE. Epidemiology of nonalcoholic fatty liver. *Clin Liver Dis*. 2004; Aug,8(3):501-19, Review.
26. Sheth SG, Gordon FD, Chopra, S. Nonalcoholic Steatohepatitis. *Ann Intern Med*, 1997; 126: 137-145.
27. Hautekeete ML, Degott C, Benhamou JP. Microvesicular steatosis of the liver. *Acta Clin Belg*. 1990;45(5):311-26.
28. Bacon BR, Farahvash MJ, Janney CG, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: an expanded clinical entity. *Gastroenterology* 1994; 107: 1103-1109.
29. Steenbergen WV, Lanckmans S. Liver disturbances in obesity and diabetes mellitus. *I J Obesity*, 1995; 19: 27-36.

30. Scheuer PJ, Ashrafzadeh P, Sherlock S, et al. The pathology of hepatitis C. *Hepatology* 1992; 15: 567-571.
31. Patel K, Zekry A, MchHutchison JG. Steatosis and Chronic Hepatitis C Virus Infection: Mechanisms and Significance. *Clin Liver Dis* 9 (2005)- 399-410.
32. Younossi ZM, McCullough AJ, Ong JP, et al. Obesity and non-alcoholic fatty liver disease in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2003; 124: A745.
33. Charlton MR, Pockros PJ, Harrison SA. Impact of obesity on treatment of chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2006; Jun;43(6):1177-86. Review.
34. Ramesh S, Sanyal AJ: Hepatitis C and Nonalcoholic Fatty Liver Disease; *Seminars in Liver Disease*, vol 24, number 4, 2004.
35. Camma C, Bruno S, Di Marco V, Di Bona D, Rumi M, Vinci M, Rebucci C, Cividini A, Pizzolanti G, Minola E, Mondelli MU, Colombo M, Pinzello G, Craxi A. Insulin resistance is associated with steatosis in nondiabetic patients with genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2006; Jan;43(1):64-71.
36. Harrison SA. Steatosis and chronic hepatitis C infection: mechanisms and significance. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2005; Oct;3(10 Suppl 2):S92-6.
37. Mundt B, Wirth T, Zender L, Waltemathe M, Trautwein C, Manns MP, Kuhnel F, Kubicka S. Tumour necrosis factor related apoptosis inducing ligand (TRAIL) induces hepatic steatosis in viral hepatitis and after alcohol intake. *Gut*. 2005; Nov; 54(11):1590-6.
38. Marchesini G, Babini M. Nonalcoholic fatty liver disease and the metabolic syndrome. *Minerva Cardioangiol*. 2006; Apr;54(2):229-39. Review.
39. Livingston SE, Deubner H, McMahon BJ, Bruden D, Christensen C, Hennessy TW, Bruce MG, Sullivan DG, Homan C, Williams J, Gretch DR. Steatosis and hepatitis C in an Alaska Native/American Indian population. *Int J Circumpolar Health*. 2006; Jun;65(3):253-60.
40. Lonardo A, Loria P, Adinolfi LE, Andreana A, Ruggiero G, Carulli N. Hepatitis C virus-associated and metabolic steatosis. Different or overlapping diseases? *Ann Ital Med Int*. 2005; Jan-Mar; 20(1):10-22.
41. Hui JM, Kench J, Farrell GC, Lin R, Samarasinghe D, Liddle C, Byth K, George J, Genotype-specific mechanisms for hepatic steatosis in chronic hepatitis C infection. *Gastroenterology Hepatol*. 2002; Aug;17(8):873-81.
42. Grassi A, Ballardini G, Susca M, Bianchini F, Bonoli S, Bianchi FB, Lenzi M. HCV liver infection and liver steatosis: evidence for indirect mechanisms in genotype 3? *Aliment Pharmacol Ther*. 2005; Nov;22 Suppl 2:79-82.
43. Kumar D, Farrell GC, Fung C, George J. Hepatitis C virus genotype 3 is cytopathic to hepatocytes: reversal of hepatic steatosis after sustained therapeutic response. *Hepatology* 2002;36:1266-1272.

44. Castera L, Hezode C, Roudot-Thoraval F, et al. Effect of antiviral treatment on evolution of liver steatosis in patients with chronic hepatitis C: indirect evidence of a role of hepatitis C virus genotype 3 in steatosis. *Gut* 2004; 53: 420-424.
45. Eguchi Y, Eguchi T, Mizuta T, Ide Y, Yasutake T, Iwakiri R, Hisatomi A, Ozaki I, Yamamoto K, Kitajima Y, Kawaguchi Y, Kuroki S, Ono N. Visceral fat accumulation and insulin resistance are important factors in nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol*. 2006; May;41(5):462-9.
46. Bondini S, Younossi ZM. Non-alcoholic fatty liver disease and hepatitis C infection. *Minerva Gastroenterol Dietol*. 2006; Jun;52(2):135-43. Review.
47. Zekry A, McHutchison JG, Diehl AM: Insulin Resistance and steatosis in hepatitis C virus infection; *Gut* 2005;54: 903-906.
48. Ferrannini KS, Sturis A, Bell P et al. Insulin resistance and hypersecretion in obesity. *J Clin Invest* 1992: 100:1166-1173.
49. Camma C, Bruno S, Di Marco V, Di Bona D, Rumi M, Vinci M, Rebucci C, Cividini A, Pizzolanti G, Minola E, Mondelli MU, Colombo M, Pinzello G, Craxi A. Insulin resistance is associated with steatosis in nondiabetic patients with genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2006; Jan;43(1):64-71.
50. Sanyal AJ. Review article: non-alcoholic fatty liver disease and hepatitis C risk factors and clinical implications. *Aliment Pharmacol Ther*. 2005; Nov;22 Suppl 2:48-51. Review.
51. Leandro G, Mangia A, Hui J, Fabris P, Rubbia-Brand L, Colloredo G, Adinolfi LE, Asselah T, Jonsson JR, Smedile A, Terrault N, Paziienza V, Giordani MT, Giostra E, Sonzogni A, Ruggiero G, Marcellin P, Powell EE, George J, Negro F, HCV Meta-Analysis (on) Individual Patients Data Study Group. Relationship between steatosis, inflammation and fibrosis in chronic hepatitis C: meta-analysis of individual patient data. *Gastroenterology*. 2006; May; 130(6): 1636-42.
52. Pelletier SJ, Iezzoni JC, Spencer CE, et al. Prediction of liver allograft fibrosis after liver transplantation for hepatitis C. *Liver Transpl* 2000; 6: 44-53.
53. Hickman IJ, Clouston AD, MacDonald GA, et al. Effect of weight reduction on liver histology and biochemistry in patients with chronic hepatitis C. *Gut* 2002;51:89-94.
54. Okuda M, Li K, Beard MR, et al. Mitochondrial injury, oxidative stress, and antioxidant gene expression are induced by hepatitis C virus core protein. *Gastroenterology* 2002;122:366-375.
55. LeClerq IA, Farrell GC, Schreimer R, Robertson GR. Leptin is essential for the hepatic fibrogenic response to chronic liver injury. *J Hepatol* 2002;37:206-213.
56. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, et al. Non-alcoholic fatty liver disease: spectrum of clinical and pathophysiological severity. *Gastroenterology* 1999; 116: 1413-1419.

57. Gao B, Hong F, Radaeva S. Host factors and failure of interferon- treatment in hepatitis C virus. *Hepatology* 2004; 39: 880-890.
58. Bugianesi E, McCullough AJ, Marchesini G. Insulin resistance: a metabolic pathway to chronic liver disease. *Hepatology*. 2005;42:987-1000).
59. American Diabetes Association. Conference development on insulin resistance. *Diabetes Care* 1998;21:310-4.
60. Geloneze B, Tambascia MA; Avaliação Laboratorial e Diagnóstico da Resistência Insulínica. *Arq. Bras. Endocrinol Metab* vol.50 número 2 São Paulo Apr.2006.
61. Matsuhisa M, Yamasaki Y, Emoto M, Shimabukuro M, Funahashi T, Matsuzawa Y. A novel index of insulin resistance determined from the homeostasis model assessment index and adiponectin levels in Japanese subjects. *Diabetes Res Clin Pract.* 200; 6 Oct 31.
62. DeFronzo R, Tobin J, Andres R. Glucose clamp technique: A method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol* 1979;237:E214-23.
63. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care* 2004; 27: 1487-1495.
64. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28: 412-419.
65. Romero-Gómez M, Vilorio MM, Corpas R, et al. Insulin resistance, fibrosis and genotype are predictors of sustained response rate to pegylated interferon plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C (Abstract). *J Hepatol* 2004; 40: 150.
66. Emoto M, Nishizawa Y, Maekawa K, Hiura Y, Kanda H, Kawagishi T, Okuno Y, Morii H: Homeostasis model assessment as a clinical index of insulin resistance in type 2 diabetic patients treated with sulfonylureas. *Diabetes Care* 22:818- 822, 1999.
67. Pereira JA, Lazarin MACT, Carvalho OMF, Pareja JC, Geloneze B, Chain EA, et al. Evaluation of insulin sensitivity in morbid obese patients due to euglycemic hyperinsulinemic clamp. *Arq Bras Endocrinol Metab* 1999;43(suppl. 2):S60.
68. Bonora E, Targher G, Alberiche M, Bonadonna RC, Saggiani F, Zenere MB, et al. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity. *Diabetes Care* 2000; 23:57-63.
69. Farrell GC, Fiatarone JR, Coverdale SA. Non-alcoholic steatohepatitis: impaired antipyrine metabolism and hypertriglyceridaemia may be clues to its pathogenesis. *J Gastroenterol Hepatol*. 1991; 6:585-590.
70. Kakuma T, Lee Y, Higa M, et al. Leptin, troglitazone, and the expression of sterol regulatory element binding proteins in liver and pancreatic islets. *Proc Natl Acad Sci* 2000; 97: 8536-8541.

71. Romero-Gomez M, Del Mar Vilorio M, Andrade RJ, Salmeron J, Diago M, Fernandez-Rodriguez CM, et al.. Insulin resistance impairs sustained response rate to peginterferon plus ribavirin in chronic hepatitis C patients. *Gastroenterology*. 2005;128:636-641.
72. Konrad T, Zeuzem S, Vicini P, Toffolo G, Briem D, Lormann J, et al.. Evaluation of factors controlling glucose tolerance in patients with HCV infection before and after 4 months therapy with interferon-alpha. *Eur J Clin Invest*. 2000;30:111-121).
73. Neuschwander-Tetri BA, Brunt EM, Wehmeier KR, Oliver D, Bacon BR. Improved nonalcoholic steatohepatitis after 48 weeks of treatment with the PPAR- γ ligand rosiglitazone. *Hepatology* 2003; 38: 1008-1017.
74. Allison ME, Wreghitt T, Palmer CR, et al. Evidence for a link between hepatitis C virus infection and diabetes mellitus in a cirrhotic population. *J Hepatol* 1994; 21: 1135-1141.
75. Mason AL, Lau JYN, Hoang N, Qian K, Alexander GJ, Xu L, et al.. Association of diabetes mellitus and chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology*. 1999;29:328-333).
76. Gray A, Wreghitt T, Stratton IM, Alexander GJ, Turner RC, O'Rahilly S. High prevalence of hepatitis C infection in Afro-Caribbean patients with type 2 diabetes and abnormal liver function tests. *Diabet Med*. 1995;12:244-249.
77. Knobler H, Stagnaro-Green A, Wallenstein S, et al.. Higher incidence of diabetes in liver transplant recipients with hepatitis C. *J Clin Gastroenterol*. 1998;26:30.
78. Baid S, Cosimi AB, Farrell ML, Schoenfeld DA, Feng S, Chung RT, et al.. Posttransplant diabetes mellitus in liver transplant recipients: risk factors, temporal relationship with hepatitis C virus allograft hepatitis, and impact on mortality. *Transplantation*. 2001;72:1066-1072.
79. Khalili M, Lim JW, Bass N, Ascher NL, Roberts JP, Terrault NA. New onset diabetes mellitus after liver transplantation: the critical role of hepatitis C infection. *Liver Transplant*. 2004;10:349-355.
80. Powell EE, Cooksley WG, Hanson R, et al. The natural history of nonalcoholic steatohepatitis: a follow-up study of forty-two patients for up to 21 years. *Hepatology* 1990; 11: 74-80.
81. Banerjee S, Banerjee M. Hepatitis C and diabetes mellitus. *J Indian Med Assoc*. 2006; Feb;104(2):86-9. Review.
82. Bonora E, Targher G, Alberichie M, Bonadonna RC, Saggianni F, Zenere MB, Monaun T, Muggeo M: Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity. *Diabetes Care* 23:57-63, 2000.
83. Castera L. Steatosis, insulin resistance and fibrosis progression in chronic hepatitis C. *Minerva Gastroenterol Dietol*. 2006 Jun;52(2):125-34. Review.

84. Durante-Mangoni E, Zampino R, Marrone A, Tripodi MF, Rinaldi L, Restivo L, Cioffi M, Ruggiero G, Adinolfi LE. Hepatic steatosis and insulin resistance are associated with serum imbalance of adiponectin/tumour necrosis factor-alpha in chronic hepatitis C patients. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006; Nov 1;24(9):1349-57.
85. Asselah T, Rubbia-Brandt L, Marcellin P, Negro F: Steatosis in chronic hepatitis C: Why does it really matter? *Gut* 2006, 55:123-130.
86. Harrison SA. Correlation between insulin resistance and hepatitis C viral load. *Hepatology.* 2006;43:1168.
87. Sanyal AJ, Chand N, Comar K, Mirshahi F. Hyperinsulinemia blocks the inhibition of hepatitis C virus (HCV) replication by interferon: a potential mechanism for failure of interferon therapy in subjects with HCV and nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2004;40:179A.
88. Romero-Gómez M. e cols; *Gastroenterology* - March de 2005, volume 128 - number 3.
89. Romero-Gómez M, Insulin Resistance and hepatitis C. *World J Gastroenterol* 2006 November 28;12(44):7075-80.
90. Kawaguchi T, Yoshida T, Harada M, Hisamoto T, Nagao Y, Ide T, et al.. Hepatitis C virus down-regulates insulin receptor substrates 1 and 2 through up-regulation of suppressor of cytokine signalling 3. *Am J Pathol.* 2004;165:1499-1508.
91. Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, Tsutsumi T, Tsukamoto K, Kimura S, et al.. Hepatitis C virus infection and diabetes: direct involvement of the virus in the development of insulin resistance. *Gastroenterology.* 2004;126:840-848.
92. Knobler H, Schatter A. TNF- α , chronic hepatitis C and diabetes: a novel triad. *Q J Med.* 2005;98:1-6.
93. Younossi ZM, Diehl AM, Ong JP. Nonalcoholic fatty liver disease: An agenda for clinical research. *Hepatology* 2002; 35: 746-52.
94. Lonardo A, Lombardini S, Ricchi M, Scaglioni F, Loria P. Review article: steatosis and insulin resistance: *Aliment Pharmacol Ther.* 2005; Nov; 22:64-70.
95. Muzzi A, Rubbia-Brandt L, Leandro G, James R, Keiser O, Malinverni R, et al.. Insulin resistance is associated with liver fibrosis in non-diabetic chronic hepatitis C patients. *J Hepatol.* 2005;42:39-44 .
96. Gottardi A, Paziienza V, Pugnale P, Bruttin F, Rubbia-Brandt L, Juge-Aubry CE, et al.. Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and -gamma mRNA levels are reduced in chronic hepatitis C with steatosis and genotype 3 infection. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006;23:107-114.
97. Chitturi S, Abeygunasekera S, Farrell GC, Holmes-Walker J, Hui JM, Fung C, Karim R, Lin R, Samarasinghe D, Liddle C, Weltman M, George J. NASH and insulin resistance: Insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance syndrome. *Hepatology.* 2002; Feb;35(2):497-9.

98. Lecube A, Hernández C, Genescà J, Simó R, Proinflammatory Cytokines, Insulin Resistance, and Insulin Secretion in Chronic Hepatitis C patients. *Diabetes Care* 29:1096-1101,2006.
99. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 1987; 162: 156-159.
100. McOmish F, Yap PL, Dow BC, Follet EAC, Seed C, Keller AJ, et al. Geographical distribution of hepatitis C virus genotypes in blood donors: an international collaborative survey. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 884-892.
101. Brunt EM, Janney CG, DiBisceglie AM, et al. NASH: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2467-2474.
102. Fartoux L, Poujol-Robert A, Guéchat J, et al. Insulin resistance is a cause of steatosis and fibrosis progression in chronic hepatitis C. *Gut* 2005, 54:1003-8).
103. Keyur P, A Zekry, John G M, Steatosis and Chronic Hepatitis C Virus Infection: Mechanisms and Significance. *Clin Liver Dis* 9 (2005) 399-410.
104. A Zekry, JG Mchutchison, AM Diehl. *Gut* 2005;54:903-906. Insulin resistance and steatosis in hepatitis C virus infection.
105. Romero-Gómez M. Hepatitis C and insulin resistance: steatosis, fibrosis and non-response. *Rev Esp Enferm Dig.* 2006; Aug;98(8):605-615. Spanish, English.
106. Mindikoglu AL, Regev A, Casanova-Romero PY, Bejarano PA, Martinez EJ, Tzakis AG, Schiff ER. The impact of nonalcoholic fatty liver disease and the metabolic syndrome on progression of fibrosis in patients with recurrent HCV after liver transplantation. *Transplant Proc.* 2006; Jun;38(5):1440-4.
107. Hui JM, Sud A, Farrell GC, et al. Insulin resistance is associated with chronic hepatitis C and virus infection fibrosis progression. *Gastroenterology* 2003;125:1695-705.
108. Perumalswami P, Kleiner DE, Lutchman G, Heller T, Borg B, Park Y, Liang TJ, Hoofnagle JH, Ghany MG. Steatosis and progression of fibrosis in untreated patients with chronic hepatitis C infection. *Hepatology.* 2006; Apr;43(4):780-7.
109. Cholet F, Noursbaum JB, Richecoeur M, Oger E, Cauven JM, Lagarde N, Robaszkiewicz M, Gouerou H. Factors associated with liver steatosis and fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Gastroenterol Clin Biol.* 2004 Mar;28(3):272-8.
110. Lefkowitz JH, Schiff ER, Davis GL, et al. Pathological diagnosis of chronic hepatitis C: a multicenter comparative study with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 1993;104: 595-603.
111. Wanless IR, Lentz JS. Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: an autopsy with analysis of risk factors. *Hepatology* 1990;12:1106-10.

112. Szanto P, Grigorescu M, Dumitru I, Serban A. Steatosis in hepatitis C virus infection. Response to anti-viral therapy. *J Gastrointest Liver Dis.* 2006 Jun;15(2):117-24.
113. Guidi M, Muratori P, Granito A, Muratori L, Lenzi M, Bianchi FB. Steatosis in chronic hepatitis C. *Gut.* 2006 Jul;55(7):1047; author reply 1047-8.
114. Antunez I, Aponte N, Fernandez-Carbia A, Rodriguez-Perez F, Toro DH. Steatosis as a predictive factor for treatment response in patients with chronic hepatitis C. Department of Medicine, Gastroenterology Section, Veterans Affairs Medical Center, San Juan, Puerto Rico.
115. Rubbia-Brandt L, Fabris P, Paganin S, Leandro G, Male PJ, Giostra E, Carlotto A, Bozzola L, Smedile A, Negro F. Steatosis affects chronic hepatitis C progression in a genotype specific way. *Gut.* 2004;Mar; 53(3): 406-12.

Apêndices

Apêndice A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

GRAU DE RESISTÊNCIA À INSULINA EM PACIENTES COM HEPATITE CRÔNICA C E ESTEATOSE HEPÁTICA INFECTADOS PELO GENÓTIPO 1 VERSUS GENÓTIPO 3

Identificação do Paciente

< Voluntário/Paciente > nome completo em LETRAS MAIUSCULAS:

Identificação do Médico do Estudo

Dr. Hugo Cheinquer: Tel 3346 2890; Cel 9981 6760

Dr. Décio Passos Sampaio Péres: Tel 3388 3455 Cel 9808 5499

1. Convite para participar

Você está sendo convidado para participar de um estudo de pesquisa.

Antes de você concordar em participar deste estudo, é importante que você entenda sobre o que é o estudo. Por favor, leia esta informação cuidadosamente e faça todas as perguntas que você possa ter.

2. Propósito do estudo

“Alguns pacientes com hepatite C crônica têm aumento no depósito de gordura no fígado, chamado de “esteatose hepática”. O mecanismo dessa alteração ainda é desconhecido, porém acredita-se que possa estar associada ao fenômeno denominado “resistência à insulina”, parecido com a situação que ocorre em pacientes diabéticos ou obesos. Esse achado pode ter importância clínica, pois já existem estudos indicando que a esteatose (gordura no fígado) atrapalha o tratamento da hepatite C. O propósito deste estudo é descobrir se existe relação entre a quantidade de gordura no fígado e a resistência à insulina em pacientes com genótipo 1 e 3 do vírus C. Espera-se que o conhecimento dessa associação possa aumentar as chances de resposta ao tratamento da hepatite C no futuro, com o uso de medicamentos que combatam a resistência à insulina.

3. Número aproximado de participantes e duração esperada de sua participação no estudo

O número de pacientes previsto nesta pesquisa é de cerca de 48 pacientes, sendo 24 com genótipo 1 e 24 com genótipo 3. A duração de sua participação é estimada em cerca de 2 meses, incluindo o tempo necessário para as consultas médicas, exames laboratoriais e biópsia hepática se forem necessários.

4. Tratamentos do estudo

Não será administrado tratamento neste estudo.

5. Procedimentos do estudo

Você é elegível para esse programa porque seus exames demonstraram que possui hepatite C e apresenta genótipo 1 ou 3 do vírus C. Além disso, para ser incluído, a avaliação da sua biópsia hepática atual ou dos últimos 12 meses deverá mostrar a presença de esteatose hepática (gordura no fígado). Se você decidir participar, você será submetido a uma avaliação, na qual será obtida uma história médica completa, um exame físico será realizado e serão obtidas amostras de sangue pela inserção de uma agulha em sua veia. A partir das amostras de sangue, serão realizados exames para medir os níveis do vírus da hepatite C e a contagem das células do sangue, e medida da resistência à insulina, além de testes para determinar o funcionamento de seu fígado.

6. Suas responsabilidades

Em cada visita:

- Você deverá informar ao seu médico do estudo quaisquer outras medicações que estiver tomando enquanto estiver no estudo.

7. Riscos

- Os riscos envolvidos na coleta de sangue de uma veia incluem, mas não estão limitados a desconforto no local da inserção da agulha, possível equimose e inchaço ao redor do local de inserção, e raramente uma infecção. Também há uma leve chance de desmaio.
- Os riscos envolvidos na realização da biópsia hepática podem incluir, mas não estão limitados a desconforto devido à dor leve e queimação da solução usada para anestesia a pele; possível equimose (mancha roxa na pele) e inchaço ao redor do local de inserção; pode ocorrer sangramento, que raramente requer uma transfusão (1 vez em cada 1.000 procedimentos).

8. Riscos para Mulheres com Potencial para Engravidar (se aplicável)

Não há risco específico de gravidez, pois não será utilizada medicação durante o estudo.

9. Benefícios

Você pode não se beneficiar ao participar deste estudo, mas o conhecimento ganho pode beneficiar outros. As consultas clínicas e testes diagnóstico e laboratorial serão fornecidos a você gratuitamente.

10. Tratamentos alternativos

Não se aplica.

11. Parágrafo de Danos e Riscos

Se você apresentar qualquer dano físico como resultado direto dos procedimentos para o estudo, você deverá entrar em contato com o Dr. Décio Passos Sampaio Péres no telefone 3388 34 55 ou 9808 5499 e será disponibilizada terapia médica imediata no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Qualquer dano resultante de sua participação será avaliado e tratado de acordo com os benefícios e cuidados a que você tem direito. Serão reembolsados os honorários médicos e despesas médicas necessários e devidamente aprovados para tratamento de danos. Ao assinar este formulário de consentimento, você não está abrindo mão de qualquer um dos seus direitos legais.

12. Pagamento para participar do estudo

Não há nenhum pagamento para participar no estudo.

13. Participação voluntária/Retirada do estudo

Sua participação neste estudo é completamente voluntária. Cabe a você decidir se deseja participar ou não. Mesmo se você decidir participar, você é livre para sair do estudo a qualquer momento, sem dar uma razão. Isto não afetará seu cuidado médico futuro de nenhuma forma. Além disso, seu médico do estudo pode retirá-lo do estudo se ele julgar que isto é melhor para você, ou no caso do estudo ser terminado precocemente. Seu médico pode terminar sua participação a qualquer momento neste estudo sem seu consentimento. Possíveis razões para encerrar a sua participação se o tratamento do estudo oferecer pouco ou nenhum benefício futuro ou se você deixar de seguir as instruções para a participação no estudo. Para a interrupção do estudo, será necessária a concordância do Comitê de Ética responsável pela aprovação inicial.

14. Companhia patrocinadora

Não se aplica.

15. Permissão para Revisão de Registros, Confidencialidade e Acesso aos Registros

Seu médico do estudo e equipe irão coletar informações sobre você. Em todos esses registros, um código irá substituir seu nome. Todos os dados coletados serão mantidos de forma confidencial. Os dados coletados serão usados para a avaliação do estudo, e podem ser usados no futuro, em estudos relacionados ou outros. Membros das autoridades de saúde, do Comitê de Ética da sua instituição, ou outras exigidas por lei podem revisar os dados fornecidos. Estes dados também podem ser usados em publicações. Porém, sua identidade não será revelada em qualquer compilação, relatórios ou publicações do estudo. Os dados coletados serão usados para a avaliação do estudo, e podem ser usados no futuro em estudos relacionados ou outros. Os dados podem ser submetidos a autoridades de saúde para propósitos de registro. Membros das autoridades de saúde, do Comitê de Ética da sua instituição, ou outras pessoas exigidas por lei podem revisar os dados fornecidos. Estes dados também podem ser usados em publicações sobre a medicação do estudo. Porém, sua identidade não será revelada em qualquer compilação, relatórios ou publicações do estudo.

17. Perguntas/Informação

- Se você ou seus familiares tiverem alguma pergunta relativa ao estudo, direito dos pacientes, ou no caso de lesão relacionada ao estudo, você deve contatar seu médico do estudo.
- Será informado se qualquer informação nova que possa afetar sua vontade em participar do estudo se tornar disponível durante o decorrer do estudo.

18. Assinaturas de consentimento

Prezado < Paciente/Voluntário > por favor, leia esta seção cuidadosamente e, se de acordo, por favor, assine e date no final da página.

Eu recebi os detalhes dos riscos dos procedimentos do estudo.

Eu entendo que eu sou livre para aceitar ou recusar e que eu posso descontinuar minha participação a qualquer momento sem dar uma razão e sem qualquer efeito na continuidade de meu tratamento. Mantereí todos meus direitos ao tratamento.

Eu concordo que seja dado acesso direto aos meus registros médicos às pessoas autorizadas que representam o patrocinador, como também autoridades nacionais e

internacionais. Eu concordo que seja dado acesso direto aos meus registros médicos às pessoas autorizadas que representam os Laboratórios Roche, como também autoridades nacionais e internacionais

Eu não perderei nenhum direito que me é concedido pelas leis locais ao assinar este documento.

Eu li e entendi a informação apresentada neste documento de consentimento informado. Eu tive a oportunidade de fazer todas as perguntas e todas elas foram respondidas.

Eu receberei uma cópia assinada e datada deste Documento de Consentimento Informado.

Para Mulheres com Potencial para Engravidar, se aplicável.

_____ Data: _____

EU CONCORDO EM PARTICIPAR DESTE ESTUDO VOLUNTARIAMENTE

A ser assinado simultaneamente, i.e. mesma data, por todas as partes:

_____	_____	_____
Escreva o Nome do Paciente	Data	Assinatura

_____	_____	_____
Escreva o Nome da pessoa que <u>Obteve o consentimento</u>	Data	Assinatura

Título de pessoa que
Obteve o consentimento

Apêndice B

PACIENTES COM HCV GENÓTIPO TIPO 1

no	pront	nome	id	sx	gen	cv	cvlog	kg	cm	imc	col	hdl	ldl	tri	gli	ins	ho	alt	pbh	a	f	e
1	803	CJB	48	Masculino	1	650.000	5,81	82	172	27,72	128	34	51	198	92	26,40	5,99	97	HCAI	1	0	1
3	933	LMPR	56	Feminino	1	.	.	64	165	23,51	167	42	109	119	84	13,40	2,78	48	HCAI	1	2	1
4	852	AAB	52	Masculino	1	3.441.000	6,54	81	179	25,28	143	27	92	109	87	8,40	1,80	167	HCAI	1	2	0
5	535	JAFS	41	Masculino	1	2.150.000	6,33	78	179	24,34	172	43	113	130	96	7,90	1,87	46	HCAI	1	1	1
6	787	RMFB	29	Masculino	1	1.133.449	6,05	95	192	25,77	130	45	72	65	82	16,80	3,40	22	HCP	0	0	0
7	942	RS	43	Masculino	1	8.456.000	6,93	78	178	24,62	161	41	109	97	102	9,90	2,49	198	HCAI	1	3	1
9	719	NPN	49	Feminino	1	.	.	54	161	20,83	140	57	58	127	78	9,00	1,73	30	HCAI	1	1	1
11	780	LCP	45	Feminino	1	8.617.000	6,94	65	158	26,04	172	55	84	86	80	9,90	1,95	87	HCAm	2	1	1
12	935	VMFC	55	Feminino	1	11.000.000	7,04	57	151	25,00	180	67	78	174	103	9,50	2,41	149	HCAI	2	1	1
13	683	MIN	40	Feminino	1	349.000	5,54	75	170	25,95	176	74	89	43	93	12,90	2,96	81	HCAI	1	0	1
16	716	MAFA	42	Masculino	1	7.920.000	6,90	83	178	26,20	171	48	107	58	92	9,40	2,13	71	HCAI	1	1	1
18	971	ASFC	62	Feminino	1	630.000	5,80	77	161	29,71	181	39	119	90	89	14,90	3,27	75	HCAI	1	2	1
20	142	MG	68	Masculino	1	15.900.000	7,20	81	185	23,67	113	40	61	84	96	9,70	2,30	61	HCAm	2	3	0
23	785	JOBP	33	Masculino	1	254.000	5,40	89	187	25,45	198	50	127	108	81	29,20	5,84	146	HCAAs	3	3	3
29	215	AJBS	43	Masculino	1	1.600.000	6,20	79	177	25,22	195	53	118	136	105	12,00	3,11	98	HCAm	3	3	1
30	912	ASDJ	38	Masculino	1	1.978.019	6,30	87	182	26,26	146	58	71	85	107	8,50	2,24	102	HCAI	2	1	1
32	499	DAN	48	Masculino	1	1.580.000	6,20	79	175	25,80	135	52	87	105	90	25,40	5,64	134	HCAm	3	3	3
36	598	LAPF	53	Masculino	1	1.524.810	6,18	78	171	26,67	198	35	145	173	85	1,11	0,23	211	HCAI	1	1	1
38	942	RS	42	Masculino	1	6.872.000	6,84	78	178	24,62	161	41	109	97	102	9,90	2,49	177	HCAI	1	3	1
39	681	NBS	39	Masculino	1	230.000	5,36	82	185	23,96	116	26	80	51	97	4,80	1,15	72	HCAI	1	1	1
40	680	AGC	35	Masculino	1	192.000	5,28	79	181	24,11	137	44	69	97	93	4,50	1,03	194	HCAm	3	1	0
43	994	NHMJ	44	Masculino	1	10.000.000	7,00	73	175	23,84	177	94	66	105	93	8,00	1,84	81	HCP	1	0	2
44	948	AJBML	64	Masculino	1	7.600.000	6,88	76	174	25,10	200	70	139	109	95	8,60	2,02	23	HCAI	2	2	1

Apêndice C

PACIENTES COM HCV GENÓTIPO TIPO 3

no	pront	nome	id	sx	gen	cv	cvlog	kg	cm	imc	col	hdl	ldl	tri	gli	ins	ho	alt	pbh	a	f	e
2	503	JACC	62	Feminino	3	990.000	6,00	71	168	25,16	198	60	115	78	94	9,30	2,16	78	HCAI	1	1	1
8	753	MIAT	57	Feminino	3	132.452	5,12	54	157	21,91	180	61	101	74	85	5,10	1,07	80	HCAI	1	0	0
10	732	KBF	45	Feminino	3	623.256	5,79	60	163	22,58	140	50	78	59	82	7,50	1,52	130	HCAI	1	1	1
14	798	HGM	28	Masculino	3	367.000	5,56	69	176	22,28	174	53	108	67	85	3,60	0,75	68	HCAAs	0	0	1
15	739	EMVL	52	Feminino	3	225.255	5,35	72	170	24,91	198	58	125	180	94	34,10	7,91	73	HCAI	1	0	2
17	435	AR	35	Feminino	3	.	.	76	162	28,96	168	83	63	127	88	7,50	1,63	102	HCAI	1	1	0
19	829	RW	54	Masculino	3	4.540.571	6,66	93	188	26,31	101	49	37	78	93	17,00	3,90	158	HCAm	2	0	2
21	672	JCP	46	Masculino	3	598.995	5,78	82	179	25,59	163	39	106	90	85	17,70	3,71	174	HCAm	2	3	2
22	581	MAD	47	Masculino	3	650.000	5,81	72	175	23,51	150	29	98	113	88	12,90	2,80	191	HCAm	2	3	2
24	940	MCMO	54	Feminino	3	1.371.000	6,14	69	165	25,34	92	45	67	51	80	6,10	1,20	94	HCAm	3	1	1
25	869	PFD	58	Masculino	3	5.300.000	6,72	87	181	26,56	168	36	125	92	95	16,60	3,89	134	HCAI	1	3	1
26	811	CPA	52	Masculino	3	214.000	5,33	82	179	25,59	133	40	82	55	109	13,00	3,50	144	HCAm	2	3	2
27	963	SALF	54	Masculino	3	517.000	5,71	85	188	24,05	155	54	76	125	86	15,90	3,37	50	HCAI	2	0	1
28	592	SSC	53	Masculino	3	272.563	5,44	88	180	27,16	166	30	119	87	111	20,10	5,50	125	HCAI	2	1	1
31	290	SMG	50	Feminino	3	.	.	65	163	24,46	184	73	97	82	89	7,60	1,67	88	HCAI	3	1	1
33	781	VJCJ	51	Masculino	3	2.151.640	6,33	79	181	24,11	158	43	98	85	106	11,80	3,09	146	HCAm	3	3	1
34	194	DNK	45	Masculino	3	418.000	5,62	71	178	22,41	199	50	75	129	92	4,00	0,91	25	HCP	0	0	0
35	761	LCC	44	Masculino	3	840.000	5,92	75	173	25,06	200	40	114	163	105	8,30	2,15	61	HCAI	1	0	1
37	345	FAM	51	Masculino	3	.	.	73	169	25,56	139	53	77	44	94	8,00	1,86	93	HCAI	1	1	1
41	817	DZM	33	Feminino	3	7.006.000	6,85	49	152	21,21	133	57	61	54	92	7,20	1,63	126	HCAI	1	1	1
42	501	RO	50	Masculino	3	256.000	5,41	82	181	25,03	179	40	110	127	97	18,90	4,52	67	HCAm	2	3	2